



**Dottorato di Ricerca in**

**ECOLOGIA E GESTIONE DELLE RISORSE BIOLOGICHE  
XXV Ciclo**

**“Sviluppo ed applicazione di un sensore fluorimetrico a basso costo  
per la stima della sostanza organica disciolta cromoforica (CDOM)  
negli ecosistemi marini pelagici”**

**(Settore Scientifico Disciplinare BIO/07)**

**Coordinatore:**  
Prof. Giuseppe Nascetti

**Dottoranda:**  
Dott.ssa Alice Madonia

**Tutor:**  
Prof. Marco Marcelli

Anno Accademico 2013 - 2014

# INDICE

|                                                                                                |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUZIONE</b>                                                                         | <b>5</b>  |
| <b>2. OGGETTO E SCOPO</b>                                                                      | <b>7</b>  |
| <b>3. CAPITOLO I</b>                                                                           | <b>8</b>  |
| 3.1 L'importanza dello sviluppo di nuove tecnologie nella ricerca oceanografica                | 8         |
| 3.2 Piattaforme e sensori oceanografici                                                        | 8         |
| 3.3 I programmi internazionali di monitoraggio dei mari e degli oceani                         | 15        |
| <i>VOS (Voluntary Observing Ships) e SOOP (Ship Of Opportunity Program)</i>                    | 17        |
| <i>Ferrybox Project</i>                                                                        | 18        |
| <i>Marine Strategy</i>                                                                         | 21        |
| <b>4. CAPITOLO II</b>                                                                          | <b>24</b> |
| 4.1 Il ruolo della sostanza organica disciolta (DOM) nel ciclo globale del carbonio            | 24        |
| 4.2 Processi di produzione e consumo della DOM negli ecosistemi marini                         | 26        |
| 4.3 Scale spaziali e temporali della DOM negli ecosistemi marini                               | 29        |
| 4.4 La sostanza organica disciolta cromoforica ( <i>Cromophoric Dissolved Organic Matter</i> ) |           |
| 4.4.1 Proprietà ottiche                                                                        | 32        |
| 4.4.1.1 Assorbimento                                                                           | 32        |
| 4.4.1.2 Fluorescenza                                                                           | 36        |
| 4.4.2 CDOM e telerilevamento                                                                   | 38        |
| 4.4.3 Proprietà chimiche                                                                       | 39        |
| 4.4.4 Dinamica e distribuzione globale CDOM                                                    | 40        |
| 4.5 Principio di funzionamento dei sensori fluorimetrici                                       | 43        |
| <b>5. MATERIALI E METODI</b>                                                                   | <b>50</b> |
| 5.1 La tecnologia T-FLAP                                                                       | 50        |
| 5.1.2 Caratteristiche dei sensori T-FLAP                                                       | 52        |
| 5.1.2.1 Il sensore di temperatura                                                              | 52        |
| 5.1.2.2 Il sensore di fluorescenza della clorofilla <i>a</i>                                   | 54        |
| 5.1.3 Nuovi sensori sviluppati                                                                 | 56        |
| 5.1.3.1 Il sensore di conducibilità                                                            | 56        |
| 5.1.3.1 Il sensore di torbidità                                                                | 57        |
| 5.2 Sviluppo del sensore di fluorescenza CDOM                                                  | 57        |
| 5.2.1 Analisi spettrali della componentistica ottica                                           | 57        |



|                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.2.1 1 LED                                                           | 57  |
| 5.2.1 2 Filtri, lenti e vetri ottici                                  | 58  |
| 5.3 Integrazione del fluorimetro CDOM nella cella di misura T-FLAP    | 58  |
| 5.3.1 Realizzazione del prototipo <i>Spectra</i>                      | 58  |
| 5.3.1.1 Architettura del sistema                                      | 58  |
| 5.3.1.2 Unità elettronica                                             | 59  |
| 5.3.1.3 Cella di misura                                               | 61  |
| 5.3.1.4 Il sistema firmware/software                                  | 65  |
| 5.3.2 Calibrazione dei sensori                                        | 66  |
| 5.3.2.1 Caratteristiche tecniche dei sensori di riferimento           | 68  |
| 5.3.2.2 Protocolli di calibrazione della sensoristica                 | 71  |
| 5.3.3 Compensazione della temperatura sulle misure di fluorescenza    | 73  |
| 5.4 Misure <i>in situ</i>                                             | 73  |
| 5.4.1 Campagna STIGE                                                  | 73  |
| 5.4.2 Campagne IOSMOS                                                 | 76  |
| 5.4.3 Campagna CIV                                                    | 80  |
| 5.4.4 Strumentazione utilizzata                                       | 82  |
| 5.4.5 Analisi di laboratorio                                          | 83  |
| 5.4.5.1 Analisi spettrofotometrica della clorofilla <i>a</i>          | 83  |
| 5.4.5.2 HPLC per la stima dei pigmenti fitoplanctonici                | 85  |
| 5.4.5.3 Analisi spettrale dell'assorbimento CDOM                      | 86  |
| 5.4.5.4 Analisi spettrale dell'assorbimento del particolato su filtro | 87  |
| 5.4.5.5 Analisi gravimetrica dei solidi sospesi                       | 88  |
| 5.5 Elaborazione dati                                                 | 89  |
| 6. RISULTATI                                                          | 90  |
| 6.1 Analisi spettrometriche della componentistica ottica              | 90  |
| 6.2 Calibrazione dei sensori                                          | 98  |
| 6.3 Compensazione della temperatura sulle misure di fluorescenza      | 100 |
| 6.4 Misure <i>in situ</i>                                             | 101 |
| 6.4.1 Campagna STIGE                                                  | 101 |
| 6.4.2 Campagne IOSMOS                                                 | 105 |
| 18-19 aprile 2013                                                     | 105 |
| 16 luglio 2013                                                        | 111 |
| 6.4.3 Campagna CIV                                                    | 121 |

|                        |            |
|------------------------|------------|
| <b>7. DISCUSSIONE</b>  | <b>126</b> |
| <b>8. CONCLUSIONI</b>  | <b>133</b> |
| <b>9. BIBLIOGRAFIA</b> | <b>134</b> |

## 1. INTRODUZIONE

Lo sviluppo di nuove tecnologie finalizzate allo studio dei processi oceanici in funzione delle loro scale spaziali e temporali costituisce uno degli aspetti più innovativi della ricerca oceanografica, che sempre di più necessita di una grande quantità di dati per un approccio integrato tra osservazioni *in situ*, modelli previsionali e dati telerilevati.

Sebbene negli ultimi 20 anni il sistema di osservazione globale degli oceani sia progressivamente migliorato nella quantità di dati disponibili, vi è una necessità urgente di estendere le capacità di misurazione ai parametri biogeochimici per lo studio dei processi che influenzano le dinamiche del clima e per il crescente utilizzo di modelli ecologici.

La sostanza organica disciolta negli oceani (*Dissolved Organic Matter*) è una delle più grandi riserve di carbonio organico reattivo sulla Terra, rivestendo, pertanto, un ruolo fondamentale nel controllo della concentrazione della CO<sub>2</sub> in atmosfera e quindi nei cambiamenti climatici globali (Hedges 1992, 2002). L'enorme complessità e diversità strutturale che caratterizza la materia organica disciolta in acqua di mare ha reso e rende tuttora difficile l'identificazione e la quantificazione delle singole componenti che la costituiscono. Per superare le difficoltà riscontrate nell'analisi molecolare delle specifiche classi biochimiche, molti autori hanno adottato un approccio di tipo olistico che si focalizza sullo studio della DOM in termini di concentrazione totale e delle proprietà del suo insieme. In particolare, negli ultimi decenni, è notevolmente cresciuto l'interesse verso lo studio delle proprietà ottiche della frazione cromoforica della sostanza organica disciolta o CDOM (*Cromophoric Dissolved Organic Matter*), le quali consentono di misurarne le concentrazioni nell'ambiente e quindi di fornire informazioni sui flussi di carbonio negli ecosistemi acquatici. La CDOM, conosciuta anche come *gelbstoff*, gilvina o sostanza gialla, è l'insieme di tutte le molecole organiche disciolte nelle acque naturali che assorbono la luce nella regione dell'ultravioletto e del blu (250-500 nm) e che fluorescono nel blu, pertanto ha un forte impatto sulla disponibilità e sulla qualità spettrale della luce nei processi fotosintetici (Bricaud et al., 1981; Kirk, 1994). Insieme al fitoplancton, al detrito ed all'acqua stessa, essa costituisce una delle componenti otticamente attive degli oceani (Roesler et al., 1989; Babin et al., 2003), rappresentando un parametro chiave nei modelli bio-ottici di stima della produzione primaria, soprattutto per le acque costiere per le quali l'assorbimento della luce da parte dei pigmenti fotosintetici riveste un'importanza minore rispetto alla presenza di agenti ottici di origine continentale (materia organica ed inorganica disciolta e particellata).

La tecnica fluorimetrica viene ormai largamente utilizzata per caratterizzare la componente cromoforica della materia organica disciolta in acqua di mare. Il crescente sviluppo di strumenti

ottici in grado di fornire misure di fluorescenza *in situ* ha permesso di ampliare le conoscenze sulla distribuzione e sulla dinamica della CDOM negli ecosistemi marini, in contrapposizione all'approccio metodologico tradizionale che richiede costi elevati e lunghi tempi di analisi, e che introduce la possibilità di contaminazione ed alterazione chimica dei campioni.

Tuttavia il costo elevato della strumentazione limita lo sviluppo di efficaci reti di monitoraggio dei mari e degli oceani, pertanto i dati disponibili sono spesso discontinui, disomogenei, se non addirittura mancanti. In questo contesto lo sviluppo di nuove sonde e dispositivi a basso costo e facili da usare rappresenta il massimo obiettivo della ricerca oceanografica per la raccolta di dati sempre più accurati e per l'ampliamento della gamma di variabili da misurare in modo automatico (Marcelli et al., 2010). La tecnologia T-FLAP (*Temperature-Fluorescence Launchable Probe*, Marcelli et al., 2007) soddisfa tali esigenze fornendo un sistema di misura *low cost* ed *user friendly* per la misura, l'elaborazione e l'archiviazione automatica dei dati oceanografici, che permette, nonostante il basso costo di realizzazione, l'acquisizione di dati fisici e bio-ottici ad elevata risoluzione.

## 2. OGGETTO E SCOPO

Il presente lavoro ha avuto come obiettivo lo sviluppo di un sensore fluorimetrico a basso costo finalizzato alla stima della sostanza organica disciolta cromoforica (CDOM) negli ecosistemi marini pelagici. La realizzazione di tale sensore si inserisce nell'ambito delle attività di ricerca volte all'ampliamento della gamma di misure della tecnologia T-FLAP (*Temperature- Fluorescence Launchable Probe*, Marcelli et al., 2007), la quale fornisce oggi un sistema di misura *low cost* ed *user friendly* per l'analisi *in situ* delle variabili fisiche e bio-ottiche delle masse d'acqua (temperatura, conducibilità, fluorescenza della clorofilla *a*, fluorescenza CDOM, torbidità). Questi requisiti costituiscono una vera e propria esigenza per l'oceanografia operativa, il cui principale obiettivo è quello di raccogliere e trasmettere dati oceanografici in tempo reale da poter essere utilizzati per la calibrazione e la validazione dei dati satellitari e dei modelli matematici, fisici ed ecologici.

La prima fase delle attività di ricerca ha riguardato la selezione e l'analisi delle caratteristiche spettrali delle componenti ottiche (LED, filtri ottici, lenti, fotodiodi) specifiche per la misura della fluorescenza CDOM. Successivamente si è proceduto all'integrazione del sensore fluorimetrico CDOM all'interno della camera di misura T-FLAP ed alla realizzazione del prototipo *Spectra* per la misura *in continuo* delle variabili fisiche e bio-ottiche sulla superficie del mare. Nell'ambito delle diverse fasi delle attività di sperimentazione, il sensore di fluorescenza CDOM è stato utilizzato durante le seguenti campagne di misura *in situ*:

- campagna di misura STIGE, svoltasi il 23 ottobre 2011 in collaborazione con la Capitaneria di Porto di Civitavecchia ed il Comando Generale del Corpo, con l'obiettivo di caratterizzare le acque marine interessate dalla presenza di foci fluviali e scarichi idrici presenti lungo la costa alto-laziale compresa tra Tarquinia (VT) e Civitavecchia (RM);
- campagne IOSMOS (*IONian Sea water quality MONitoring by Satellite data*), svolte ad aprile e luglio 2013 in collaborazione con l'IMAA-CNR di Potenza per il monitoraggio delle proprietà bio-ottiche delle acque del tratto di costa ionica lucana compresa tra la foce del fiume Basento e quella del fiume Sinni;
- campagna CIV, svolta il 4 febbraio 2014 per valutare le caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche delle acque costiere lungo il tratto di costa di Civitavecchia a seguito degli eventi alluvionali che hanno interessato la costa alto-laziale durante il periodo di indagine.

# **CAPITOLO I**

## **3.1 L'importanza dello sviluppo di nuove tecnologie nella ricerca oceanografica**

Le indagini oceanografiche, tradizionalmente, sono limitate e strettamente dipendenti sia dalle scale spaziali e temporali dei fenomeni oggetto di studio che dallo sviluppo tecnologico dei sensori (Dickey & Bidigare, 2005).

L'avvento dell'elettronica, dell'informatica ed i progressi nella trasmissione dei dati hanno portato ad un rapido sviluppo di nuove tecnologie applicate agli studi oceanografici. Questi progressi hanno prodotto nuovi metodi di osservazione e monitoraggio degli oceani con un conseguente miglioramento dell'oceanografia operativa e previsionale che costituisce, oggi, uno strumento importante per la gestione e la protezione degli oceani e delle loro risorse viventi (Marcelli et al., 2007).

Nonostante i rapidi progressi nella capacità di monitorare gli oceani, il numero di variabili necessarie per risolvere i problemi oceanografici è ancora grande e crescente, tanto da generare un divario continuo tra gli strumenti a disposizione e ciò che è necessario misurare. Inoltre, le scale temporali e spaziali dei processi oceanici coprono oltre dieci ordini di grandezza e, per risolvere il rischio di sottostimare un fenomeno o sub-campionare una variabile, è necessario ampliare i ratei di acquisizione dei dati, la copertura temporale e la copertura spaziale.

A questo si aggiunge l'elevato costo che la ricerca oceanografica deve sostenere per il monitoraggio dei mari e degli oceani. Gli oceani, infatti, sono ambienti estremi, il cui studio richiede un grande sforzo tecnologico per risolvere le difficoltà poste dalle difficili condizioni ambientali in cui si deve operare (elevate pressioni, salinità dell'acqua di mare, moto ondoso ecc.) .

Alla luce di quanto detto lo sviluppo di nuove tecnologie marine in grado di risolvere le problematiche sopra elencate costituisce uno degli aspetti più innovativi e necessari della ricerca oceanografica odierna.

## **3.2 Piattaforme e sensori oceanografici**

Ogni processo oceanografico, fisico o biologico, si muove all'interno del suo sistema di riferimento ed è definito da precise scale spazio-temporali. Per rilevare i processi dei fenomeni oggetto di studio è necessario applicare metodologie appropriate. Per questo scopo, piattaforme e sensori devono essere selezionati in base alle scale spaziali e temporali dei fenomeni (Fig. 3.1, Fig.

3.2), prendendo in considerazione la natura (ad esempio chimica, fisica o biologica) di ciò che stiamo cercando (Dickey & Bidigare, 2005).

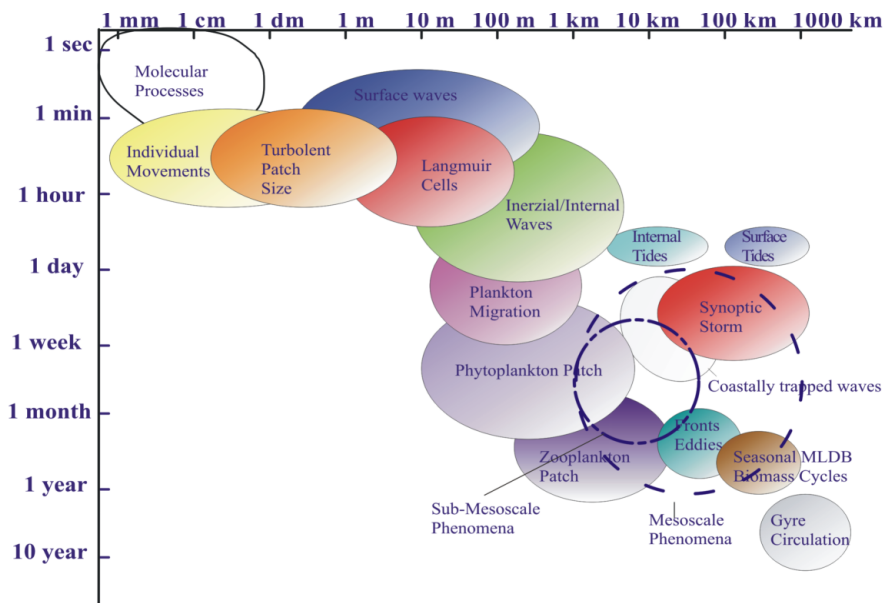


Fig.3.1. Rappresentazione dei principali fenomeni fisici e di molti processi ecologici ad essi collegati negli oceani superiori (ridisegnata da Dickey, 1991)

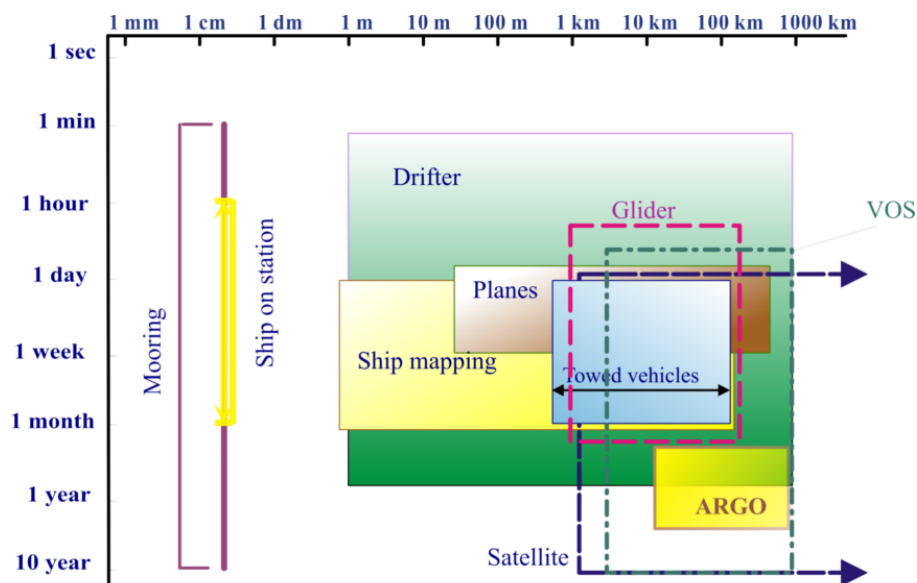


Fig.3.2. Copertura orizzontale spaziale e temporale di alcune piattaforme (Bidigare et al., 1992)

Da un punto di vista operativo, le piattaforme di osservazione possono essere suddivise nelle seguenti categorie:

- navi da ricerca;

- stazioni fisse;
- veicoli subacquei (ROV - Remote Operated Vehicles; Veicoli trainati; Crewed Deep Submersible Vehicles; AUV - Autonomous Underwater Vehicles; Gliders; boe lagrangiane; sonde a perdere; drifters);
- Voluntary Observing Ships (VOS);
- piattaforme di remote sensing (aerei e satelliti).

I sensori vengono montati all'interno delle piattaforme di osservazione per effettuare misure sulla componente abiotica e biotica dell'ecosistema marino.

Il concetto di misura scaturisce dalla necessità di dover confrontare due grandezze fisiche omogenee tra loro. La misura è, quindi, un valore numerico attribuito ad una grandezza in relazione ad una opportuna unità di misura. A tale definizione segue quella di strumento o sensore inteso come un dispositivo (Fig. 3.3), che trasforma la variabile fisica di interesse (misurando) in una forma che è disponibile per la registrazione (misurazione).

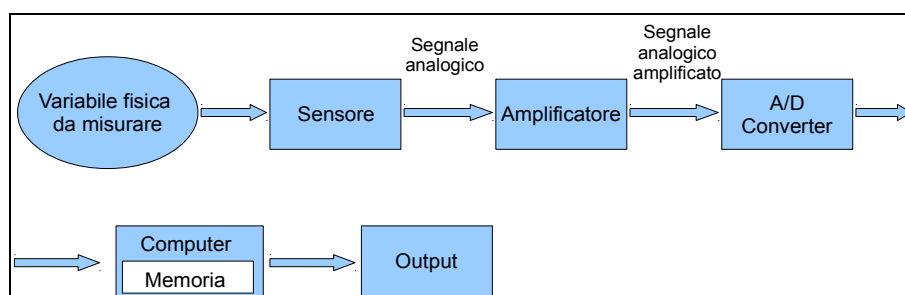


Figura 3.3. Modello semplificato di funzionamento di un sensore

Ogni misurazione comporta un confronto con un riferimento noto, di conseguenza non può essere considerata completa se non comprende l'indicazione della sua incertezza, o il suo grado di affidabilità.

L'incertezza deriva sia da effetti casuali, che si manifestano come variazioni di risultati ottenuti ripetendo una misurazione, sia da effetti sistematici, in un certo senso intrinseci al procedimento usato, che quindi non variano durante la misurazione ma possono comunque essere causa di errori rilevanti. Mentre gli effetti casuali e l'errore che ne deriva possono essere ridotti con l'applicazione di tecniche statistiche, gli effetti sistematici devono essere studiati e valutati in sede di misurazione e devono essere sempre indicati esplicitamente come parte del risultato.

Se l'errore casuale è piccolo la misura si dice precisa, ossia definita entro limiti ristretti: se sia l'errore casuale che quello sistematico sono piccoli allora la misura è accurata, cioè vicina al



valore reale della grandezza in esame. L'accuratezza è associata ai valori misurati ed esprime quanto una misura è vicina al valore accettato o vero. L'accuratezza non deve essere confusa con la precisione che indica quanto una misura scosta dalla media o dalla mediana di una serie di misure replicate.

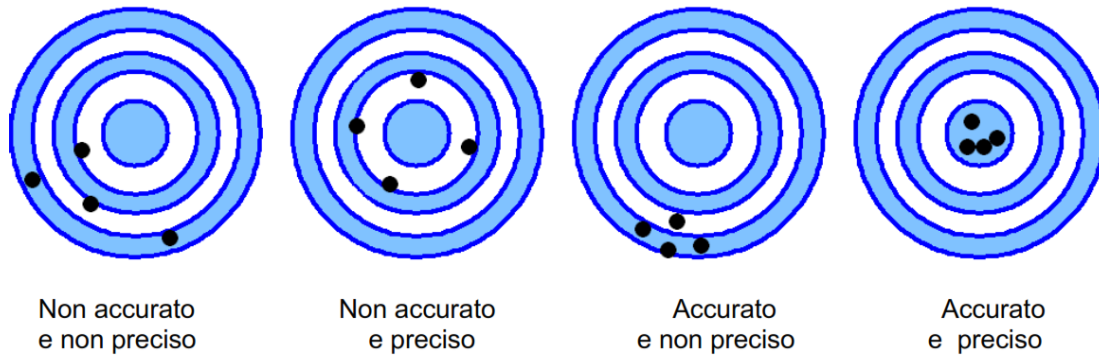


Figura 3.4. Accuratezza e precisione delle misure

La relazione che lega il valore della variabile fisica di input con quello relativo al segnale di uscita (output) di uno specifico sensore è conosciuta come calibrazione del sensore.

La sensibilità di un dispositivo è determinata dall'inclinazione della curva di calibrazione (Fig. 3.5).

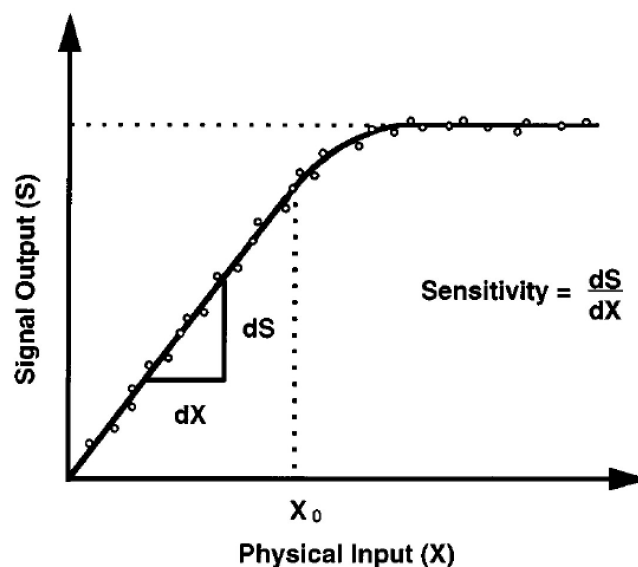


Figura 3.5. Curva di calibrazione di un sensore

La differenza tra il più grande e il più piccolo valore della variabile fisica che può essere correttamente misurato da uno strumento determina il range dinamico del dispositivo.

Se l'errore sistematico può essere ridotto attraverso metodi di compensazione, altri errori come quelli dovuti ad una sorgente random (rumore) condizioneranno la precisione della misura. Il rumore può essere definito come un segnale che non porta informazioni utili e condiziona quindi la ripetibilità di una misura. Questo può essere filtrato ripetendo la misura più volte in modo che il set di dati raccolto si distribuisca secondo una Gaussiana. Il valore medio o la mediana costituirà una buona stima del valore vero.

In questo ambito è necessario definire il Signal to noise ratio (SNR) come il rapporto tra la potenza del segnale e la potenza della combinazione delle sorgenti di rumore e si misura in decibel.

I sensori possono essere classificati in base alla tecnologia e del principio fisico utilizzato (piezoelettrici, MEMS, etc.), alla funzione svolta (di accelerazione, di pressione, ecc.), al particolare settore a cui sono destinati (sensori chimici, biosensori, ecc.), ma principalmente in funzione del loro comportamento energetico (sensori attivi e sensori passivi) e della grandezza fisica da misurare.

I sensori attivi forniscono un segnale elettrico in uscita derivato semplicemente dalla grandezza fisica in ingresso, necessitano di un amplificatore e si basano su effetti fisici come quello piezoelettrico, fotoelettrico, fotovoltaico, elettromagnetico e termoelettrico. I sensori passivi agiscono come impedenze elettriche generando una variazione nei parametri geometrici o una variazione nelle proprietà elettriche.

Di seguito si riporta uno schema semplificato (Fig. 3.6) che mette in evidenza i principali step che vanno dall'acquisizione al sistema di comunicazione del dato. Da notare che il problema principale è quello di rendere leggibile il segnale del sensore, ossia convertire il segnale da analogico a digitale.

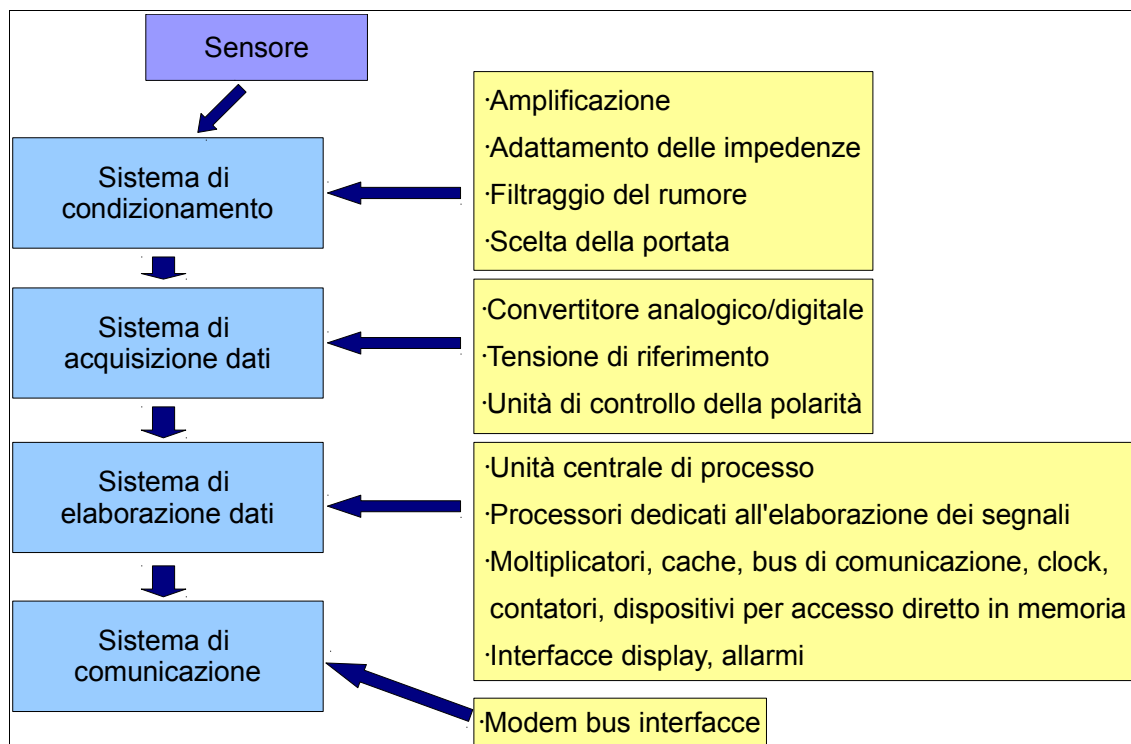


Figura.3.6. Schema dei principali passaggi che percorre il segnale elettrico prima di essere letto

Tra i sensori e le piattaforme sviluppati negli ultimi anni in Italia, alcuni hanno trovato un largo impiego nel Mar Mediterraneo per rilevare le variabili fisiche, chimiche e biologiche dell'acqua di mare. Di seguito si riportano alcune delle tecnologie sviluppate in Italia negli ultimi anni:

### SARAGO

Il SARAGO è un veicolo subacqueo ondulante progettato nel 1990 presso i Laboratori dell'ISMES con la collaborazione dell'Università degli Studi “Tor Vergata” di Roma (Italia), (Bruzzi & Marcelli, 1990) (Fig. 3.7).

Il suo utilizzo è finalizzato a misure quasi-sinottiche di variabili ecologiche e fisico-chimiche in ambiente marino, grazie all'installazione di differenti strumenti al suo interno. Tali strumenti consistono in una SBE 19 CTD per la misura delle variabili fisiche, un trasduttore di pressione per il controllo della profondità operativa ed un fluorimetro PrimProd 1.11, progettato in collaborazione con l'Istituto di Biofisica dell'Università di Mosca. Con tale configurazione, il SARAGO è stato utilizzato nell'ambito del Progetto PRISMA 2 del CNR, svoltosi tra il 1995 ed il 1998, per le misure *in continuo* di efficienza fotosintetica e di PAR, e per eseguire stime di produzione primaria fitoplanctonica ad alta risoluzione (Piermattei et al., 2006).

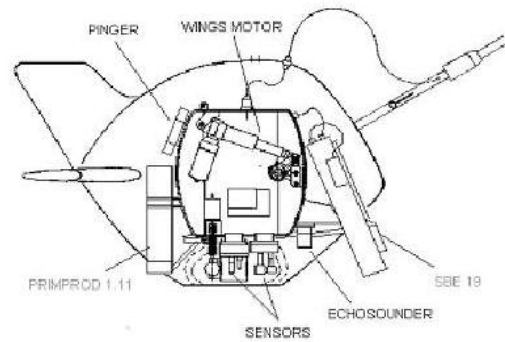
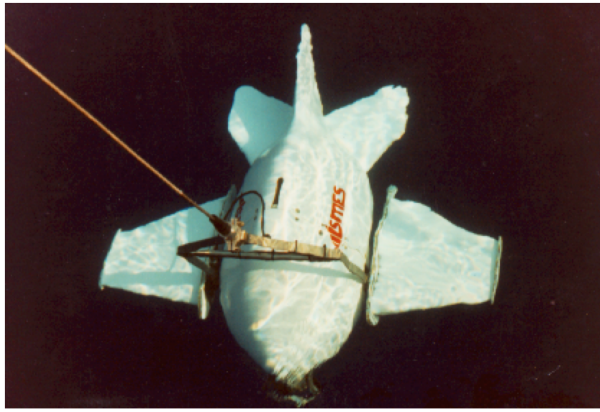


Fig. 3.7. La piattaforma SARAGO

La traiettoria del SARAGO viene controllata attraverso un trasduttore di pressione ed un sonar; il primo permette di controllare la profondità separatamente dai sensori di CTD, mentre il sonar funziona come controllo della traiettoria e della distanza dal fondo (nel caso in cui il SARAGO sia programmato per navigare ad una distanza fissa dal fondale) (Marcelli & Fresi, 1997).

### SAVE

Il SAVE (Fig. 3.8) è stato progettato per eseguire profili rapidi e dettagliati per ottenere misure quasi sinottiche delle variabili fisiche e biologiche.

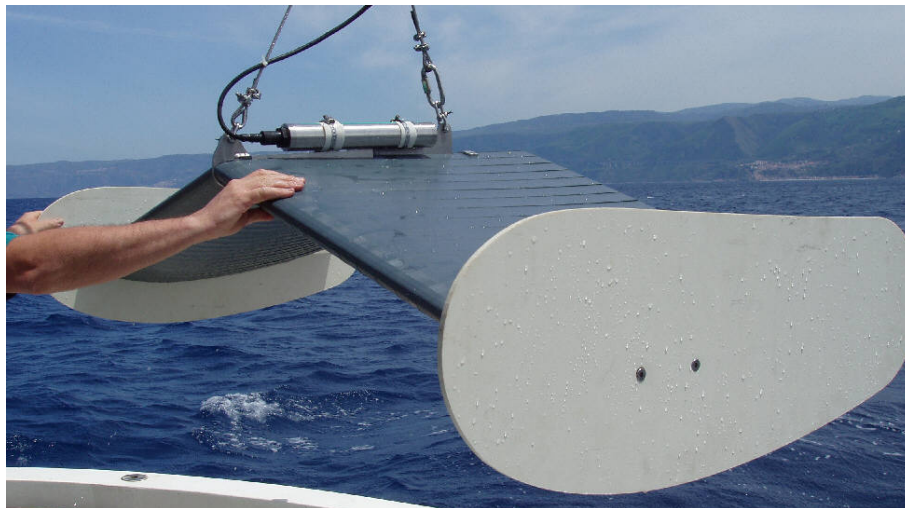


Fig. 3.8. La piattaforma SAVE

Tale sistema permette di eseguire caratterizzazioni dettagliate della colonna d'acqua, seguendo l'evoluzione dinamica dei fenomeni investigati. Questa piattaforma consiste di un depressore trainato da un'unità di superficie ad una profondità fissa sul fondo e da un veicolo, sulla

quale sono montati i sensori, che scorre lungo un cavo dalla superficie al depressore.

Il depressore è stato progettato per operare dalla superficie fino a profondità di circa 200 m e ad una velocità di navigazione compresa tra i 2 e gli 8 nodi. Questo modello permette di definire la configurazione di equilibrio del sistema depressore/cavo a differenti velocità di navigazione.

Allo scopo di controllare il comportamento della piattaforma durante la navigazione, il depressore ospita un trasduttore di pressione, un inclinometro biassiale ed una scheda di acquisizione dati.

### T-FLAP

La sonda T-FLAP (*Temperature Fluorescence LAunchable Probe*) è stata progettata al fine di rispondere alla richiesta di un profilatore di temperatura e fluorescenza della clorofilla *a* a basso costo ed utilizzabile da navi di opportunità. Lo sviluppo del fluorimetro ha seguito il principio dell'XBT, ma, a differenza di questo, il T-FLAP è stato concepito con un sistema elettronico provvisto di diversi canali di misura. Le attività di ricerca di questa tesi si inseriscono nel programma di sperimentazione di questa tecnologia per lo sviluppo di nuovi sensori ed applicazioni oceanografiche. Il capitolo 5 riporta una descrizione dettagliata della tecnologia T-FLAP e dei sensori di nuova generazione.

### **3.3 I programmi internazionali di monitoraggio dei mari e degli oceani**

Una delle innovazioni più rilevanti degli scorsi decenni nel campo delle scienze marine è stato lo sviluppo dell'oceanografia operativa ovvero della capacità di "prevedere il tempo del mare".

Il cuore dell'oceanografia operativa risiede nell'osservazione sistematica dei mari e degli oceani attraverso un sistema automatico di monitoraggio e previsione che include tutte le fasi del processo osservazionale, dalla raccolta dei dati (*in situ* e satellitari), alla loro elaborazione e gestione, fino all'erogazione di servizi. Il sistema procede con la trasmissione rapida di dati osservativi a centri di assimilazione dati, dove vengono processati attraverso modelli di previsione numerica. I risultati dei modelli vengono utilizzati per generare prodotti quali, per esempio, allarmi (di inondazioni costiere, tempeste, danni da fioriture algali tossiche, dispersione di contaminanti) carte elettroniche, percorsi ottimali per le navi, previsione della produttività stagionale o annuale primaria, correnti oceaniche, variabilità climatica ecc. I risultati ottenuti negli anni in questo settore hanno contribuito alla realizzazione di strumenti di gestione fondamentali per la protezione degli ecosistemi marini e la sicurezza in mare, temi cardine delle politiche ambientali internazionali.

Tuttavia la qualità dei prodotti dell'oceanografia operativa dipende in modo critico dalla disponibilità di dati real time *in situ* e telerilevati ad elevata risoluzione spaziale e temporale.

Questo ha reso necessario lo sviluppo di un sistema globale di osservazione dell'oceano (GOOS) che coinvolge grandi programmi internazionali o organizzazioni intergovernative (ad esempio WMO e IOC attraverso JCOMM, GOOS e GCOS, GEOSS, RAA), e programmi di ricerca (ad esempio WCRP, IGBP e SOLAS)<sup>1</sup>.

Il GOOS ([www.ioc - goos.org](http://www.ioc-goos.org)) è stato progettato al fine di fornire osservazioni dell'oceano globale (comprese le risorse viventi) e delle relative analisi e modellazioni, sostenendo l'oceanografia operativa e le previsioni sui cambiamenti climatici. Attraverso alleanze regionali e programmi connessi dedicati, il GOOS fa sì che tutti i dati siano accessibili al pubblico ed ai ricercatori con metodi condivisi standard e semplici, con l'obiettivo di produrre prodotti utili per una vasta gamma di utenti. In questo modo vengono forniti strumenti fondamentali per la gestione degli ecosistemi e delle risorse marine e costiere, per la protezione della vita e delle risorse sulla costa ed in mare nonché per l'avanzamento della ricerca scientifica.

Dal 1999 le attività marine del WMO, così come quelli dell'IOC, sono state coordinate dalla Commissione tecnica paritetica per l'oceanografia e la meteorologia marina (JCOMM - [www.jcomm.info](http://www.jcomm.info)). La *Observations Program Area* del JCOMM è responsabile per lo sviluppo, il coordinamento e la manutenzione sia dei network osservativi, costituiti da boe ormeggiate, boe derivanti, reti osservative ship-based e space-based, che dei relativi servizi di telecomunicazione.

In questo contesto è stato creato un *Ship Observation Team* (SOT) che coordina due programmi: il sistema volontario *Voluntary Observing Ship* (VOS) ed il Programma *Ship of Opportunity* (SOOP).

L'obiettivo primario del programma *Ship of Opportunity* è quello di soddisfare la sempre maggiore richiesta nella disponibilità di dati oceanografici relativi allo strato superficiale dei mari e degli oceani come stabiliti dal *Global Ocean Observing System* (GOOS) e dal *General Comprehensive Operating System* (GCOS), e che possano essere soddisfatte dalle cosiddette navi di opportunità (Ship Of Opportunity – SOO).

---

<sup>1</sup> WMO=World Meteorological Organisation; IOC=Intergovernmental Oceanographic Commission; JCOMM=Joint Committee for Oceanography and Marine Meteorology; GOOS=Global Ocean Observing System; GCOS=Global Climate Observing System; GEOSS=Global Earth Observation System of Systems; CEOS=Committee on Earth Observation Satellites; WCRP=World Climate Research Program; IGBP=International Geosphere-Biosphere Program.

### VOS (Voluntary Observing Ships) e SOOP (Ship Of Opportunity Program)

Il Voluntary Observing Ship ( VOS ) è un programma internazionale che coinvolge i paesi membri della WMO/IOC che reclutano diverse tipologie di navi per l'acquisizione e la trasmissione di osservazioni meteomarine. Attualmente il sistema VOS riporta dati ogni sei o tre ore, restituendo osservazioni di velocità e direzione del vento, temperatura dell'aria, umidità, temperatura superficiale del mare (SST), pressione atmosferica sul livello del mare (SLP), copertura nuvolosa, parametri meteo-marini. I dati vengono inviati ad un servizio meteorologico tramite telefonia radio ad una stazione radio costiera, via telex su radio, o da INMARSAT-C. Le navi impegnate attualmente in questo programma sono circa 5.000 (Fig. 3.9).

Negli ultimi anni l'installazione di stazioni meteorologiche automatiche (AWS) ha notevolmente aumentato il numero di osservazioni disponibili. Tuttavia, è ancora carente un programma sistematico di comparazione incrociata con le osservazioni tradizionali per garantire la continuità dei dati in linea con i principi di monitoraggio GCO. Inoltre, i sistemi AWS sono costosi per questo il VOS promuove lo sviluppo di tecnologie innovative *low cost* per l'ottenimento di dati in tempo reale.

In questo contesto si sviluppa il SOOP (Ship Of Opportunity Program), un programma operativo che promuove l'utilizzo di navi di opportunità come piattaforme di misura alternative alle navi da ricerca, con notevole abbattimento dei costi. Gli strumenti usati per l'acquisizione dei dati in Near Real Time sono principalmente gli *eXpandable BathyThermograph* – XBT's, sonde a perdere che rilevano profili di temperatura. Oltre a questi vengono utilizzate anche altre tipologie di strumenti (ad esempio Termosalinografi - TSG, Expendable Conductivity/Temperature/Depth Profiling System - XCTD, Conductivity Temperature Depth - CTD, Acoustic Doppler Current Profiler - ADCP).



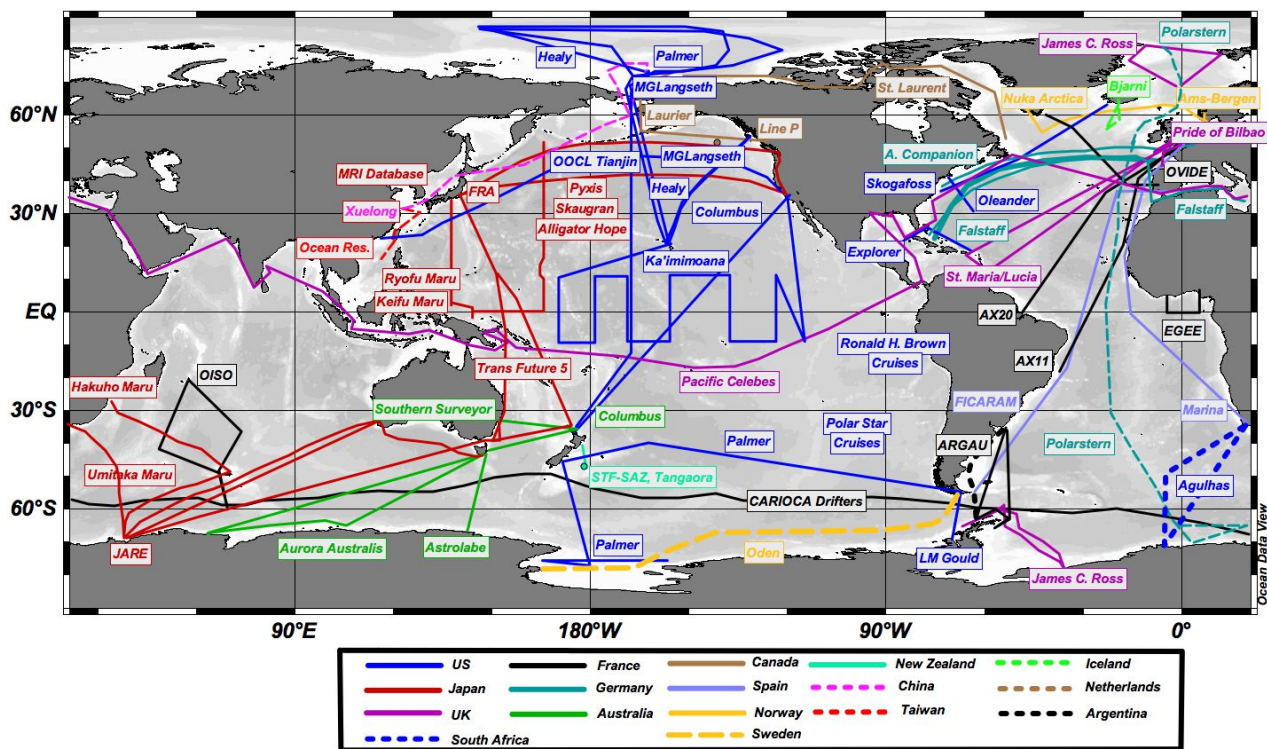


Fig.3.9. Rotte del Global Volunteer Observing Ship Program

Il Programma Ship of Opportunity nel Mar Mediterraneo è stato fondato alla fine del 1999, nel quadro del sistema di previsioni del Mar Mediterraneo. In questo contesto il Progetto Pilota *Mediterranean Forecasting System Pilot Project (MFS-PP)* ha consentito lo svolgimento di numerose campagne oceanografiche finalizzate al miglioramento della qualità dei dati e dei sistemi di trasmissione.

Nell'ambito di questi programmi, molte sono le iniziative in corso per sviluppare nuovi dispositivi e sistemi di osservazione, adatte per essere utilizzate da quante più navi possibili.

### Ferrybox Project

Tra i programmi di ricerca tecnologica oceanografica portati avanti negli ultimi anni spicca il progetto *FerryBox*, finanziato dalla Comunità Europea dal 2002 al 2005. Esso ha rappresentato un passo importante verso il raggiungimento degli obiettivi promossi dall'*EuroGOOS (European Global Ocean Observing System)* per l'estensione della rete di osservazione e segnalazione marina europea. Il progetto ha stabilito l'uso coordinato di navi traghetto commerciali utilizzati per la raccolta di dati scientifici negli 11 paesi partners partecipanti, promuovendo lo sviluppo di nuove tecnologie a basso costo e di procedure di controllo di qualità dei dati e di archiviazione all'interno del SeaDataNet (Fig. 3.10).



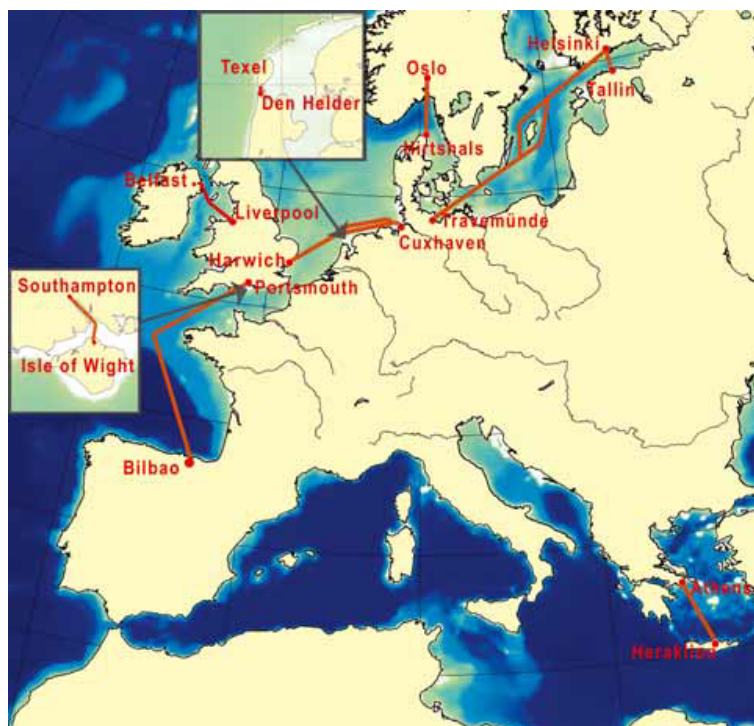


Fig 3.10. Rotte dei traghetti utilizzate nel progetto FerryBox EU

I Ferrybox sono sistemi automatici in linea che operano *in continuo* su imbarcazioni in movimento (Fig. 3.11). Il sistema è in grado di pompare l'acqua da un ingresso montato a scafo ad una profondità fissa tra 1 e 6 metri all'interno del circuito di misura, equipaggiato con differenti tipi di sensori. Un'unità di *debubbling* rimuove le bolle d'aria, che possono entrare nel sistema durante le mareggiate. Allo stesso tempo vengono rimosse particelle di sabbia grossolana che possono essere introdotte nei porti poco profondi e che, depositandosi, tendono a bloccare i tubi. Il flusso in ingresso dipende dal sistema utilizzato e può variare da 3 a 25 l/min. Accoppiato al debubbler c'è un circuito dell'acqua interno in cui l'acqua di mare viene fatta circolare con una velocità costante di circa 1 m / s. Questo diminuisce la formazione di film batterici sui sensori e sulle superfici dei tubi. Una certa quantità d'acqua in entrata viene filtrata da un modulo con filtro tangenziale a fibre cave per l'analisi automatica dei nutrienti. Il sistema è controllato da un computer che può spegnere il sistema in caso di errori e che gestisce i cicli di pulizia automatica, ad esempio, in porto. Il *biofouling* è impedito dalla pulizia dei sensori con acqua di rubinetto e da un risciacquo con acqua acidificata dopo ogni crociera.

Il sistema è controllato da GPS ed un computer interno. Esso è collegato ad una stazione a terra, via GSM o via satellite, per il controllo remoto e il trasferimento dei dati. Il trasferimento dei dati avviene in tempo reale (in caso di connessione satellitare) o quasi, ovvero dopo il completamento di una crociera (nell'ordine di ore o giorni a seconda della lunghezza del percorso).

Il sistema presenta 4 sensori di base per la misura di temperatura, conducibilità (salinità),

torbidità e fluorescenza della clorofilla *a*. Sensori aggiuntivi sono disponibili per la misura delle correnti e del trasporto dei sedimenti (ADCP), per la misura dei nutrienti, dell'ossigeno e del pH e per lo studio dei principali gruppi microalgali.

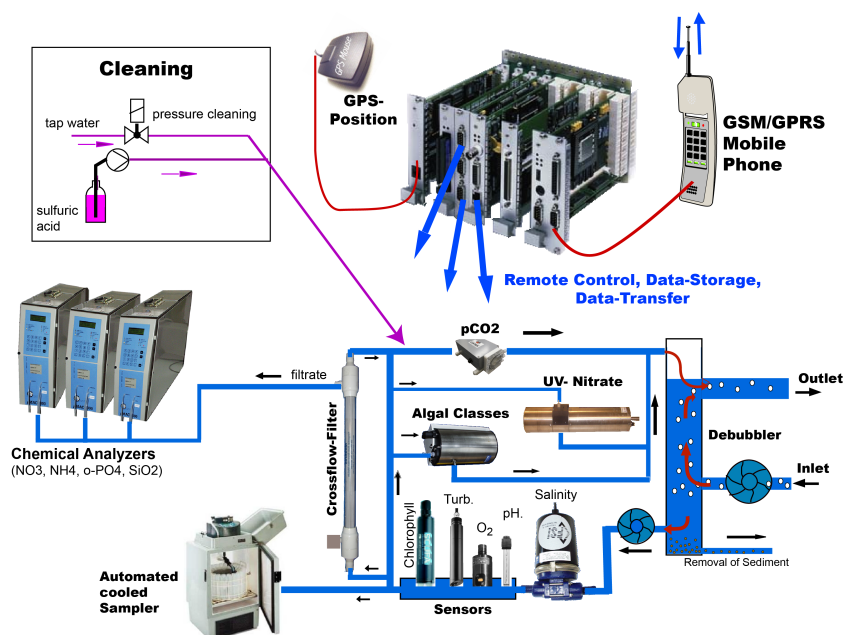


Fig 3.11. Schema di un sistema automatico FerryBox

I costi per l'acquisto ammontano a 50 000 EUR per l'installazione dei sensori di base e dei sistemi di registrazione e trasmissione dati. Il sistema utilizza le infrastrutture già presenti sulle navi (ad es canali via cavo, acqua ed energia fornite).

I sistemi di sensibilizzazione educativa dei passeggeri costano circa 5.000-10.000 euro. Il fattore di costo principale è il personale, nel numero di 3-4 persone mesi / anno / sistema. I costi dei sistemi Ferrybox, infatti, includono le seguenti attività:

- assistenza e manutenzione;
- calibrazione e referenziamento;
- gestione e controllo del sistema;
- controllo di qualità dei dati;
- pre-e post-processing;
- archiviazione fino alla fase "ready to use".

Nel 2008 la Comunità Europea emana la Direttiva quadro 2008/56/CE sulla strategia per l'ambiente marino, la quale viene recepita in Italia con il d.lgs. n. 190 del 13 ottobre 2010. La Direttiva obbliga gli Stati Membri ad adottare dei programmi strategici di gestione degli ambienti marini per il raggiungimento entro il 2020 del buono stato ambientale (GES, "Good Environmental Status" - Fig. 3.12.).

La strategia che ogni Stato è chiamato ad adottare deve basarsi su una valutazione iniziale, sulla definizione del buono stato ambientale, sull'individuazione dei traguardi ambientali e sull'istituzione di programmi di monitoraggio.

La Direttiva ha suddiviso le acque marine europee in 4 regioni: Mar Baltico, Oceano Atlantico nord-orientale, Mar Mediterraneo e Mar Nero, e per alcune di queste ha provveduto ad un'ulteriore suddivisione individuando delle sotto-regioni. Nel Mar Mediterraneo sono state individuate tre sub-regioni:

- a) il Mar Mediterraneo occidentale,
- b) il Mar Adriatico,
- c) il Mar Ionio e Mediterraneo centrale.

Le acque italiane appartengono a tutte e tre le sottoregioni. Data la natura transfontaliera dell'ambiente marino, gli Stati membri sono chiamati a cooperare per garantire che le relative strategie siano elaborate in modo coordinato per ogni regione o sottoregione marina.



Fig 3.12. GES "Good Environmental Status"

Per buono stato ambientale delle acque marine si intende "la capacità di preservare la

diversità ecologica, la vitalità dei mari e degli oceani affinché siano puliti, sani e produttivi mantenendo l'utilizzo dell'ambiente marino ad un livello sostenibile e salvaguardando il potenziale per gli usi e le attività delle generazioni presenti e future"

Nell'ottica del raggiungimento degli obiettivi prefissati, la Direttiva individua 11 descrittori che descrivono l'ecosistema una volta che il buono stato ambientale è stato raggiunto, di seguito riportati:

Descrittore 1: La biodiversità è mantenuta. La qualità e la presenza di habitat nonché la distribuzione e l'abbondanza delle specie sono in linea con le prevalenti condizioni fisiografiche, geografiche e climatiche.

Descrittore 2: Le specie non indigene introdotte dalle attività umane restano a livelli che non alterano negativamente gli ecosistemi.

Descrittore 3: Le popolazioni di tutti i pesci, molluschi e crostacei sfruttati a fini commerciali restano entro limiti biologicamente sicuri, presentando una ripartizione della popolazione per età e dimensioni indicativa della buona salute dello stock.

Descrittore 4: Tutti gli elementi della rete trofica marina, nella misura in cui siano noti, sono presenti con normale abbondanza e diversità e con livelli in grado di assicurare l'abbondanza a lungo termine delle specie e la conservazione della loro piena capacità riproduttiva.

Descrittore 5: È ridotta al minimo l'eutrofizzazione di origine umana, in particolare i suoi effetti negativi, come perdite di biodiversità, degrado dell'ecosistema, fioriture algali nocive e carenza di ossigeno nelle acque di fondo.

Descrittore 6: L'integrità del fondo marino è ad un livello tale da garantire che la struttura e le funzioni degli ecosistemi siano salvaguardate e gli ecosistemi bentonici, in particolare, non abbiano subito effetti negativi.

Descrittore 7: La modifica permanente delle condizioni idrografiche non influisce negativamente sugli ecosistemi marini.

Descrittore 8: Le concentrazioni dei contaminanti presentano livelli che non danno origine a effetti inquinanti.

Descrittore 9: I contaminanti presenti nei pesci e in altri prodotti della pesca in mare destinati al consumo umano non eccedono i livelli stabiliti dalla legislazione comunitaria o da altre norme pertinenti.

Descrittore 10: Le proprietà e le quantità di rifiuti marini non provocano danni all'ambiente costiero e marino.

Descrittore 11: L'introduzione di energia, comprese le fonti sonore sottomarine, è a livelli che non

hanno effetti negativi sull'ambiente marino.

Alla luce di quanto detto, la Marine Strategy, che costituisce il pilastro ambientale della futura politica marittima dell'Unione Europea, fonda i suoi principi sull'approccio integrato dell'oceanografia operativa per la gestione degli ecosistemi marini, rendendo sempre più necessario lo sviluppo di nuove tecnologie da impiegare nei programmi di monitoraggio dei mari e degli oceani.

## CAPITOLO II

### 4.1. Il ruolo della sostanza organica disciolta (DOM) nel ciclo globale del carbonio

La sostanza organica disciolta (DOM), definita come la materia organica di dimensioni al di sotto dei  $0.2\ \mu\text{m}$ , gioca un ruolo chiave nel ciclo del carbonio (Fig. 4.1). Tuttavia, le informazioni circa i processi che ne determinano la sua produzione, la sua rimozione biotica ed abiotica e la sua distribuzione in mare sono ad oggi scarse e lacunose (Santinelli et al., 2008).

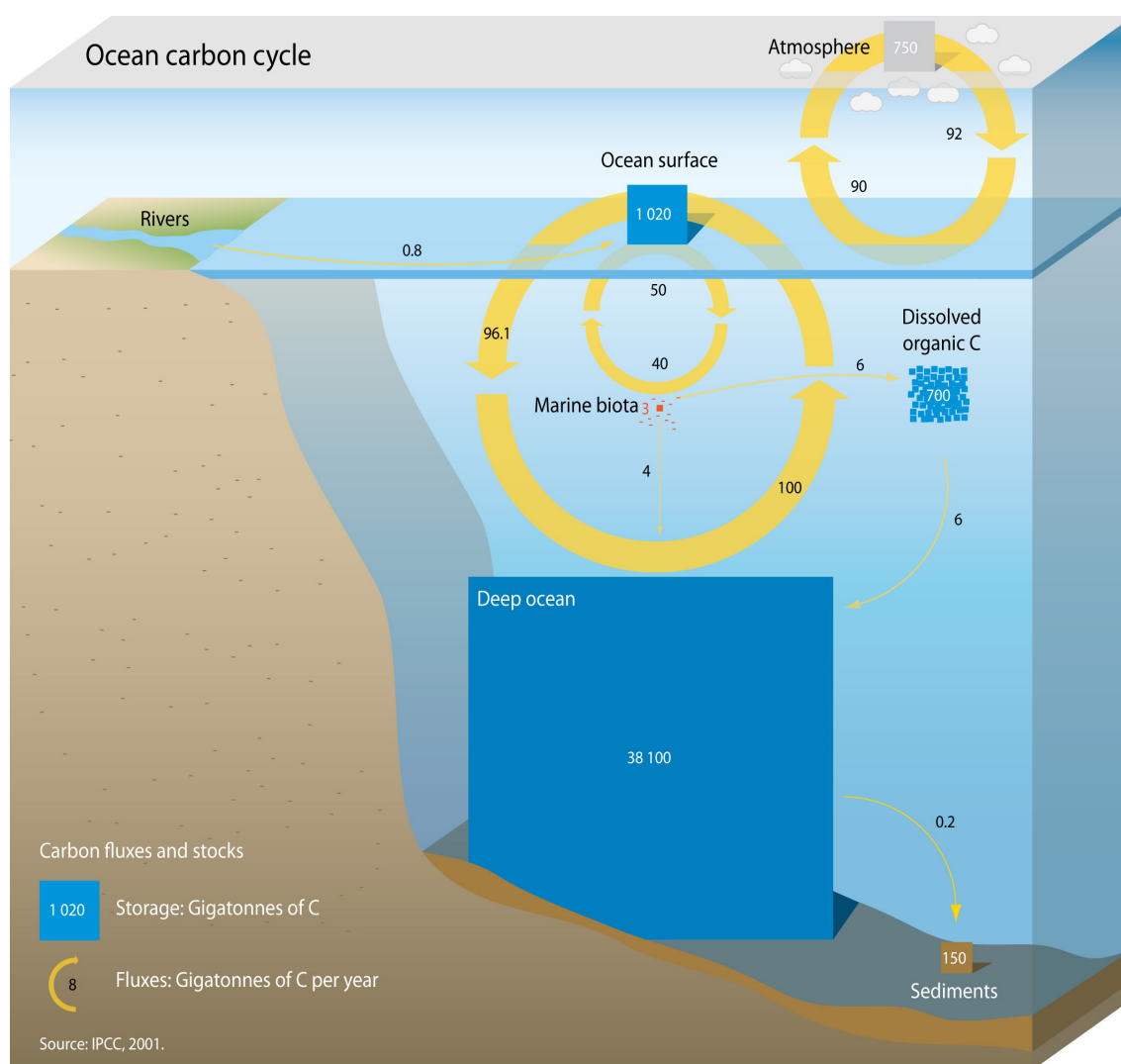


Fig 4.1. Ciclo del carbonio negli oceani (IPCC,2001)

Gli oceani, la biosfera terrestre e l'atmosfera sono le tre maggiori riserve dinamiche di carbonio sul pianeta terra. Il carbonio si accumula nei diversi comparti ambientali in seguito ai processi di formazione e di distruzione della materia organica e del carbonato di calcio attraverso rispettivamente le reazioni di fotosintesi/respiazione biologica e di precipitazione/dissoluzione. I

principali processi attraverso i quali il carbonio viene trasferito da una riserva all'altra sono gli scambi di  $\text{CO}_2$ , i flussi di carbonio inorganico disciolto ( $\text{DIC}=\text{HCO}_3^-+\text{CO}_3^{2-}+\text{CO}_2$ ) veicolato dai fiumi ed il seppellimento del  $\text{CaCO}_3$  minerale.

Gli oceani costituiscono la maggiore riserva di carbonio con 38000 Pg di carbonio (1PgC =  $10^{15}$ g di carbonio) sotto forma di carbonio inorganico disciolto (DIC), circa 50 volte rispetto ai 750 Pg contenuti nell'atmosfera sotto forma di  $\text{CO}_2$ , della quale si stima un aumento nell'ultimo secolo dovuto alle emissioni antropogeniche di quasi il 30%, da un valore di 288 ppm nell'aria negli anni pre-industriali a 369 ppm nel 2000. L'ammontare di carbonio immagazzinato negli organismi viventi è di 3 Pg C, mentre il pool di carbonio organico disciolto (DOC) negli oceani ammonta a circa 700 Pg C (Hansell & Carlson, 1998a), valore comparabile con la massa di carbonio inorganico presente in atmosfera (MacKenzie, 1981; Fasham et al., 2001). Ciò significa che anche una piccola perturbazione dei processi di produzione e consumo del pool di DOC può avere un forte impatto sul bilancio di  $\text{CO}_2$  tra atmosfera ed oceani. Il DOC costituisce la frazione più abbondante (96.8%) della DOM marina, le cui altre frazioni sono rappresentate dal DON e dal DOP (Fig. 4.2). Infine la biosfera terrestre contiene 784 Pg C nella vegetazione vivente e 1580 nel suolo organico, circa tre volte quella dell'atmosfera.

Gli scambi acqua-aria ed aria-acqua dell'anidride carbonica che avvengono attraverso la superficie sono stati stimati essere nell'ordine dei 100 Pg ciascuno (Takahashi et al., 1993).

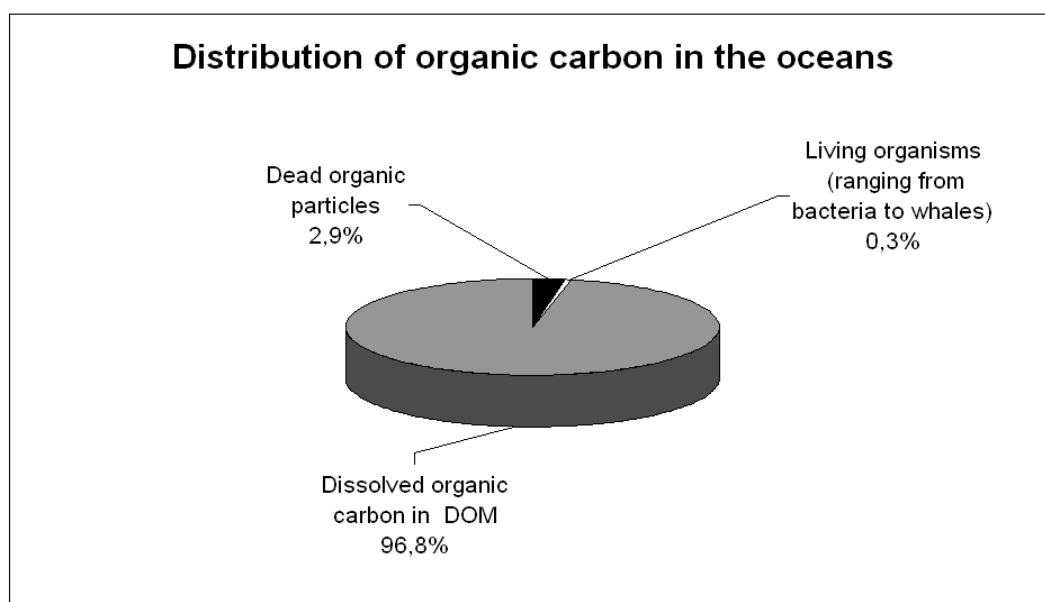


Fig 4.2. Distribuzione del carbonio organico negli oceani

Negli ecosistemi terrestri il bilancio tra processi di fotosintesi e di respirazione sono bilanciati (120 Pg C). Negli oceani, invece, la differenza tra la produzione di carbonio organico

attraverso la fotosintesi e la respirazione nella zona eufotica è di circa il 10% ed uguale al trasporto di carbonio organico verso gli strati oceanici più profondi sotto forma di particolato ed al rimescolamento del DOC. Questo processo è noto con il nome di *Biological Carbon Pump*, responsabile del sequestro di carbonio sotto forma di CO<sub>2</sub> dall'atmosfera ad opera dei produttori primari verso i fondali oceanici a formare rocce calcaree e combustibili fossili.

Il restante 90% del carbonio fissato con la fotosintesi entra immediatamente nella rete alimentare: una parte viene consumato e trasformato in biomassa dai consumatori, una parte viene rilasciato sotto forma di DOM, la quale viene riciclata ad opera dei batteri con tempi rapidissimi negli strati superficiali della colonna d'acqua. I composti organici disciolti svolgono un ruolo centrale anche nella cosiddetta rete alimentare microbica o “microbial loop”: circa metà della produzione fotosintetica netta in mare dipende dall'utilizzo della materia organica disciolta ( $< 0.5 \mu$ ) da parte dei microorganismi eterotrofi, i quali, in condizioni di stress utilizzano il carbonio organico disciolto dando origine alla cosiddetta produzione rigenerata. Questi batteri vengono quindi consumati dai Protozoi eterotrofi e dal microzooplankton, consumati a loro volta dai pesci, determinando quindi un recupero di energia nella catena alimentare marina.

Infine le molecole organiche formano complessi con un elevato numero di elementi in tracce, condizionandone il comportamento chimico e l'attività biologica, come nel caso del ferro che costituisce uno dei maggiori fattori limitanti la produzione primaria in mare.

#### **4.2 Processi di produzione e consumo della DOM negli ecosistemi marini**

La sostanza organica disciolta (DOM) presente lungo la colonna d'acqua può avere una duplice origine: le acque continentali riversano in mare elevate quantità di sostanze organiche disciolte (origine alloctona), come risultato della decomposizione della vegetazione nell'intorno territoriale e del dilavamento dei suoli causato dalle precipitazioni. Sebbene gli input di DOM terrestre rappresentino solo il 2-3% del pool totale oceanico essi influiscono molto sulla sua dinamica negli ambienti costieri.



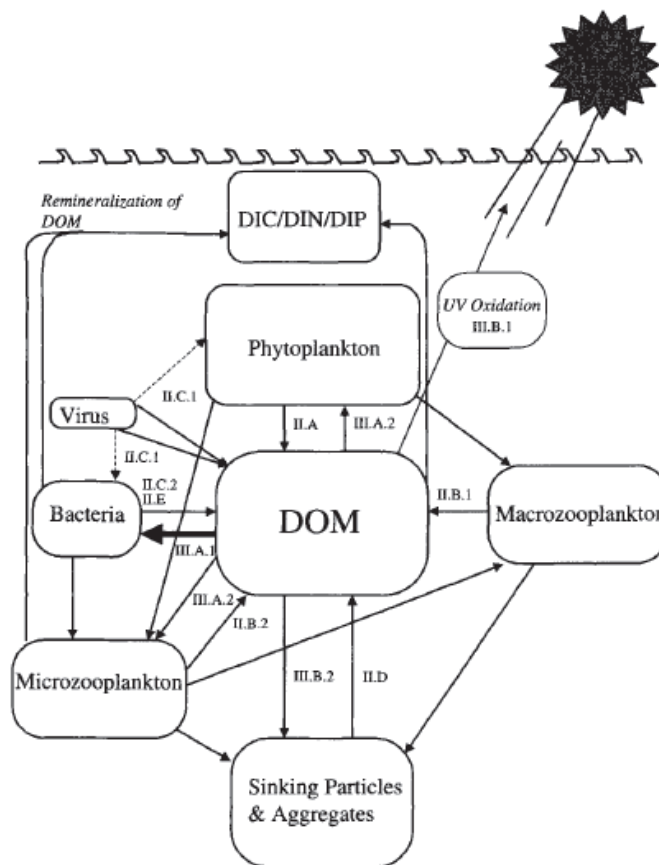


Fig 4.3. Processi di produzione e consumo della sostanza organica disciolta (DOM) negli ecosistemi marini

La produzione autoctona di DOM, invece, è legata principalmente ai processi di escrezione di fitoplancton e zooplancton ed alla degradazione della materia organica ad opera della componente batterica (Fig. 4.3).

Jumars et al. 1989 dimostrarono che la principale via di produzione di DOM dal fitoplancton ai batteri è rappresentata dai prodotti di escrezione dello zooplancton a seguito dei processi di ingestione e digestione. Le due classi di zooplancton, metazoi (macrozooplancton) e protozoi (microzooplancton) rimuovono rispettivamente il 1-77 ed il 4-60% della biomassa fitoplanctonica (Sherr & Sherr, 1988) ed il 54 and 75% di quella microbica nei sistemi marini (Caron et al., 1991).

Il rilascio di DOM può avvenire anche per lisi cellulare ad opera di virus e batteri. Il principale sito di produzione della sostanza organica disciolta è rappresentato dalla zona eufotica.

Il meccanismo più importante di rimozione della DOM è il suo consumo da parte di batteri eterotrofi. I batteri eterotrofi assorbono la sostanza organica disciolta a basso peso molecolare per semplice diffusione attraverso la membrana cellulare. I composti ad alto peso molecolare vengono invece prima idrolizzati in composti a più basso peso molecolare e successivamente assorbiti.

Il consumo della materia organica da parte dei batteri eterotrofi produce la rigenerazione dei nutrienti inorganici e la produzione secondaria di carbonio con conseguente aumento della della

biomassa microbica. Il recupero della sostanza organica disciolta per via batterica costituisce il cosiddetto “microbial loop”, del quale fanno parte, oltre ai batteri eterotrofi, i nanoflagellati eterotrofi ed i ciliati che adottano tale strategia metabolica in condizioni di stress.

Nelle acque dei mari antartici, dove gli stock del fitoplancton sono poco abbondanti durante tutto l'anno (clorofilla *a* <1 µg/l) e dove i bloom primaverili non si sviluppano, i processi del “microbial loop” possono essere gli unici a verificarsi.

Attraverso un'analisi statistica di dati relativi a differenti aree oceaniche Cole et al. (1988) hanno stimato che la Produzione Batterica costituisce il 31 % circa della Produzione Primaria locale.

Oltre al batterioplancton molti altri organismi marini hanno la capacità di utilizzare direttamente i composti DOM per soddisfare i bisogni metabolici. La DOM colloidale, carboidrati e proteine ad alto peso molecolare possono essere attivamente assorbite dai flagellati eterotrofi (Sherr & Sherr, 1988; Tranvik et al., 1993; Lessard et al., 1995). Anche gli invertebrati marini possono utilizzare i composti DOM come fonte nutrizionale (Manahan & Richardson, 1983; Marchant & Scott, 1993).

Tuttavia, sebbene questi processi esistano, essi rivestono un ruolo di minore importanza nei processi di rimozione della DOM rispetto all'up-take ad opera dei procarioti eterotrofi.

Oltre ai processi di rimozione biotica la DOM subisce una serie di processi fotochimici responsabili della sua rimozione negli ecosistemi acquatici.

La radiazione UV produce una rimozione diretta ed indiretta della DOM presente in acqua di mare, sia come mineralizzazione diretta sotto forma di CO<sub>2</sub> che come CO (Mopper et al., 1991; Moran & Zepp, 1997).

Molti studi hanno dimostrato che la degradazione fotochimica della DOM ad alto peso molecolare porta alla formazione di composti a basso peso molecolare biologicamente disponibili (Kieber et al., 1989; Mopper et al., 1991; Moran & Zepp, 1997)

I processi fotochimici rilasciano, inoltre, composti di N e P labili come ammonio, amminoacidi e fosfati.

Moran & Zepp (1997) hanno stimato che la perdita annuale di DOC tramite degradazione fotochimica è di 12-16 x 10<sup>15</sup> g C anno<sup>-1</sup> ovvero il 2-3% del pool di DOC oceanico.

### 4.3 Scale spaziali e temporali della DOM negli ecosistemi marini

La DOM può essere considerata come una riserva temporanea di carbonio in cui confluisce quella parte di carbonio organico che, fissata attraverso la fotosintesi, sfugge dalla catena alimentare a vari livelli (Santinelli, 2008).

L'accumulo di DOM in mare è il risultato del disaccoppiamento tra i processi di produzione e di consumo. Una volta accumulatasi essa può diffondere verticalmente ad opera di processi convettivi, oppure può essere trasportata orizzontalmente attraverso la circolazione delle masse d'acqua. Altri fenomeni importanti nel determinare la distribuzione della sostanza organica in mare, soprattutto in ambito costiero, sono: la risospensione dai sedimenti, il trasporto atmosferico di composti terrigeni ed infine l'immissione attraverso i fiumi di grandi quantità di sostanza organica di origine terrestre.

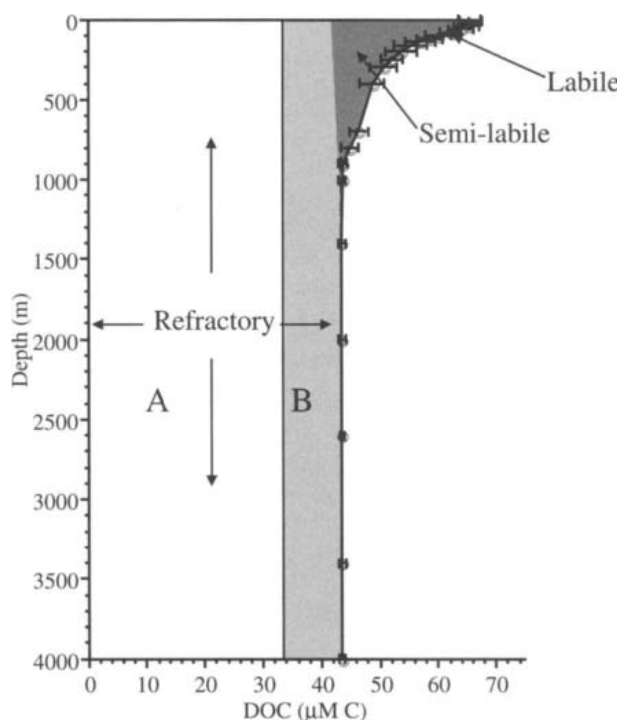


Fig 4.4. Turn-over del pool di CDOM in mare

Nel suo pool si possono riconoscere tre comparti con tempi di turn-over molto diversi: (1) un comparto estremamente labile che viene utilizzato in tempi brevissimi (minuti, giorni), un comparto semi-labile che resiste alla degradazione batterica e che viene utilizzato su scala temporale di mesi e anni; un comparto refrattario con un tempo di turn-over stimato di 4000-6000 anni (Fig. 4.4).

Il comparto labile è costituito da molecole organiche reattive come i monosaccaridi neutri

con tempi di turn over talmente rapidi da essere presenti a bassissima concentrazione negli oceani aperti (Fuhrman & Ferguson, 1986; Rich et al., 1997; Keil & Kirchman, 1999; Skoog et al., 1999).

La proporzione di DOM labile, infatti, varia spazialmente secondo un gradiente di diminuzione della concentrazione dai sistemi costieri a quelli oceanici. In alcuni oceani i processi di produzione e consumo della DOM labile sono talmente bilanciati che essa non risulta disponibile nella scala dei giorni per i batteri nello strato superficiale.

La frazione della DOM labile costituisce lo 0-6 % del bulk di DOM negli oceani. La maggior parte della DOM negli oceani è, infatti, semilabile, ovvero biologicamente reattiva nell'ordine temporale dei mesi fino ad un anno. La DOM semilabile è costituita da molecole sia ad alto che a basso peso molecolare (HMW e LMW). I composti LMW sono biologicamente reattivi ma devono essere idrolizzati in monomeri da enzimi extracellulari prima dell'up-take da parte dei batteri.

Il tempo necessario ai batteri per sintetizzare e rilasciare questi enzimi produce un disaccoppiamento dei processi di produzione e di rimineralizzazione della DOM con il risultato di un accumulo di DOM transiente (Billen & Fontigny, 1987).

Infine, il pool di DOM refrattaria è la frazione maggiore del DOC totale. È costituita da molecole organiche a basso peso molecolare. (LMW DOM) (Benner et al., 1992; Amon & Benner, 1996; Skoog & Benner, 1997). Tale osservazione potrebbe sembrare una contraddizione visto che le molecole a basso peso molecolare costituiscono il substrato per il batterioplancton. In realtà non tutte le molecole LMW sono biodisponibili. Amon & Benner (1996) suggerirono che quando la materia organica essa viene decomposta si scompone in molecole sempre più piccole diventando sempre meno bioreattiva secondo il modello che segue:

POM ---> HMW DOM ---> LMW DOM;

il pool refrattario è rappresentato dal DOC presente nell'oceano profondo (>1000m) con un tempo di turn over di 4000-6000 anni nel Nord Atlantico e Pacifico Centro Settentrionale (Williams & Druffel, 1987; Bauer et al., 1992). Poiché questo tempo è maggiore della scala temporale della circolazione termoalina, il DOC refrattario viene ridistribuito verso gli strati oceanici più superficiali dalla circolazione oceanica.

Sebbene il DOC profondo sia biologicamente refrattario Barber (1968) ha misurato una differenza di 14  $\mu\text{M}$  tra l'Atlantico Settentrionale ed il Pacifico Settentrionale, ad indicare che una porzione del DOC subisce processi di rimozione durante lo spostamento delle masse d'acqua, dovuto alla circolazione oceanica. I meccanismi che stanno alla base di tale rimozione sono ad oggi

poco conosciuti e necessitano di ulteriori approfondimenti.

#### **4.4 La sostanza organica disciolta cromoforica (*Cromophoric Dissolved Organic Matter*)**

La CDOM, ovvero la materia organica disciolta cromoforica, nota anche come *gelbstoff*, gilvina o sostanza gialla, è operativamente definita come quella componente della DOM totale che assorbe la luce su una vasta gamma di lunghezze d'onda del visibile e dell'UV. Si tratta di un insieme di migliaia di composti organici costituiti principalmente da carbonio e idrogeno il cui numero e la cui complessità sono ancora poco conosciute. Con il termine di *disciolta* si fa riferimento a tutto ciò che può essere separato meccanicamente dalla componente particellata superiore ai 0.2  $\mu\text{m}$ , tramite filtrazione e centrifugazione. Infine, il termine *colorata* si riferisce alle proprietà ottiche della CDOM, caratterizzata da un colore giallastro (assorbimento di luce blu) e da una tipica emissione di fluorescenza blu. Le proprietà ottiche della CDOM consentono di misurarne le concentrazioni nell'ambiente. Esse forniscono informazioni sulla sia la quantità di materiale presente, sia sulle proprietà chimiche delle molecole organiche presenti nelle acque, e dei processi di trasformazione che esse subiscono a causa di processi chimici, biologici e fisici. I parametri che derivano dalle proprietà ottiche includono la pendenza spettrale  $S$  e l'efficienza di fluorescenza, di grande importanza nelle applicazioni di telerilevamento del colore dell'oceano.

Le motivazioni che hanno portato al crescente interesse della comunità scientifica verso lo studio della CDOM sono molteplici.

La CDOM costituisce una componente ubiquitaria del pool di materia organica disciolta degli oceani e riveste un ruolo chiave nei cicli biogeochimici di molti composti, influenzando sulle proprietà ottiche della colonna d'acqua e sulla quantità e qualità spettrale della luce disponibile nei processi fotochimici marini. In particolare, la concentrazione di CDOM controlla l'assorbimento della luce fotosinteticamente attiva disponibile per i processi fotosintetici, avendo un forte impatto sulla produzione fitoplanctonica e batterica (Smith et al., 1992; Herndl et al., 1993).

Il crescente uso delle misure telerilevate di colore dell'oceano per lo studio dei processi biogeochimici a macroscale ha richiesto lo sviluppo ed il perfezionamento di algoritmi per la determinazione dei costituenti dell'acqua di mare. L'intensità e la qualità spettrale del segnale sono strettamente dipendenti dalle componenti otticamente attive dell'oceano che assorbono la luce, quali l'acqua, la clorofilla *a*, il detrito, la CDOM ed eventuali altre specie chimiche presenti.

Elevate concentrazioni di CDOM, presenti soprattutto nelle aree costiere e di estuario, compromettono notevolmente la stima della biomassa fitoplanctonica da satellite. Lo spettro di assorbimento della CDOM, infatti, si sovrappone a quello della clorofilla *a*, determinando il 50%

dell'assorbimento a 443 nm, lunghezza d'onda alla quale la clorofilla *a* viene spesso misurata.

Un altro importante aspetto dello studio del pool di CDOM negli ambienti acquatici è il ruolo che esso assume nel controllo di radiazioni UV-A (315 – 400 nm) e UV-B (280 – 315 nm) potenzialmente pericolose per la sopravvivenza degli organismi marini. E', infatti, ormai noto che il rilascio di clorofluorocarburi di origine antropica (CFCs) ha causato la distruzione dell'ozono stratosferico nelle regioni polari, portando ad un progressivo aumento dei livelli di radiazioni UV-B.

Oltre a modificare la qualità spettrale del campo luminoso subacqueo, l'assorbimento della radiazione solare da parte della CDOM produce anche l'alterazione delle reazioni di speciazione degli ioni metallici che portano ad un disequilibrio della disponibilità biologica di alcuni metalli, come nel caso del ferro, che costituisce uno dei maggiori fattori limitanti la produzione primaria in mare. A questo si aggiunge la produzione fotochimica di:

- specie reattive dell'ossigeno (ROS) come lo ione superossido ( $O_2^{\cdot-}$ ), il perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ), i radicali perossidici ( $RO_2$ ) e lo ione ossidrilico ( $OH$ );
- gas in tracce quali  $CO_2$ , CO e COS e la distruzione del Dimetil Solfuro;
- molecole organiche a basso peso molecolare (LMW) ed il rilascio di forme biologicamente disponibili dell'azoto.

Infine, l'elevata concentrazione di sostanze organiche disciolte nelle acque continentali rende la CDOM un ottimo indicatore delle masse d'acqua di origine fluviale, consentendo di tracciare la presenza di eventuali acque di scarico e persino di acque di sentina in ambiente marino.

Alla luce di quanto detto, lo studio della CDOM ha una natura fortemente interdisciplinare, pertanto richiede la conoscenza e l'approfondimento di numerose tematiche delle scienze naturali, dalla circolazione oceanica alla biogeochimica del carbonio, dall'oceanografia ottica alla fotochimica e fotobiologia, ed all'ecologia e fisiologia del fitoplancton.

#### **4.4.1 Proprietà ottiche**

##### **4.4.1.1 Assorbimento**

La CDOM costituisce una delle principali componenti otticamente attive degli oceani , contribuendo ai fenomeni di assorbimento della luce che penetra lungo la colonna d'acqua. Tipicamente l'assorbimento totale ( $a_t$ ) è dato dalla somma degli assorbimenti delle sue componenti quali il fitoplancton  $a_{ph}(\lambda)$ , l'acqua pura  $a_w(\lambda)$ , la CDOM  $a_{CDOM}(\lambda)$  ed il detrito particolato non algale  $a_d(\lambda)$ :

$$a_t(\lambda) = a_{ph}(\lambda) + a_w(\lambda) + a_{CDOM}(\lambda) + a_d(\lambda)$$

La CDOM è in grado di assorbire la luce grazie alla presenza di numerosi cromofori organici ed inorganici di varia natura chimica.

Essa presenta uno spettro di assorbimento caratteristico con valori di assorbanza che aumentano in modo esponenziale verso lunghezze d'onda più corte, senza picchi distinguibili (Fig. 4.5). Tale mancanza di funzionalità dipende dal fatto che lo spettro di assorbimento è il risultato della sovrapposizione degli spettri di una grande varietà di composti simili.

L'entità dell'assorbimento varia in modo sostanziale tra le acque dolci e le acque marine, con valori del coefficiente di assorbimento a 355nm che vanno da  $>15 \text{ m}^{-1}$  misurati in aree costiere a  $<0.1 \text{ m}^{-1}$  in acque oligotrofiche di largo.

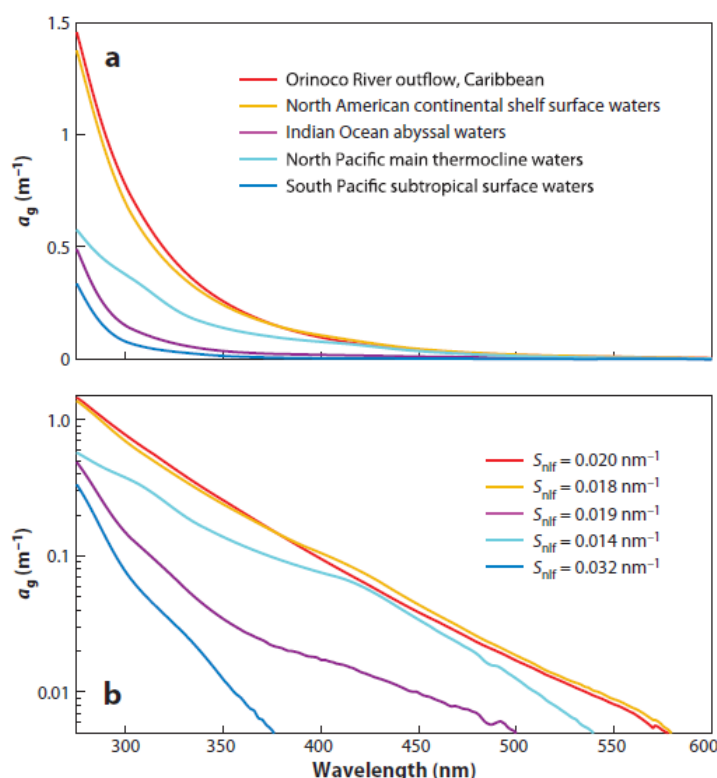


Fig 4.5 Spettri di assorbimento CDOM (a) e relative pendenze spettrali  $S$  (b) misurati in differenti ambienti marini (da Nelson et al., 2013)

Per descrivere l'andamento spettrale dell'assorbimento CDOM Bricaud et al. (1981) per primi proposero una funzione di forma esponenziale decrescente all'aumentare della lunghezza d'onda. L'equazione generale ora in uso per calcolare la pendenza spettrale CDOM,  $S$ , è la seguente:

$$a(\lambda) = a(\lambda_0) * e^{-S(\lambda - \lambda_0)}$$

dove  $a(\lambda)$  ed  $a(\lambda_0)$  sono i coefficienti di assorbimento alla lunghezza d'onda  $\lambda$  e alla lunghezza d'onda di riferimento  $\lambda_0$  rispettivamente, ed  $S$  definisce quanto rapidamente l'assorbimento decresce all'aumentare della lunghezza d'onda.

I coefficienti di assorbimento sono calcolati dalla relazione:

$$a(\lambda) (m^{-1}) = 2.303 * A/l$$

dove  $A$  è l'assorbanza misurata attraverso il cammino ottico  $l$  e 2.303 è il coefficiente di conversione tra  $\log_{10}$  e il logaritmo naturale. Lo spettro del coefficiente di assorbimento log trasformato assume una forma lineare per la maggior parte delle acque naturali, in particolare tra 400 e 700 nm. Tuttavia il calcolo della pendenza spettrale dipende dal range di lunghezze d'onda utilizzato e dal metodo di fitting utilizzato (lineare o non lineare). In un recente confronto dei metodi di fit utilizzati, Twardowski et al. (1999) hanno mostrato che, interpolando i dati direttamente in forma esponenziale attraverso l'uso di un modello non lineare, si ottengono risultati migliori rispetto al modello lineare, poichè il modello non lineare attribuisce un peso maggiore agli alti valori di assorbimento caratteristici delle lunghezze d'onda minori, che vengono misurati in modo più accurato.

La pendenza spettrale  $S$  costituisce un indicatore dell'origine CDOM, con pendenze generalmente inferiori in acqua dolce e di transizione (circa 0.01 nm<sup>-1</sup>) rispetto agli ambienti marini oligotrofici (0.02-0.03 nm<sup>-1</sup>). Tali differenze sono dovute alle diverse caratteristiche degli acidi umici marini, che presentano un più basso peso molecolare ed un minor contenuto di molecole aromatiche ed al fenomeno del *photobleaching*, come mostrato in figura 4.6. Essa riporta le pendenze spettrali calcolate su campioni prelevati in una stessa area del Golfo del Messico in due campagne oceanografiche successive effettuate nel 2000 e 2001 (Coble et al., 2007), caratterizzate rispettivamente da condizioni di bassa ed elevata siccità. In entrambi i casi si osserva come a basse salinità (inferiori a 25 psu) i valori di  $S$  sono bassi e costanti, mentre invece all'aumentare della salinità questi aumentano rapidamente, come conseguenza dell'aumento degli acidi umici marini. I campioni raccolti nel corso del 2000 mostrano una più netta separazione tra acque dolci e acque marine, condizione indicativa della presenza di processi di *photobleaching* causata da una bassa portata dei fiumi, elevati valori di radiazione solare ed una maggiore stratificazione della colonna d'acqua. La figura 4.6 mostra come i processi di *photobleaching* producono differenze anche dei



valori massimi di emissione di fluorescenza CDOM. I dati del 2000 mostrano anche in questo caso una nitida separazione tra le acque dolci e le acque marine con un punto di flesso a salinità inferiori (27 versus 32 psu).

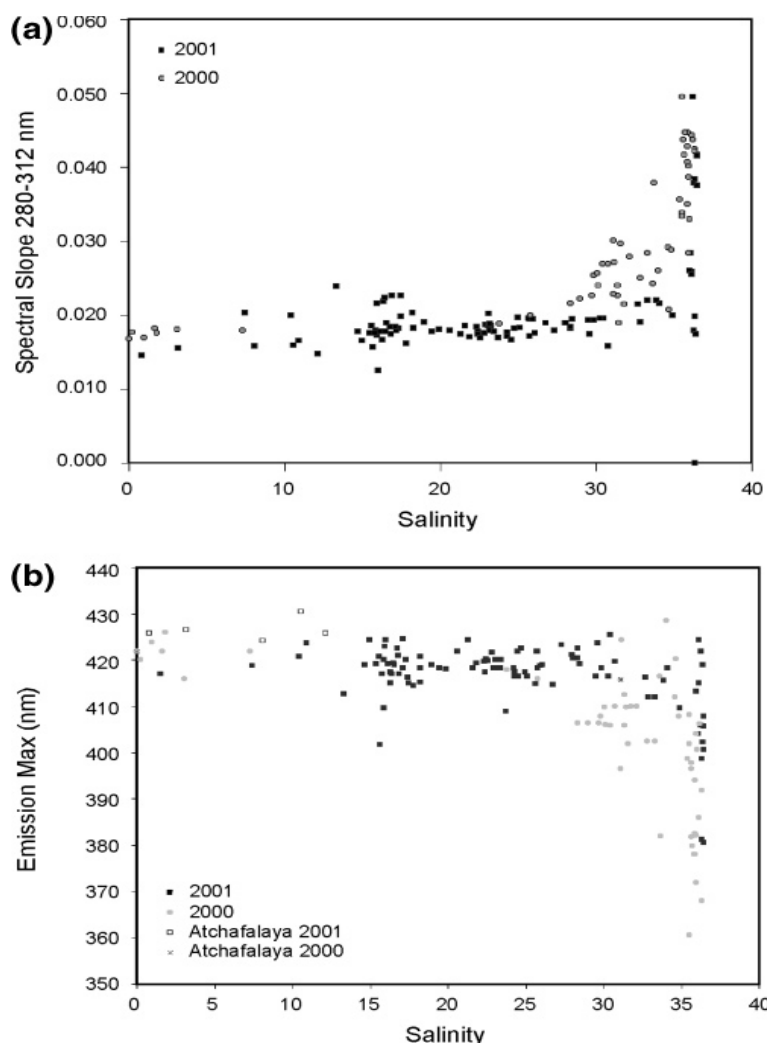


Fig 4.6 Pendenza spettrale (S) ed emissione massima (E max) su campioni prelevati in una stessa area del Golfo del Messico in due campagne oceanografiche successive (2000 e 2001) (da Coble et al., 2007)

Dal momento che i processi di *photobleaching* influiscono notevolmente sulle caratteristiche chimiche del pool CDOM, per lo studio della composizione chimica CDOM è consigliato l'utilizzo di un range di lunghezze d'onda compreso nella regione dell'UV-B, in quanto questa è più sensibile agli effetti del *photobleaching*. Negli algoritmi di telerilevamento, invece, si utilizzano lunghezze d'onda maggiori poichè le bande dei sensori sono finite e l'assorbimento CDOM interferisce sul segnale di assorbanza nel canale clorofilla. Gli algoritmi per il calcolo della concentrazione di clorofilla richiedono, infatti, la correzione con il parametro di assorbimento CDOM ( $a_{CDOM}$ ) a 443 nm.

#### 4.4.1.2 Fluorescenza

Le proprietà di fluorescenza dell'acqua di mare attribuita alla presenza di CDOM sono state osservate nel 1949 da Kalle, il quale per primo riconosce il potenziale di queste proprietà per tracciare la presenza di acqua dolce in ambiente costiero. Sebbene il pool di CDOM sia per definizione colorato, tuttavia non tutto è fluorescente. Ciò è dimostrato dal fatto che mentre gli spettri di assorbimento mostrano un aumento di intensità con la diminuzione della lunghezza d'onda tra 200 e 700 nm, gli spettri di eccitazione mostrano uno o più picchi discreti, più comunemente intorno a 250 e 350 nm.

Le tecniche di fluorescenza sono più sensibili e più semplici della spettroscopia di assorbimento, pertanto sono state più largamente utilizzate. La fluorimetria si presta in modo più efficace al monitoraggio *in continuo* e da remoto permettendo di studiare la distribuzione della CDOM con una maggiore risoluzione. Gli spettri di eccitazione e di emissione mostrano, inoltre, con maggiore dettaglio le differenze nella composizione chimica di quanto non facciano gli spettri di assorbimento. Tuttavia le misure di fluorescenza sono più soggette a variazioni dovute a fattori quali il pH e la presenza di *quencher* (elementi dissipatori) e non sono rappresentative dell'intera popolazione di molecole facenti parte del pool di CDOM. Ne segue che, per stimare l'assorbimento CDOM da misure di fluorescenza, è necessario stabilire una relazione lineare tra fluorescenza ed assorbimento per la regione geografica di interesse.

Due sono le tecniche che hanno fornito un enorme contributo alla conoscenza del comportamento spettrale CDOM: la tecnica EEMS (Excitation-Emission Matrix Spectroscopy), che consiste nella raccolta di una serie di spettri di emissione in funzione di un range definito di lunghezze d'onda di eccitazione, e la SS (Synchronous Scan), la quale prevede la scansione simultanea dei valori di eccitazione ed emissione per produrre un singolo scan. Anche se meno dispendiosa in termini di tempo, la tecnica SS fornisce meno informazioni ed è più difficile da interpretare.

L'applicazione della tecnica EEMS ha permesso di discriminare le diverse fonti di CDOM (Tab. 4.1) sulla base dei fluorofori presenti e delle loro relative concentrazioni. Nelle acque naturali sono stati individuati 8 tipi generali di picchi di fluorescenza. Questi gruppi sono inclusi nelle categorie di fluorescenza *protein-like*, *humic-like* e *pigment-like*. La classe *protein-like* presenta 2 picchi di eccitazione massima a 220 e 270 nm e 2 picchi di emissione massima a 305 nm (simile alla tirosina) e a 345 nm (simile al triptofano). La classe *humic-like* è caratterizzata da una coppia di eccitazione/emissione massima nel range 320-360/420-460 nm. Le acque di largo mostrano tipicamente questi picchi, spostati verso il blu di 25 e 5-30 nm rispetto a quelle costiere. Il

caratteristico *blue-shift* delle acque di mare aperto è strettamente connesso all'aumento della pendenza spettrale *S* ed alla diminuzione del livello di aromaticità osservato in queste acque.

| component                     | peak name <sup>43</sup> | Ex/Em           | peak number <sup>25,49</sup> | source <sup>25,49</sup>                       | peak <sup>47,48</sup> |
|-------------------------------|-------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------|
| tyrosine-like, protein-like   | B                       | 275/305         | 8                            | autochthonous                                 | $\gamma$              |
| tryptophan-like, protein-like | T                       | 275/340         | 7                            | autochthonous                                 | $\delta$              |
| unknown                       | N                       | 280/370         |                              |                                               |                       |
| UVC humic-like                | A                       | 260/400–460     | 4                            | fulvic acid, autochthonous, terrestrial       | $\alpha'$             |
| UVC humic-like                | A                       | 260/400–460     | 1                            | humic, terrestrial, allochthonous             | $\alpha'$             |
| UVC humic-like                | A                       | 260/400–460     | 3                            | humic, terrestrial, allochthonous             | $\alpha'$             |
| UVA marine humic-like         | M                       | 290–310/370–410 | 6                            | anthropogenic from wastewater and agriculture | $\beta$               |
| UVA humic-like                | C                       | 320–360/420–460 | 5                            | terrestrial, anthropogenic, agriculture       | $\alpha$              |
| pigment-like                  | P                       | 398/660         |                              |                                               |                       |
| UVA humic-like                |                         | 250 (385)/504   | 2                            | fulvic acid, terrestrial, autochthonous       |                       |

Tab 4.1. Picchi di fluorescenza dei principali fluorofori CDOM (da Coble et al. 2007)

Le sostanze uniche terrestri presentano picchi massimi di eccitazione e di emissione a lunghezze d'onda maggiori rispetto a quelli marini, a causa della presenza di un maggior numero di molecole aromatiche e del maggior peso molecolare. La tabella 4.1 riassume le proprietà di fluorescenza dei fluorofori individuate da Coble et al. 2007.

La tecnica EEMS fornisce informazioni anche sulle trasformazioni che le sostanze CDOM subiscono in seguito ai processi di *mixing*, produzione e degradazione biologica e *photobleaching*. Il rimescolamento delle masse d'acqua produce un effetto primario di diluizione ed un cambiamento dei picchi massimi caratteristici di eccitazione e di emissione quando le masse d'acqua presentano una differente composizione CDOM con concentrazioni comparabili. Le acque costiere caratterizzate da valori di salinità compresi tra i 30 ed i 36 psu mostrano generalmente uno spostamento dei picchi massimi di eccitazione e di emissione CDOM verso lunghezze d'onda più corte (*blue – shift*). Tale spostamento può essere causato anche da fenomeni di fotodegradazione. I processi biologici possono provocare l'insorgenza di nuovi picchi durante i periodi di fioritura, soprattutto picchi di tipo T, B e P. I picchi *marine - humic* M ed N sono associati anche ad elevate attività biologiche. Alcuni di questi picchi sono stati osservati anche in acque reflue e in torrenti che ricevono acque di scarico di origine agricola.

Sebbene la CDOM costituisca solo una frazione del pool di DOC, molti autori hanno osservato delle correlazioni positive tra l'assorbimento (o la fluorescenza) e la concentrazione di DOC in ambiente costiero (Laane & Koole, 1982). Risultati differenti sono stati ottenuti nelle acque oceaniche (Nelson et al., 1998) per le quali non è stata osservata alcuna correlazione tra le due misure.

#### 4.4.2 CDOM e telerilevamento

Gli obiettivi principali dell'applicazione delle tecniche di telerilevamento in ambito oceanografico consiste nella determinazione delle concentrazioni delle componenti otticamente attive dell'oceano. Storicamente questi studi si sono concentrati esclusivamente sulla determinazione accurata delle concentrazioni di clorofilla *a* (Chl *a*) considerando i costituenti "non clorofilliani" come segnali di "contaminazione". Tuttavia, più recentemente, l'obiettivo è stato quello di ricavare dai dati ottici il maggior numero di proprietà biogeochimiche (Twardowsky et al. 1999).

Negli ultimi decenni sono stati sviluppati diversi algoritmi empirici e semiempirici per determinare le concentrazioni CDOM dai dati del colore dell'oceano finalizzati allo studio della distribuzione e dinamica CDOM negli oceani.

La principale differenza tra l'approccio del telerilevamento e quello *in situ* è che i satelliti non possono discriminare tra disciolto e particellato. La ripartizione tra disciolto e particolato si ottiene attraverso la filtrazione con filtri che trattengono le particelle più grandi di 0.2- 0.8  $\mu\text{M}$ , la dimensione nominale dei filtri GF/F in fibra di vetro.

Il colore dell'oceano viene misurato a partire dal telerilevamento della riflettanza ( $R_{\text{RS}}$ ), che dipende dall'assorbimento e dalla retrodiffusione di tutti i costituenti in acqua, tra cui il fitoplancton, il detrito, i materiali disciolti e l'acqua stessa. La retrodiffusione dipende dalla dimensione delle particelle, dalle specie fitoplanctoniche, dalle caratteristiche mineralogiche e dalla concentrazione delle particelle di diverse dimensioni. Anche i colloidi sono particolarmente importanti, pur essendo ancora poco studiati.

Gli studi di oceanografia ottica richiedono ancora ulteriori approfondimenti di laboratorio e di campo al fine di fornire maggiori dettagli sulla retrodiffusione e l'assorbimento iperspettrali delle diverse componenti. La presenza di CDOM ha un grande effetto sugli spettri di riflettanza. Gli studi riportati da Del Castillo (2005) mostrano come gli spettri cambino anche per campioni di acqua che hanno gli stessi valori di *S* e suggerendo che le regioni costiere possono essere suddivise in 2 gruppi: quelli in cui l'assorbimento CDOM cambia solo a causa della diluizione e quelli in cui cambiano anche l'intensità di assorbimento e le proprietà ottiche. Le acque del primo tipo sono solitamente caratterizzate da salinità inferiori a 30 psu, le acque del secondo gruppo invece presentano salinità maggiori.

Gregg & Casey (2004) hanno recentemente confrontato alcuni dataset SeaWiFS di clorofilla *a* con dati *in situ*. Secondo gli autori, le maggiori cause di errori sono rappresentate dall'assorbimento CDOM e dall'aerosol marino. Elevate concentrazioni di CDOM sono state

rilevate in aree influenzate dai fiumi tropicali, come pure nel Mar Baltico, nel Mar Mediterraneo, Mar Nero ed in Antartide. Di contro, l'Atlantico meridionale e l'intero Oceano Pacifico sono scarsamente influenzati dalla presenza di CDOM. Oltre all'assorbimento CDOM ed alla pendenza spettrale  $S$ , anche l'assorbimento e la dispersione del materiale organico particolato colorato è un fattore di grande importanza nelle misure di riflettanza da remote sensing. A differenza degli studi di laboratorio, quelli satellitari non sono in grado di distinguere tra la componente disciolta e quella particellata della materia organica colorata, pertanto si utilizza il pool combinato chiamato materia detritica colorata o CDM. L'assorbimento da particelle colorate nelle regioni costiere produce cambiamenti della pendenza spettrale a lunghezze d'onda tra 412 e 450 nm.

La pendenza spettrale del CDM è influenzata anche dalla sua composizione chimica. Babin et al. 2003, attraverso la stima del parametro  $S$  per le particelle non algali in una varietà di acque costiere europee, hanno dimostrato che a bassi valori di  $S$  corrisponde un particolato di tipo minerale, viceversa le aree nelle quali sono stati rilevati elevati valori di  $S$  erano caratterizzate da particolato ricco di materia organica.

Elevate concentrazioni di particolato in sospensione non producono sostanziali cambiamenti alle proprietà di fluorescenza caratteristiche della CDOM. Belzile et al. hanno dimostrato che filtrando i campioni l'intensità di fluorescenza varia di una quantità  $<4\%$  e che invece l'assorbimento  $A_{370}$  ed i picchi di fluorescenza non subiscono alcun cambiamento.

#### **4.4.3 Proprietà chimiche**

La CDOM non è stata ancora caratterizzata completamente dal punto di vista chimico. La sua composizione e struttura è quella tipica degli acidi umici e fulvici presenti nei suoli e trasportati attraverso i fiumi ai laghi ed agli oceani. Il colore delle sostanze umiche va dal giallo al bruno e la CDOM costituisce un pool di questo macroinsieme.

Nelle aree costiere il pool di carbonio disciolto è costituito prevalentemente da sostanze umiche di origine terrestre. La CDOM marina presente nelle acque di largo, è caratterizzata, invece, da sostanze di differente origine e struttura. Gli acidi umici marini sono meno aromatici, hanno un rapporto C/N più basso e contengono un maggior numero di gruppi carbossilici e di zuccheri. Tali caratteristiche fanno sì che gli acidi umici marini presentino un picco di fluorescenza più spostato nel blu rispetto a quelli terrestri. Molti composti, quali le lignine, i fenoli ed altri prodotti di degradazione delle piante presentano le stesse proprietà ottiche della CDOM, pertanto contribuiscono alla formazione dei pool delle sostanze umiche sia terrestri che marine. Differenti teorie sono state proposte per spiegare la formazione delle sostanze umiche; secondo alcuni autori

esse costituiscono i metaboliti intermedi dei processi biochimici di degradazione delle piante, secondo altri, invece, gli zuccheri, gli aminoacidi ed altre molecole di basso peso molecolare polimerizzano in mare in presenza della radiazione UV. Recenti risultati suggeriscono che entrambe i processi sono alla base della produzione del pool di CDOM negli oceani.

I costituenti non-umici della CDOM marina sono rappresentati dalle cosiddette sostanze *pigment-like* e *proten-like*. La loro presenza nei campioni osservati non è costante ed è strettamente connessa ad elevata attività biologica.

#### 4.4.4 Distribuzione e dinamica globale della CDOM

Le osservazioni satellitari e l'uso di algoritmi di colore dell'oceano hanno permesso di valutare la distribuzione superficiale globale di CDOM dell'oceano. La superficie degli oceani osservata da satellite risulta caratterizzata da una generale bassa concentrazione di CDOM in corrispondenza delle gyre subtropicali ed elevati valori nelle aree subpolari e nelle regioni con upwelling persistenti. L'emisfero settentrionale è caratterizzato da valori più elevati rispetto a quelli misurati nell'emisfero meridionale (Fig. 4.7). Per quanto riguarda il Mar Mediterraneo, Lee & Hu (2006), analizzando le caratteristiche ottiche mediante dati satellitari, hanno ipotizzato una concentrazione di CDOM insolitamente alta per le tipiche acque oceaniche di caso 1. Morel e Gentili (2009) hanno confermato questa ipotesi mostrando come l'assorbimento e quindi la concentrazione di CDOM nelle acque del Mediterraneo risulti circa doppia rispetto a quella del vicino Oceano Atlantico alle stesse latitudini.

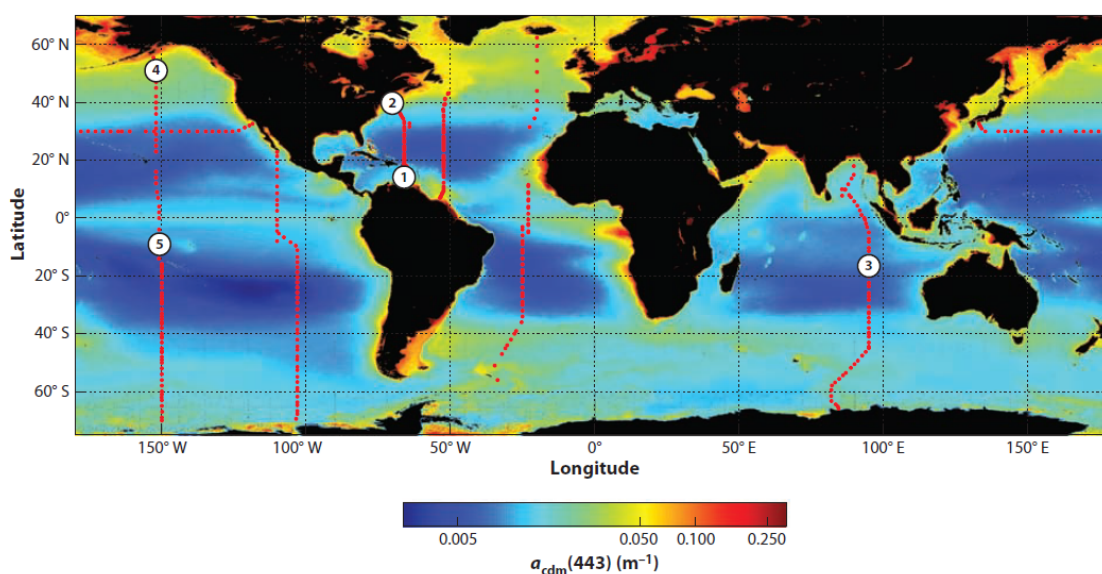


Fig. 4.7. Distribuzione superficiale globale CDOM e del detrito particolato ( $a_{CDM}$  a 443nm) (da Nelson et al. 2013)

La distribuzione della CDOM negli ambienti acquatici è controllata dal bilancio tra processi di produzione e di consumo. Le sorgenti primarie di produzione nelle aree costiere sono rappresentate dai fiumi e dalle acque sotterranee presenti lungo la costa, che trasportano le sostanze organiche provenienti dai suoli, quelle prodotte dai popolamenti planctonici delle acque fluviali nonché il contenuto organico di eventuali acque di scarico presenti. Anche gli eventi mareali e la presenza delle acque interstiziali dovuta alla risospensione di sedimenti possono influire sul contenuto di sostanze organiche presenti in un bacino. Nelle aree costiere caratterizzate dall'influenza di grossi fiumi, la distribuzione della CDOM è strettamente connessa alla transizione tra acque dolci e marine. Si osserva, infatti, una proporzionalità lineare inversa molto marcata tra concentrazione CDOM e salinità. Il tempo di residenza del pool di CDOM veicolato dai fiumi dipende da due principali fattori: l'effetto di diluizione prodotto dalle acque marine, che determina una rapida diminuzione della concentrazione di CDOM ed il tasso di degradazione biochimica della CDOM, che ha una durata variabile da qualche settimana fino ad un mese.

Negli ambienti oceanici la principale sorgente di CDOM è rappresentata dalla produzione biologica. I processi che portano ad un aumento della concentrazione di sostanze disciolte di natura organica sono il *grazing* del fitoplancton da parte dello zooplancton, la lisi virale, l'escrezione di metaboliti da parte di batteri e zooplancton ed i processi di secrezione extracellulare, così come ampiamente descritto nel paragrafo 4.2.

In molti studi è stato osservato un aumento delle concentrazioni di CDOM dopo il verificarsi di un bloom fitoplanctonico (Hu et al., 2006). Anche se la produzione diretta di componenti CDOM ad opera del fitoplancton è noto in alcune specie (Vernet & Whitehead, 1996; Moisan & Mitchell, 2001; Steinberg et al. 2004), Nelson et al. (1998) hanno dimostrato la separazione temporale e spaziale tra le concentrazioni di CDOM e quelle di clorofilla *a* nel Mar dei Sargassi, suggerendo che la degradazione microbica della materia organica è responsabile per la maggior parte della produzione di CDOM autoctona.

Un'altra importante fonte di CDOM è rappresentata dalla risospensione di sedimenti ricchi di materia organica, dal momento che grandi quantità sono presenti anche nelle acque interstiziali.

A differenza del pool di DOM totale, la componente cromoforica è fortemente soggetta ai fenomeni di fotodegradazione ad opera della radiazione solare. La fotodegradazione, dunque, costituisce il principale processo di rimozione della CDOM dalle acque naturali. La distruzione delle molecole organiche dovute all'esposizione alla radiazione solare produce composti che vengono utilizzati dagli organismi marini per la crescita.

Il *photobleaching* della CDOM determina una diminuzione del coefficiente di assorbimento con conseguente aumento della penetrazione luminosa lungo la colonna d'acqua. Oltre alla

diminuzione dell'assorbimento aumenta il parametro  $S$ , diminuisce l'intensità della fluorescenza ed aumenta la lunghezza d'onda del picco massimo di emissione di fluorescenza.

Oltre che dai processi sopra descritti, la distribuzione della CDOM nelle acque oceaniche dipende, come già approfondito nel paragrafo 4.3, strettamente dai processi fisici caratteristici della dinamica delle masse d'acqua a mesoscala.

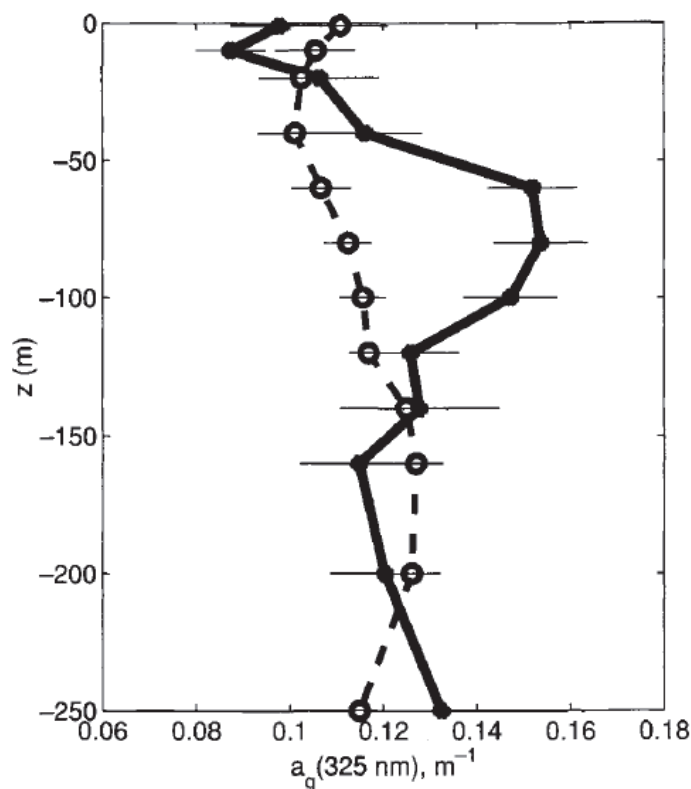


Fig 4.8. Andamento stagionale della concentrazione CDOM nel Mar dei Sargassi; il profilo estivo è indicato con la linea continua nera, quello invernale con la linea tratteggiata (Nelson et al., 1998)

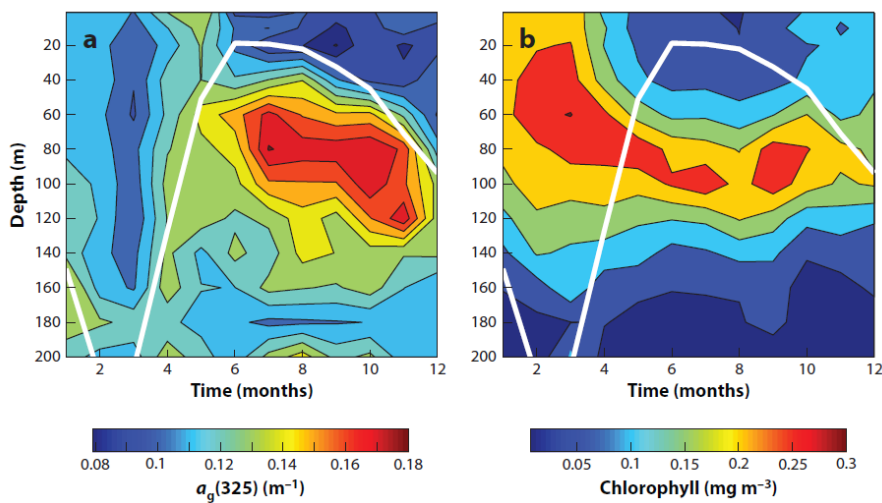


Fig 4.9. Andamento stagionale della concentrazione CDOM (a) e della clorofilla a (b) nel Mar dei Sargassi (da Nelson et al., 2013)



L'analisi della serie temporale multiannuale di misure CDOM acquisite presso il sito BATS delle Bermuda nel Mar dei Sargassi (Nelson et al., 1998) ha permesso di rilevare l'andamento stagionale del pool di CDOM fino ad una profondità di 200 m. Esso può essere schematizzato in 3 principali fasi (Fig. 4.8): 1) la formazione di un picco massimo subsuperficiale al di sotto dello strato mescolato durante i mesi estivi; 2) un sostanziale decremento di CDOM nello strato mescolato nei mesi tardo estivi ed autunnali ed 3) una omogenizzazione delle abbondanze di CDOM durante i mesi invernali. Il picco subsuperficiale estivo si colloca tra i 50 ed i 100 m, ad una profondità minore rispetto a quella del *Deep Chlorophyll Maximum*, ovvero il picco massimo di distribuzione dei popolamenti fitoplanctonici. Questo risultato può essere messo in relazione con l'attività eterotrofica batterica di remineralizzazione della materia organica negli strati superiori della zona eufotica. Durante il bloom fitoplanctonico primaverile si verifica un aumento della concentrazione CDOM in prossimità degli strati superficiali che diminuisce rapidamente con l'inizio della stratificazione (Fig. 4.9), anche in questo caso come il risultato dei processi eterotrofici ad opera della componente batterica. La graduale diminuzione dell'abbondanza di CDOM nei mesi tardo-estivi è da imputare ai fenomeni di fotodegradazione dovuti alle elevate intensità della radiazione solare.

Per quanto riguarda la distribuzione superficiale globale dell'oceano le osservazioni satellitari hanno rilevato una generale bassa concentrazione di CDOM in corrispondenza delle gyre subtropicali ed elevati valori nelle aree subpolari e nelle regioni con upwelling persistenti. L'emisfero settentrionale è caratterizzato da valori più elevati rispetto a quelli misurati nell'emisfero meridionale.

#### **4.5 Principio di funzionamento dei sensori fluorimetrici**

La fluorimetria è una tecnica ottica che consente di analizzare, sia da un punto di vista qualitativo che quantitativo, tutte quelle sostanze dotate di cromofori in grado di produrre una radiazione di fluorescenza.

La fluorescenza è quel fenomeno fisico che avviene in seguito all'assorbimento di una radiazione di eccitazione da parte di un cromoforo, la quale produce l'emissione di una radiazione di lunghezza d'onda maggiore di quella assorbita. Questo fenomeno, conosciuto come *Stokes Shift* (Fig. 4.10), avviene per effetto del decadimento dell'energia di un elettrone nel passaggio dal più basso livello vibrazionale dello stato eccitato ai più alti livelli vibrazionali dello stato fondamentale.

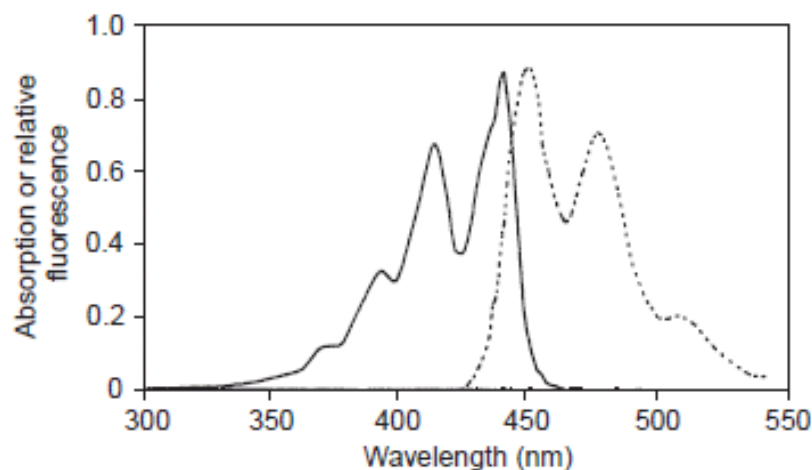


Fig. 4.10. Stokes shift

La de-eccitazione dell'elettrone avviene in  $10^{-12}$  s. Questo tempo prende il nome di tempo di decadimento della fluorescenza e viene indicato con  $\tau$ . Le molecole in grado di produrre fluorescenza prendono il nome di *cromofori* e sono chimicamente caratterizzate da un numero elevato di doppi legami.

L'intensità di fluorescenza (1) prodotta da un campione dipende da numerosi fattori. In generale l'intensità di fluorescenza può essere ottenuta come:

$$F = \Phi * C * A * PFD \quad (1)$$

dove  $\Phi$  è il rendimento di fluorescenza specifico per ciascun analita,  $C$  è la geometria ottica del sistema di misura e dipende dalla proporzione di segnale prodotto che viene intercettato dall'elemento fotosensibile e dall'efficienza di conversione del segnale luminoso in segnale elettrico,  $A$  è "l'assorbidività" e PFD è la densità del flusso fotonico eccitante ( $I_0$ ).

Assumendo come costante il fattore  $C$  e sviluppando il coefficiente  $A$ , l'intensità di fluorescenza (2,4,5) può essere calcolata come:

$$I_f = \Phi * (I_0 - I) ; \quad (2)$$

per la legge di Lambert-Beer (3)

$$I = I_0 * e^{-\epsilon bc} \quad (3)$$

da cui

$$I_f = \Phi I_0 * (1 - e^{-\epsilon bc}) \quad (4)$$

Se  $\epsilon bc$  è piccolo il termine di espansione si può trascurare per cui

$$I_f = \Phi I_0 * \epsilon bc \quad (5)$$

L'utilizzo, nelle indagini oceanografiche, di sensori in grado di rilevare la fluorescenza ha consentito lo studio dei processi biologici marini. Molti organismi e molecole organiche marine sono, infatti, fluorescenti grazie alla presenza di cromofori che assorbono la luce.

La fluorescenza è più comunemente usata in oceanografia per stimare l'abbondanza di clorofilla *a*. Nel caso della clorofilla *a*, il passaggio dallo stato eccitato allo stato fondamentale produce la dissipazione di una piccola parte dell'energia di eccitazione (3-5%) attraverso l'emissione di una radiazione a lunghezze d'onda maggiori di 650 nm. La maggior parte dei fluorimetri presenta una sorgente di eccitazione blu a banda stretta la cui lunghezza d'onda corrisponde a quella alla quale alghe e piante mostrano tassi massimi di assorbimento della luce (Figura 4.9). Il successivo rilevamento del segnale di fluorescenza è centrato nel range 680-700nm, che coincide con il picco di emissione di fluorescenza della clorofilla *a*.

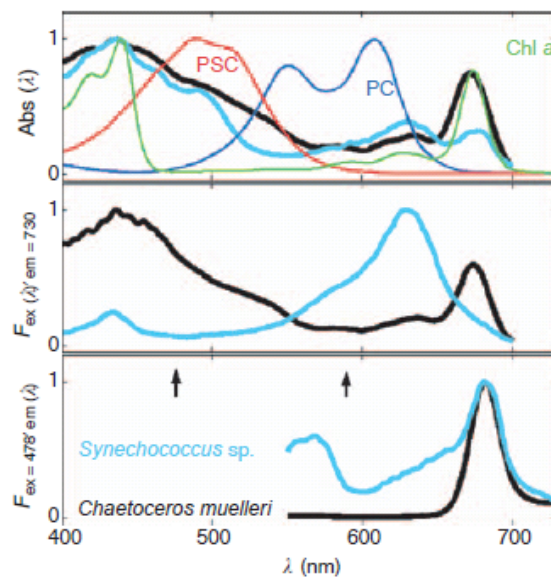


Fig. 4.11. Spettri di assorbimento e fluorescenza caratteristici di una diatomea (*Chaetoceros muelleri*) ed un cianobatterio (*Synechococcus spp.*) (da Thorpe, 2009)

La misura diretta della concentrazione di un determinato analita fluorescente in acqua di mare viene fatta con campioni prelevati in campo e trasportati ad un laboratorio, a bordo di una nave di ricerca o sulla terraferma oppure attraverso l'utilizzo di profilatori *in situ*. La procedura di misurazione prevede tre fasi: l'eccitazione dell'analita, il rilevamento e l'identificazione del segnale di fluorescenza prodotto e la determinazione della concentrazione dell'analita fluorescente .

Tutti gli strumenti in grado di effettuare misure di fluorescenza sono dotati dei seguenti elementi ottici:

- una sorgente di eccitazione che emette nella banda di assorbimento dell'analita da misurare (LED, Laser, lampade);
- una cella di misura che contiene il campione d'acqua da analizzare;
- un modulo di ricezione che presenta un elemento sensibile (PMT o fotodiodi) al segnale di fluorescenza prodotto.

Il funzionamento, le prestazioni ed il costo di un fluorimetro dipendono dalle caratteristiche delle diverse tipologie di dispositivi ottici che esso monta. Di seguito si riportano le caratteristiche principali delle ultime tecnologie utilizzate nel campo della fluorimetria.

### LED

Negli ultimi decenni la diffusione dei LED ha rivoluzionato le tecnologie di emissione della radiazione, proponendo un prodotto di basso costo in grado di fornire sorgenti luminose alle lunghezze d'onda desiderate. Un LED è un dispositivo elettronico a due terminali (diodo) che consente il passaggio di corrente elettrica in una sola direzione, con l'entità della corrente che dipende dalla differenza di potenziale ai capi del dispositivo.

Dal punto di vista fisico, un LED è un chip di materiale semiconduttore impregnato o drogato con impurità per formare una giunzione positivo-negativo (P-N): il polo positivo di tale giunzione è chiamato anodo, quello negativo catodo. La caratteristica principale di questi dispositivi è quella di lasciarsi attraversare dalla corrente in un solo verso, come un normale diodo, al quale si aggiunge la capacità di emettere luce. Il colore della luce dipende dal materiale utilizzato; i due sistemi di materiale AlInGaP e InGaN sono utilizzati per creare LED con elevata luminosità in tutti i colori. Il semiconduttore è montato in un package nel quale è realizzato il collegamento elettrico.

La massima luminosità si ottiene con l'alimentazione in corrente continua. La necessaria tensione diretta dipende dal colore della luce del LED e va da 2 a 4 V con una corrente diretta che può arrivare fino a 70 mA. L'emissione luminosa si riduce con l'aumentare della temperatura. La dipendenza dalla temperatura è più significativa nei LED a luce gialla che in quelli a luce verde.

Questa riduzione di potenza luminosa è reversibile e non ha influenza sul decadimento del flusso nel corso della vita. La massima temperatura di funzionamento per i LED è normalmente di 100°C e non deve essere superata. Come avviene nelle sorgenti luminose convenzionali, nei LED si verifica nel tempo un graduale decadimento del flusso luminoso. Quando un LED emette il 50% del flusso luminoso iniziale si dice che, per definizione, ha raggiunto la fine della sua vita utile. Nelle

normali condizioni operative un LED può durare fino a 100.000 ore a seconda del colore.

### Filtri ottici

I moduli di eccitazione e rilevamento del segnale di fluorescenza sono equipaggiati con particolari filtri ottici che selezionano le lunghezze d'onda specifiche delle coppie di eccitazione/emissione dell'analita che si intende misurare.

Di ultima generazione rispetto ai filtri in vetro sono i filtri ad interferenza, caratterizzati dalla sovrapposizione di filtri ottici con due sottili film di materiale riflettente separati da uno spazio vuoto uniforme. La lunghezza d'onda centrale e l'ampiezza di banda del filtro possono essere controllate variando lo spessore dello spazio vuoto e/o il numero delle superfici riflettenti. Per assicurare il blocco delle lunghezze d'onda indesiderate viene aggiunta una componente addizionale adatta allo scopo. La trasmissione spettrale e l'ampiezza di banda di un filtro sono influenzati dalla temperatura. La lunghezza d'onda centrale e la trasmissione massima del filtro ad interferenza può subire una deriva con il tempo, specialmente se soggetto a condizioni di umidità e temperature variabili. Le condizioni operanti ottimali dei filtri ad interferenza sono da -40°C a 70 °C, e un massimo di variazione di temperatura di 5°C/minuto.

### Rivelatori

I rivelatori trasformano l'energia radiante in segnale elettrico. Ne esistono di vari tipi:

- *Celle fotovoltaiche e celle fotoconduttive:* differiscono per il modo in cui il semiconduttore è inserito nel circuito elettrico. Lavorano in un intervallo di 400-750 nm; avendo bassa sensibilità, essa è compensata dalla energia relativamente grande trasmessa dalla ampia banda passante. Altri inconvenienti sono la lentezza di risposta e la tendenza all'attenuazione del segnale.
- *Fototubi:* sono realizzati inserendo due elettrodi opportuni all'interno di una ampolla mantenuta sotto vuoto. Essi coprono tutto l'intervallo del UV/VIS. Funzionano in base al principio dell'effetto fotoelettrico, cioè l'emissione di elettroni dalla superficie di alcuni materiali cui sia applicata una d.d.p.
- *Fotomoltiplicatori:* Un tubo fotomoltiplicatore (PMT) contiene un materiale che crea una corrente proporzionale all'intensità di luce. Tipicamente sono presenti catene di 6-12 dinodi che amplificano la corrente. Un elevato voltaggio viene fornito al PMT, che determina l'intensità del segnale e influisce sul rumore. La maggior parte dei PMT usati in fluorimetria sono sensibili alla luce nel range 300-600 nm; sono disponibili PMT speciali sensibili al rosso che hanno una sensibilità oltre i 600 nm (necessaria per applicazioni come la misura

della clorofilla) (Guilbault, 1990).

- *Fotodiodi*: sono costituiti da microscopici diodi di silicio o germanio su cui i fotoni provocano la comparsa di un eccesso di elettroni che fanno variare la d.d.p. del sistema. Un fotodiodo è più adatto ad applicazioni con una bassa o moderata intensità luminosa nel range dell'infrarosso vicino e dell'ultravioletto. Dato che è piccolo e robusto (irto), con un basso consumo di energia, è utile per strumentazione compatta o da campo.

L'impiego analitico della tecnica fluorimetrica presenta numerosi vantaggi. I fluorimetri raggiungono limiti di rilevamento del segnale di fluorescenza da 1000 a 500000 volte superiore rispetto agli spettrofotometri. Le tecniche spettrofotometriche sottostanno a molti problemi di tipo interferenziale, perché molti materiali assorbono luce, rendendo difficile isolare l'analita che si trova in una matrice complessa. I fluorimetri, invece, sono altamente specifici e meno soggetti ad interferenze perché ben pochi materiali assorbono luce e la riemettono come fluorescenza.

Con lo scopo di individuare le lunghezze d'onda specifiche per la produzione ed il rilevamento del segnale di fluorescenza CDOM emesso, è stata costruita una matrice delle coppie di lunghezze d'onda di eccitazione ed emissione dei sistemi di misura riportati in letteratura (tab.4.2) e dei fluorimetri CDOM disponibili in commercio (tab. 4.3). Tali informazioni hanno supportato la selezione della componentistica elettro-ottica (LED, filtri ottici, lenti e fotosensori), effettuata dando priorità a quegli elementi caratterizzati da materiali a basso costo.

| Auhors                                | Year | Review                         | Reference       | ex nm   | em peak nm | Fluorimeter                 |
|---------------------------------------|------|--------------------------------|-----------------|---------|------------|-----------------------------|
| G.M. Ferrari & Tassan                 | 1991 | Limnol.Oceanogr.               | 36(4) 777-786   | 375     | 420        | Perkin Elmer MPF-66         |
| A. Vodacek                            | 1992 | Limnol.Oceanogr.               | 37(8) 1808-1813 | 337     | 450-470    | Perkin Elmer MPF-66         |
| F.E. Hoge, A. Vodacek and N.V. Blough | 1993 | Limnol.Oceanogr.               | 38(7) 1394-1402 | 337-355 | 450        | SLM- Aminco SPF             |
| S.A. Green, N.V. Blough               | 1994 | Limnol.Oceanogr.               | 39(8) 1903-1916 | 355     | 400-500    | SLM- Aminco SPF             |
| P.G.Coble                             | 1996 | Marine Chemistry               | 32(51) 5-346    | 342     | 442        | SLM- Aminco SPF             |
| B.Nieke et al.                        | 1997 | Cont. Shelf Research           | 17(3) 235-252   | 365     | 460        | Perkin Elmer LS50           |
| G.M. Ferrari & M.D.Dow ell            | 1998 | Est. Coastal and Shelf Science | 47, 91-105      | 355     | 430-450    | Perkin Elmer LS50           |
| E.J. Rochelle-New all, T.R. Fisher    | 2001 | Marine Chemistry               | 77, 7-21        | 355     | 450        | Aminco SPF500C              |
| G.M. Ferrari                          | 2000 | Marine Chemistry               | 70, 339-357     | 355     | 430-450    | Perkin Elmer LS50           |
| W. Breves, R. Reuter                  | 2000 | Proc. Indian Acad. Sci.        | 109(4), 415-425 | 341     | 420        | Perkin Elmer LS50           |
| Chen et al.                           | 2002 | Deep Sea Research II           | 49 4439-4459    | 337     | 350-600    | QM-1 spectrofluorometer     |
| Callahan et al.                       | 2004 | Marine Chemistry               | 89, 211-224     | 330     | 450        | SeaTech                     |
| L.Fiorani et al.                      | 2006 | EARSel e Proceedings           | 5,1             | 355     | 450        | LIDAR fluorosensor          |
| Y. Zhang et al.                       | 2007 | Hydrobiologia                  | 581, 43-52      | 355     | 450        | Shimadzu 5301               |
| J.Foden et al.                        | 2008 | Est. Coastal and Shelf Science | 79, 707-717     | 310-390 | 410-600    | Turner Fluorometer Model 10 |

Tab.4.2. Pubblicazioni scientifiche di rilievo sulle misure di fluorescenza CDOM fino al 2008

La tabella 4.2 mostra i principali lavori effettuati negli ultimi 20 anni sulla misura di fluorescenza CDOM. Si tratta per lo più di analisi spettrofluorimetriche degli spettri di emissione di fluorescenza nel range compreso mediamente tra i 350 ed i 600 nm. Per quanto riguarda la lunghezza d'onda di eccitazione le più utilizzate sono la banda dei 337 nm, quella dei 355 nm ed

infine i 375 nm. Le prime due lunghezze d'onda sono state utilizzate in quanto corrispondenti ai picchi di emissione dei laser usati nelle tecniche di Remote Sensing.

| Company       | model          | ex (nm)           | em (nm) | sensitivity        | Range                 |
|---------------|----------------|-------------------|---------|--------------------|-----------------------|
| WETLabs       | WETStar        | 370               | 460     | 0.1 ppb QS         | 0 -1000 ppb           |
| Turner Design | C6 cyclops     | 310-390 (LED)     | 410-600 | 0.4 ppb QS         | 0-2500 ppb QS         |
| Chelsea       | UV AQUA tracka | 239 (Xenon light) | 360/440 | 0.001 ppm perylene | 0.001-10 ppm perylene |
| TriOS         | MICROFLU CDOM  | 370 LED           | 460     | 0.04 ppm           | 0-20 o 0-200 ppm      |
| Seapoint      | SUVF           | 370 (LED)         | 440     | 0.1ppm             | 0-1500 ppm            |

Tab.4.3. Fluorimetri CDOM disponibili in commercio

La tabella 4.3 presenta un elenco dei sensori messi in commercio negli ultimi due anni dalle principali case produttrici. Da notare come molte tecnologie utilizzino i LED come sorgente di eccitazione. Le lunghezze d'onda di eccitazione ed emissione più utilizzate sono date dalla coppia 370 ex/460 em nm.

## 5. MATERIALI E METODI

### 5.1 La tecnologia T-FLAP

La tecnologia T-FLAP fornisce un sistema di misura *low cost* ed *user friendly* per l'analisi *in situ* delle variabili chimiche, fisiche e bio-ottiche delle masse d'acqua tramite la misura dei parametri temperatura, conducibilità (salinità e densità), pressione, fluorescenza della clorofilla *a*, fluorescenza CDOM (*Cromophoric Dissolved Organic Matter*) e torbidità.

Il T-FLAP, *Temperature Fluorescence Launchable Probe* (Marcelli et al, 2007), nasce come una nuova tipologia di sonde a perdere, in grado di fornire profili verticali di temperatura e fluorescenza della clorofilla *a* fino ad una profondità di 500 metri da imbarcazioni in movimento.

Esso costituisce un'evoluzione della sonda a perdere XBT già esistente (Expendable BathyThermograph – Sippican), la quale si limita all'acquisizione in real time della sola temperatura lungo la colonna d'acqua. Inoltre, a differenza degli XBT presenti in mercato, il sistema elettronico del T-FLAP può essere modulato ed adattato a diversi canali di misura, anche esterni.

Il semplice utilizzo ed il basso costo sono stati i principi dello sviluppo del T-FLAP, portato avanti al fine di realizzare uno strumento oceanografico *ad hoc* per l'impiego in programmi di ricerca internazionali di oceanografia operativa quali il VOS (Voluntary Observing System) o il SOOP (Ship of Opportunity Program), il cui principale obiettivo è quello di incrementare la quantità di dati disponibili in tempo reale necessari ai modelli matematici di previsione.

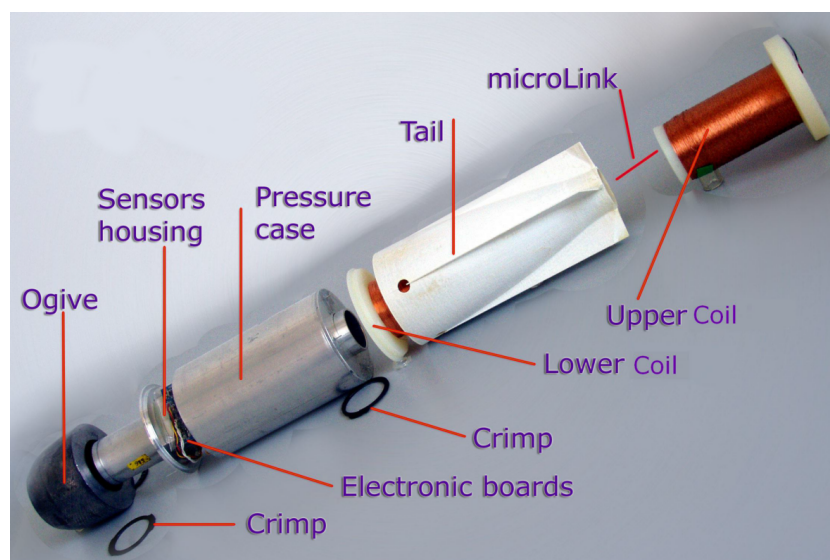


Fig.5.1 Sonda a perdere T-FLAP

La sonda è costituita da un corpo cilindrico di alluminio anticorodal cavo (Fig.5.1),



all'interno del quale l'acqua fluisce durante la discesa lungo la colonna d'acqua. La cella di misura si trova all'interno del tubo e contiene i sensori che entrano a diretto contatto con l'acqua durante il suo passaggio. Nella parte esterna del tubo si trovano l'elettronica e le batterie. Il corpo centrale è inserito in un tubo più grande di alluminio anticorrosione, chiuso da due flange, il quale costituisce la custodia di elettronica e batterie. A differenza degli XBT, la trasmissione dei dati è digitale ed è garantita da un microfilo di rame avvolto doppia su due bobine: una nella coda della sonda, l'altra è a bordo della nave in movimento e permette la connessione con il pc fino alla interruzione del segnale che può essere dovuta alla rottura del filo di trasmissione dati o all'implosione dello strumento. La frequenza di trasmissione è di circa 5.6Hz e la velocità di caduta di circa 4.5 m/s.

I primi prototipi (trenta), progettati, sviluppati e realizzati nel Framework del progetto MFS-TEP *Mediterranean Forecasting System Toward Environmental Prediction* (Manzella et al., 2003; Pinardi et al., 2003), sono stati ulteriormente perfezionati e migliorati durante i progetti ADRICOSM-STAR 2008 (*ADRIatic sea integrated COastal AreaS and river basin Management system pilot project*) e PNRA 2010 (Programma Nazionale di Ricerche in Antartide - “*Sviluppo di nuove tecnologie per la misura e la stima della produzione pelagica in ambienti polari*”)

L'avanzamento ed il perfezionamento della tecnologia T-FLAP può essere riassunta nei seguenti punti:

- riduzione dei fenomeni di riflessione della luce all'interno della cella di misura mediante trattamento anodico di ossidazione con deposito nero opaco delle superfici di alluminio delle componenti meccaniche;
- aumento della sensibilità del sensore di fluorescenza della clorofilla *a* da 0.1 a 0.01 mg/m<sup>3</sup> tramite l'inserimento di componenti ottiche di nuova generazione a basso costo e più elevata prestazione (LED, lenti, filtri ottici, fotodiodi);
- integrazione di un trasduttore di pressione miniaturizzato da 500 dBar, di un accelerometro triassiale e di un giroscopio (opzionali) per la verifica del comportamento dinamico del dispositivo a seguito del rilascio;
- sviluppo di un sensore per la misura della conducibilità;
- sviluppo di un sensore fluorimetrico per la misura della fluorescenza CDOM;
- sviluppo di un sensore per la stima della torbidità;
- realizzazione di una serie di nuove applicazioni utilizzabili ed adattabili a diverse necessità scientifiche ed operative (expendable, vertical profiler, long term application, modular).

### 5.1.2 Caratteristiche dei sensori T-FLAP

Di seguito vengono riportate le principali caratteristiche tecniche dei sensori sviluppati nel tempo:

#### 5.1.2.1 Il sensore di temperatura

E' un microsensore, composto da un bulbo sensibile di 1 mm di diametro, sormontato su uno stelo in quarzo della lunghezza di 10 mm. La parte sensibile è composta da un termistore inserito nel bulbo di vetro. Date le sue dimensioni minime, questo sensore ha la sensibilità di rilevare variazioni di temperatura dell'ordine di  $0.01^{\circ}\text{C}$  ed un tempo di risposta dell'ordine di 0.05ms.

L'elevata qualità dei dati di temperatura acquisiti nel corso delle campagne oceanografiche condotte in questi anni ha confermato la tecnologia adottata fin dall'inizio, pertanto i sensori non hanno subito alcuna modifica strutturale od elettronica.



Fig.5.2 Sensore di temperatura T-FLAP

I sensori di temperatura (Fig. 5.2) vengono calibrati in laboratorio utilizzando una camera di calibrazione appositamente realizzata e dotata di sensori di riferimento ad elevata risoluzione (microtermosalinografo SBE45) . Al fine di valutare la risposta del segnale nei range di variazione caratteristici degli ambienti marini, la procedura sperimentale adottata prevede la calibrazione dei sensori di temperatura in 6 punti fissi dai 5 ai  $28^{\circ}\text{C}$  (5-10-15-20-25- $28^{\circ}\text{C}$ ), ottenuti saturando il circuito di acqua distillata e facendone variare la temperatura attraverso il termocriostato Haake DC10/K10. Ciascun punto di calibrazione è stato effettuato con una stabilità di  $0.01^{\circ}\text{C}$ . La figura 5.3 mostra la curva di regressione di uno dei prototipi di nuova generazione, ottenuta dal confronto

tra i dati digitali dei sensori e quelli acquisiti contemporaneamente con il microtermosalinografo SBE 45.

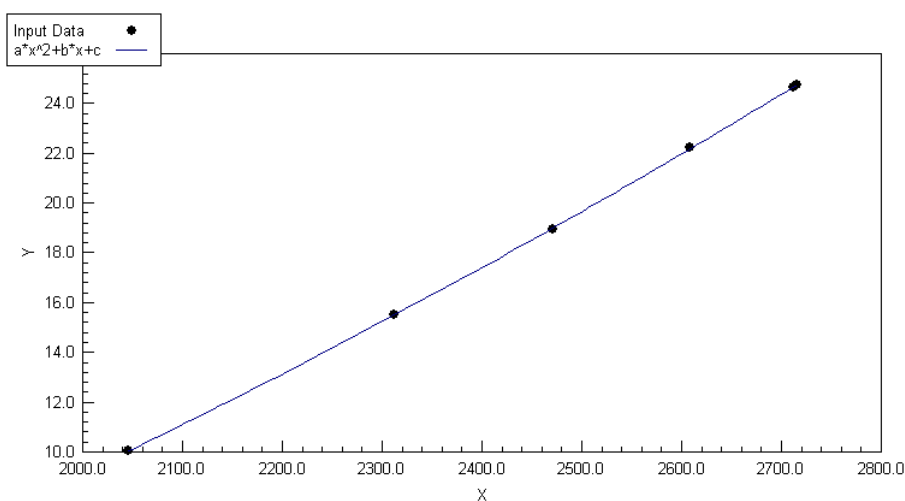


Fig.5.3. Curva di regressione tra i dati dei sensori di temperatura T-FLAP e quelli del microtermosalinografo SBE45

Di seguito vengono riportati i grafici di confronto tra i profili acquisiti con la sonda T-FLAP e le sonde di riferimento durante la campagna oceanografica ADR0208 effettuata nel periodo 7-29 ottobre 2008. I profili verticali di temperatura mostrano come il T-FLAP può risolvere con un buon dettaglio le strutture presenti lungo la colonna d'acqua, rilevate dalla sonda CTD SBE 911 (Fig.5.4). Le performances del sensore sono ovviamente inferiori a quelle della sonda SBE 911: il sensore di temperatura del T-FLAP ha un'accuratezza di  $0.01^{\circ}\text{C}$  con una risposta dinamica di  $1.5\text{ms}/^{\circ}\text{C}$ . Le differenze principali nei profili effettuati dalle due sonde sono maggiormente visibili nelle zone di rapida variazione della temperatura. Infatti, se l'accuratezza ed il tempo di risposta del sensore sembrano sufficienti per un uso “expendable”, la relazione tra velocità di caduta e trasmissione dei dati rimane l'aspetto più importante sul quale è necessario continuare a lavorare, per aumentare il numero di acquisizioni nello spazio.

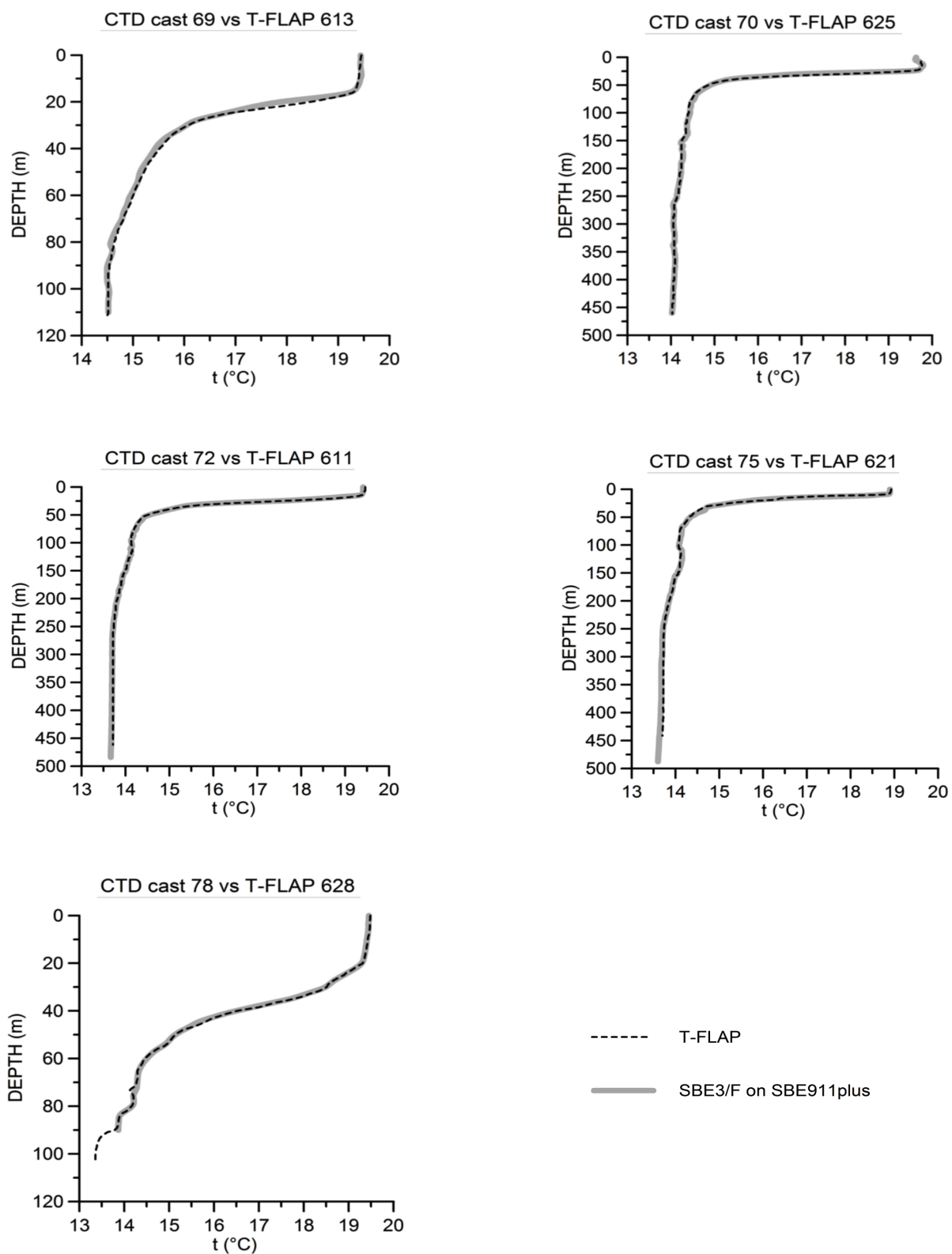


Fig. 5.4. Confronto tra i profili acquisiti con la sonda T-FLAP (expendable) e le sonde di riferimento (SBE 911)

### 5.1.2.2 Il sensore di fluorescenza della clorofilla *a*

La cella fluorimetrica (Fig. 5.5) per la misura della fluorescenza *in vivo* della clorofilla *a* è

composta da un modulo di emissione ed un modulo di ricezione posti ortogonalmente tra loro. Il modulo di emissione, dotato di una sorgente a LED e di un filtro ottico blu selettivo per le lunghezze d'onda inferiori a 480 nm, ha la funzione di produrre una radiazione blu di lunghezza d'onda compresa tra i 430 ed i 470 nm in grado di eccitare i pigmenti di clorofilla delle cellule fitoplanctoniche presenti nel volume d'acqua campionato. Il ricevitore, invece, rileva ortogonalmente il segnale di fluorescenza prodotto dalle cellule eccitate al centro della cella, selezionando, grazie alla presenza di un filtro ottico interferenziale, il passaggio delle lunghezze d'onda specifiche della radiazione rossa di fluorescenza, avente un picco di emissione compreso tra 682 e 685 nm.

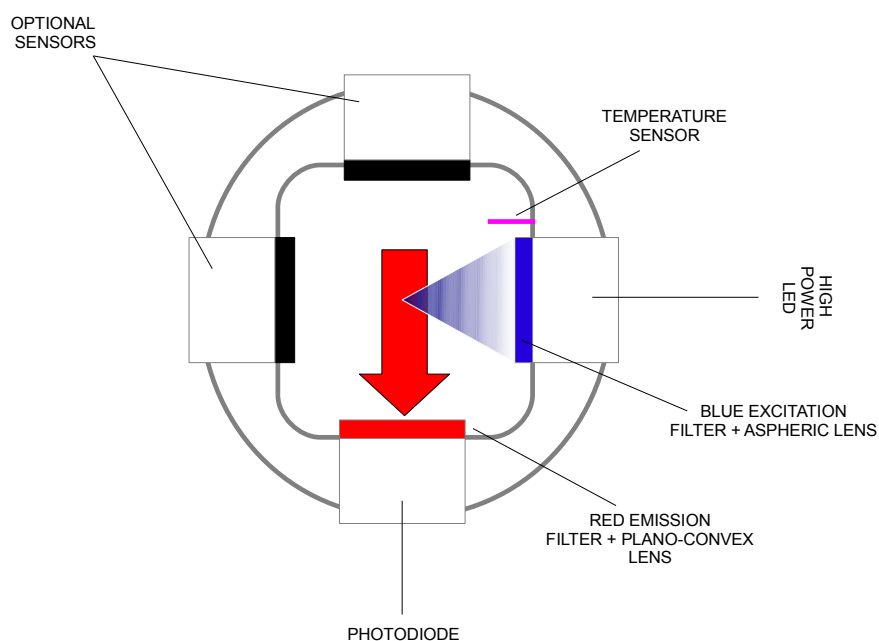


Fig.5.5 Cella fluorimetrica T-FLAP

### Perfezionamento del sensore di fluorescenza della clorofilla *a*

Il sensore di fluorescenza della clorofilla *a* è stato notevolmente migliorato nel corso delle sperimentazioni successive alla realizzazione dei primi prototipi.

I primi prototipi, infatti, erano stati progettati con l'obiettivo di rilevare il massimo di clorofilla *a* (*Deep Chlorophyll Maximum*) con sufficiente accuratezza. L'*up-grade* del sensore di fluorescenza del T-FLAP ha riguardato l'aumento della sensibilità dello strumento da 0.1 a 0.01 mg/m<sup>3</sup>. Tale incremento è stato raggiunto attraverso:

- l'aumento dell'intensità della sorgente di eccitazione;
- l'aumento dell'efficienza di trasmissione e rilevamento dei dispositivi ottici ed elettronici;

- la messa a punto di un sistema di lenti ottiche in grado di aumentare la focalizzazione e la collimazione dei segnali di eccitazione e di emissione di fluorescenza rispettivamente al centro della cella e sulla superficie dell'elemento fotosensibile.

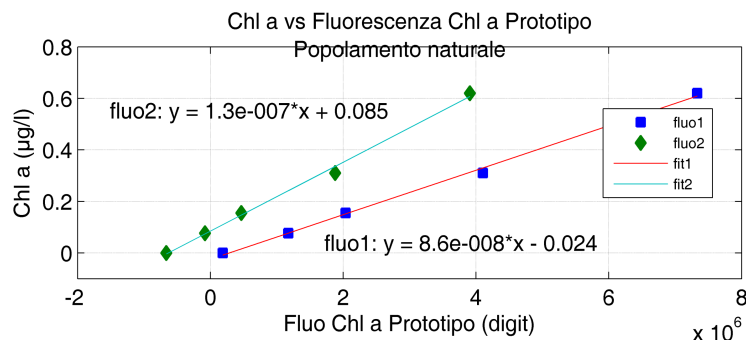


Fig.5.6. Rette di calibrazione dei sensori di fluorescenza T-FLAP ad elevata sensibilità

### 5.1.3 Nuovi sensori sviluppati

#### 5.1.3.1 Il sensore di conducibilità

Il sensore di conducibilità (Fig. 5.6) è costituito da una struttura cilindrica contenente 4 anelli di platino posti sulla linea di flusso, facente parte integrante della modularità del sistema di misura. Gli anelli esterni generano una corrente elettrica al variare della conducibilità, che attraversa il liquido, mentre gli anelli interni misurano la differenza di potenziale (d.d.p.) che si determina dalla corrente indotta.

Attraverso un circuito elettronico di controllo, la d.d.p. viene mantenuta costante nel tempo, indipendentemente dalle caratteristiche di conducibilità dell'acqua. La corrente generata dagli anelli esterni è controllata e misurata dal circuito elettrico di reazione in modo tale da aumentare e diminuire proporzionalmente, in funzione delle variazioni del valore di conducibilità.

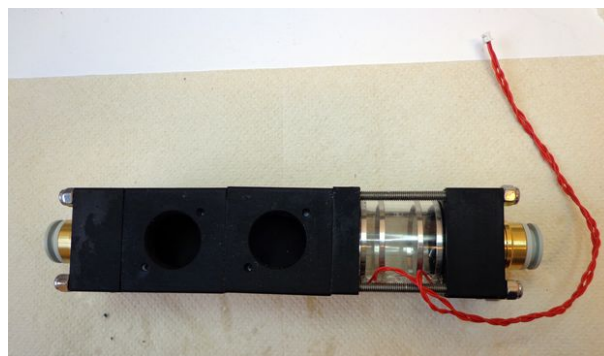


Fig. 5.6. Sensore di conducibilità T-FLAP

### 5.1.3.2 Il sensore di torbidità

Il sensore di torbidità, in attuale fase di sperimentazione, è strettamente connesso alla misura fluorimetrica (Chl a o CDOM). Esso è in grado di fornire una stima del particolato sospeso presente nel volume d'acqua campionato. Il sistema di misura, posto di fronte alla sorgente di eccitazione di una delle celle fluorimetriche, rileva la variazione dell'intensità della radiazione d'eccitazione dovuta ai fenomeni di riflessione e diffusione provocati da eventuali particelle presenti in acqua. Il sensore (Fig. 5.7.), alloggiato all'interno di un probe specifico, è costituito da un vetro ottico protettivo esterno, un otturatore ed un elemento fotosensibile.



Fig. 5.7. Elementi del sensore di torbidità T-FLAP

## 5.2 Sviluppo del sensore di fluorescenza CDOM

### 5.2.1 Analisi spettrali della componentistica ottica

#### 5.2.1.1 LED

Con lo scopo di valutare le caratteristiche spettrali dei LED selezionati per la sorgente di eccitazione del sensore di fluorescenza CDOM sono state effettuate misure di irradianza spettrale attraverso l'utilizzo di uno spettrometro Ocean Optics QE65000. Le misure sono state effettuate utilizzando una camera ottica cilindrica di 10 cm collegata allo spettrometro tramite fibra ottica

sormontata da collettore coseno con area di  $1 \text{ cm}^2$ , secondo la metodologia standard CIE 127:2007.

Di ciascun dispositivo è stato calcolato l'integrale dell'irradianza spettrale misurata.

Per studiare le curve volt-amperometriche caratteristiche dei LED testati sono state, inoltre, effettuate misure di voltaggio a corrente costante di 0, 10 e 100 mA (400 e 800 mA per gli High Power LED), utilizzando un calibratore elettrico Yokogawa 2422.

#### **5.2.2.2 Filtri, lenti e vetri ottici**

I dispositivi selezionati sono stati testati attraverso misure di trasmissione spettrale effettuate utilizzando uno spettrometro Ocean Optics QE65000. Lo spettrometro è stato collegato mediante fibra ottica Ocean Optics 400um ad una cella di 10 cm provvista di apposito alloggiamento per i filtri. Gli spettri di trasmissione dei filtri ottici sono stati ottenuti utilizzando come riferimento una luce a tungsteno posta a  $180^\circ$  rispetto alla fibra ottica di misura.

### **5.3 Integrazione del sensore di fluorescenza CDOM nel sistema di misura T-FLAP**

#### **5.3.1 Realizzazione del prototipo *Spectra***

Il prototipo realizzato è uno strumento in linea d'acqua che, grazie ad un circuito idraulico dotato di una pompa a flusso regolabile, è in grado di campionare in modo continuo ed indisturbato un flusso di acqua superficiale durante la navigazione in mare. Il suo funzionamento necessita di un'alimentazione a 12/24Volts. Il sistema fornisce la misura georeferenziata *in continuo* delle seguenti variabili:

- temperatura;
- conducibilità;
- fluorescenza chl a;
- fluorescenza CDOM;
- torbidità;

##### **5.3.1.1 Architettura del sistema**

Il sistema di misura è composto da due moduli principali:

- l'unità elettronica (UE) di acquisizione dedicata alle misure (Fig.5.8. a);
- l'unità idraulica di misura (UIM) (Fig.5.8. b) .



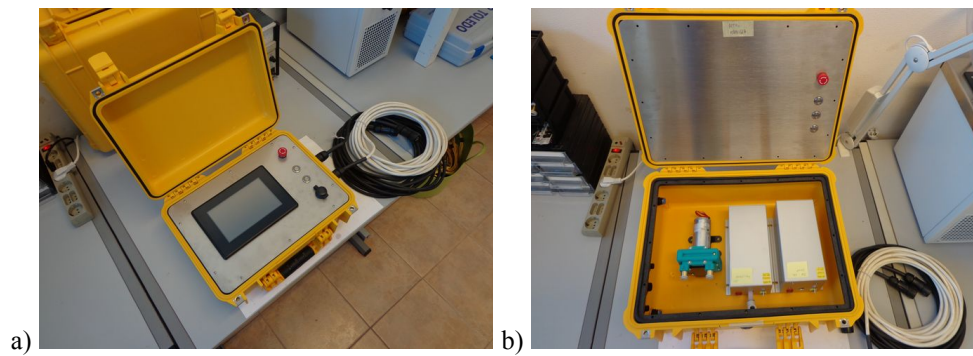


Fig 5.8. Il sistema di misura *Spectra* a) unità elettronica; b) unità idraulica.

### 5.3.1.2 Unità elettronica (UE)

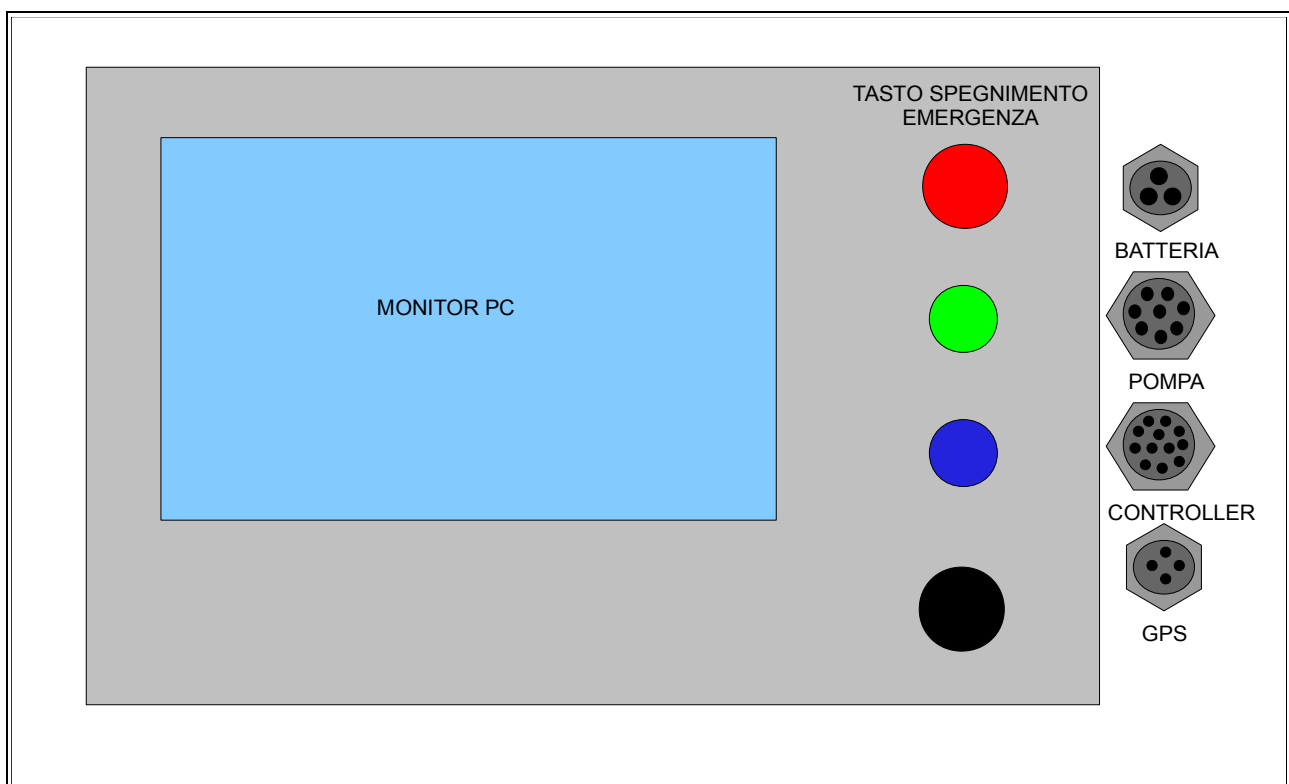


Fig 5.9. Schema descrittivo dell'unità elettronica *Spectra*

Essa e' costituita dalle seguenti componenti (Fig. 5.9):

- computer con display touch-screen impermeabile per la programmazione dell'acquisizione e la visualizzazione dei dati in tempo reale;
- GPS;
- unità di controllo (UC);
- ingresso cavi di collegamento.

La UC e' posizionata sotto il pannello grigio di interfaccia. Consta di: 1) una scheda per il controllo e la gestione dell'accensione/spegnimento del sistema di misura; 2) un convertitore da 12V a 24 Volt per la pompa; 3) una scheda di controllo della velocità della pompa.

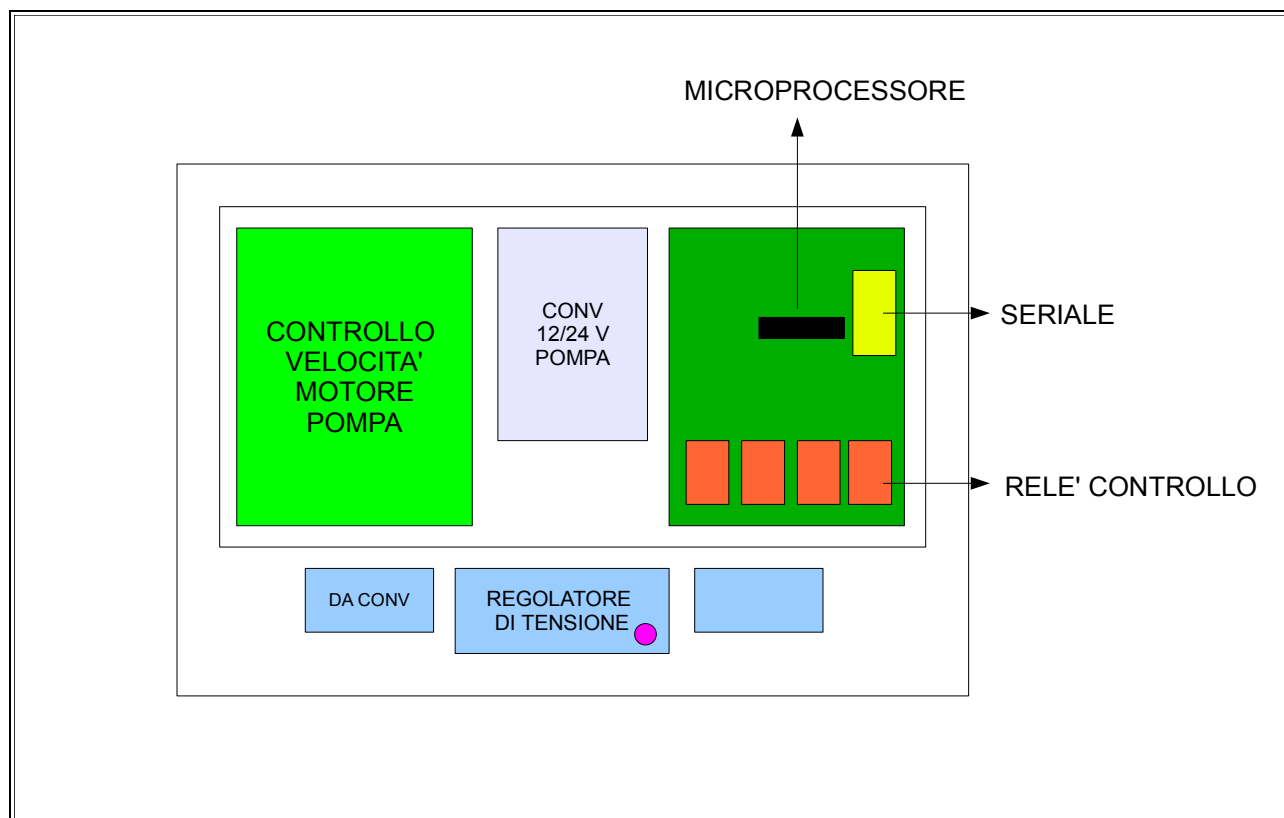


Fig. 5.10. Schema descrittivo dell'unità di controllo *Spectra*

L'unità elettronica è dotata di un software di gestione è collegato tramite 3 interfacce seriali ai dispositivi di misura, di controllo e di comunicazione.

Ciascun dato acquisito (misure e navigazione) viene abbinato con i dati di esercizio:

- capacità della memoria;
- valore di portata idraulica;
- valore di pressione del circuito idraulico;
- valore della tensione di batteria;
- valore della corrente totale assorbita;
- valore di corrente della pompa principale;
- valore di corrente della pompa secondaria;
- stato funzionale degli organi di controllo.

La modularità complessiva del sistema meccanico, elettronico e di gestione dei dati, permette allo strumento di integrare diverse tipologie e numero di sensori. L'unità di governo dispone di alcuni canali digitali seriali asincroni per il collegamento con i dispositivi interni: modulo di misura, modulo di controllo e sistema di comunicazione GPS/GPRS.

Attraverso un ulteriore modulo esterno si possono aumentare il numero dei canali seriali fino a due da dedicare al collegamento con la sensoristica e le centraline di misura esterne.

### 5.3.1.3 Cella di misura

Il sistema di misura è caratterizzato da una *flow-trough cell* (Fig. 5.11; Fig.5.12), all'interno della quale sono alloggiati i sensori preposti alla misura delle variabili di interesse, i quali entrano direttamente in contatto con il flusso di acqua. La cella di misura ha una struttura modulare. I moduli (Fig 5.13, Fig. 5.14) sono costituiti da cubi di alluminio anodizzato di 40 x 40 x 40 mm di lato, posti in sequenza e forati per consentire il passaggio dell'acqua. Quando la pompa si attiva, l'acqua fluisce in modo continuo da un modulo all'altro, entrando a diretto contatto con i sensori presenti al loro interno. Ogni cubo può alloggiare fino a 3 *probes* (Fig. 5.15), supporti intercambiabili in grado di contenere tutte le configurazioni di misura.

Ciascun dispositivo *probe* è alloggiato in un cilindro di alluminio, anch'esso anodizzato, progettato per poter contenere una notevole varietà di componenti ottiche e fisiche.

Ciascun *probe* può alloggiare le seguenti configurazioni:

- dispositivo di eccitazione del fluorimetro Chl a;
- dispositivo di ricezione del fluorimetro Chl a;
- dispositivo di eccitazione del fluorimetro CDOM;
- dispositivo di ricezione del fluorimetro CDOM;
- sensore di temperatura;
- sensore di torbidità;

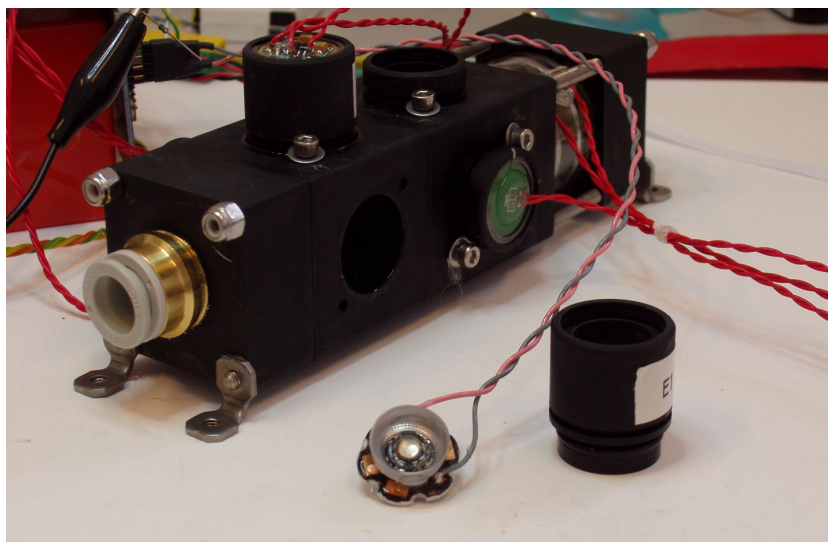


Fig. 5.11. Cella di misura 1

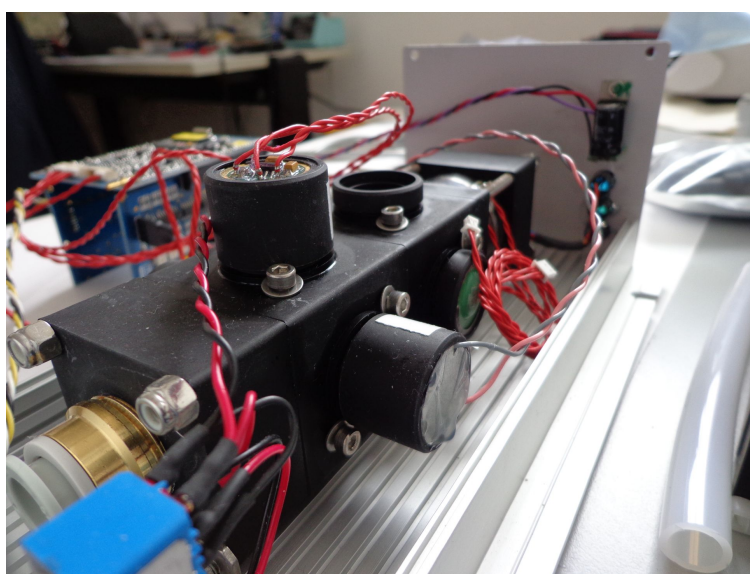


Fig. 5.12. Cella di misura 2

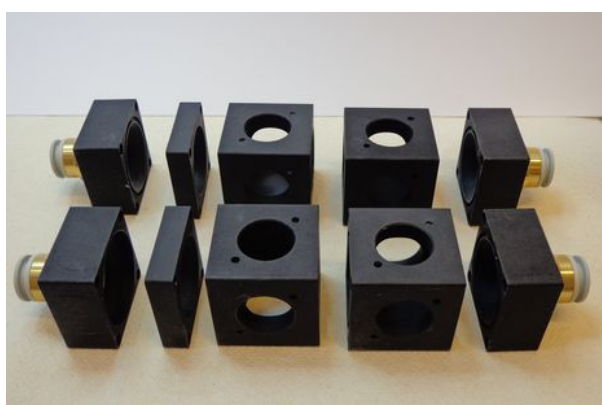


Fig. 5.13. Moduli della cella di misura



Fig.5.14. Componenti meccaniche della cella di misura



Fig. 5.15. *Probes* di misura

Il prototipo realizzato per la sperimentazione 2013 consta di 2 celle di misura, ciascuna contenente seguenti sensori:

| CELLA 1  |                                      | CELLA 2  |                                     |
|----------|--------------------------------------|----------|-------------------------------------|
| Modulo 1 | Fluorimetro CHL-A                    | Modulo 1 | Fluorimetro C-DOM - Torbidimetro    |
| Modulo 2 | Termometro 1                         | Modulo 2 | Termometro 2                        |
| Modulo 3 | Conduttivimetro 1<br>(fasce piccole) | Modulo 3 | Conduttivimetro 2<br>(fasce grandi) |

Tab.5.1. Sensori alloggiati all'interno delle celle di misura *Spectra*

Di seguito si riporta lo schema delle configurazioni ottiche assemblate nelle due celle di misura:

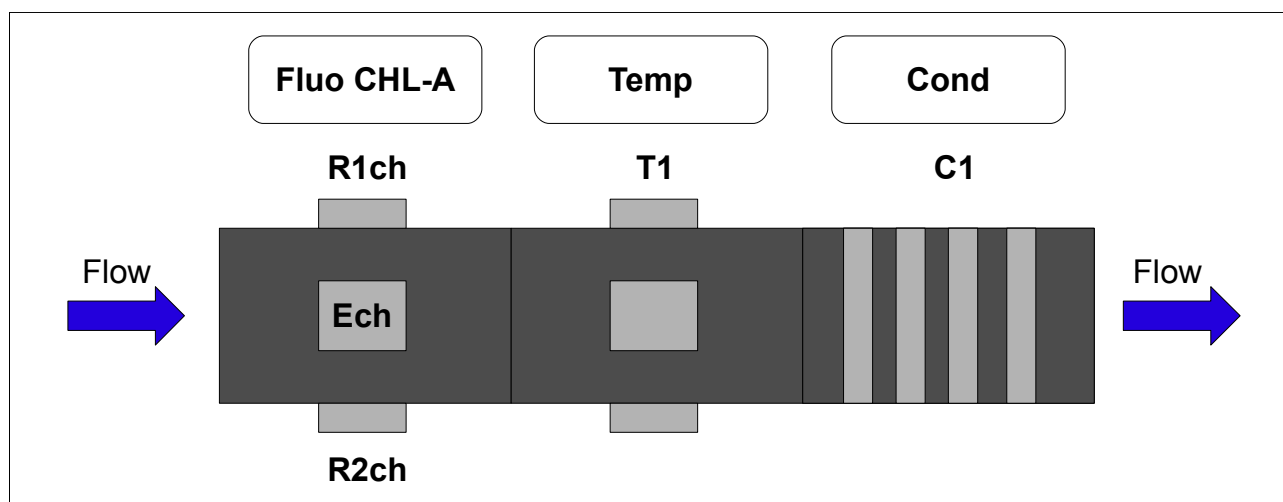


Fig. 5.16. Schema descrittivo della cella 1

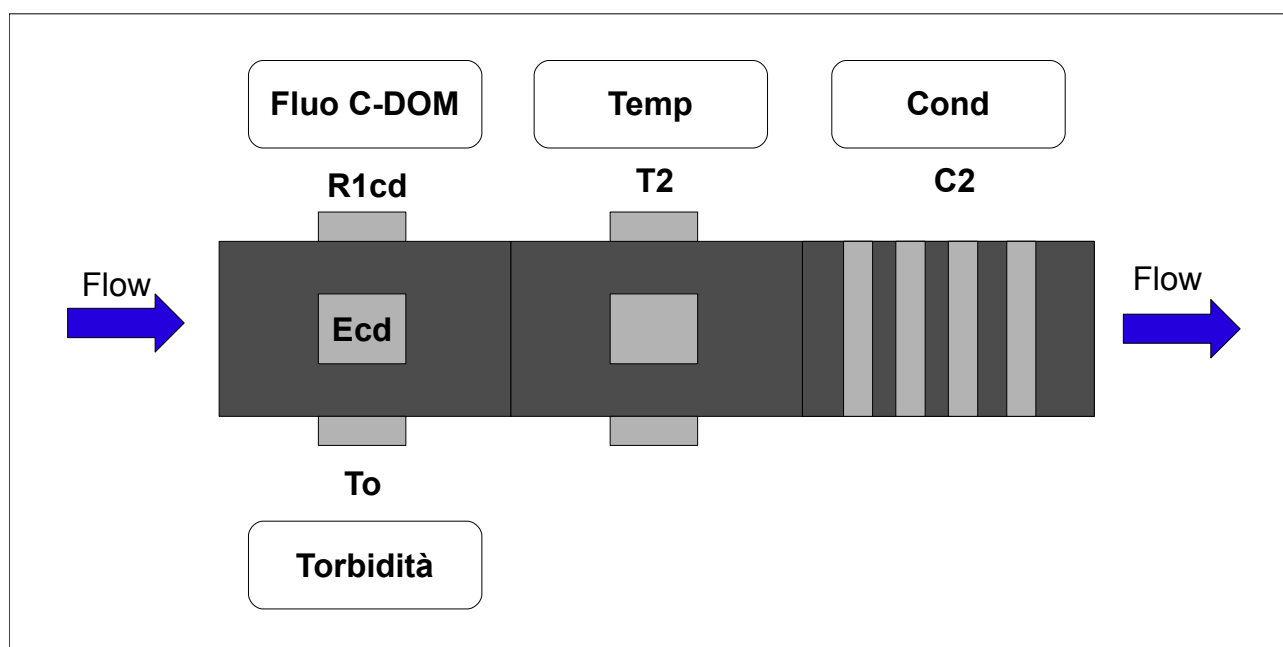


Fig. 5.17. Schema descrittivo della cella 2

#### 5.3.1.4 Il sistema firmware/software

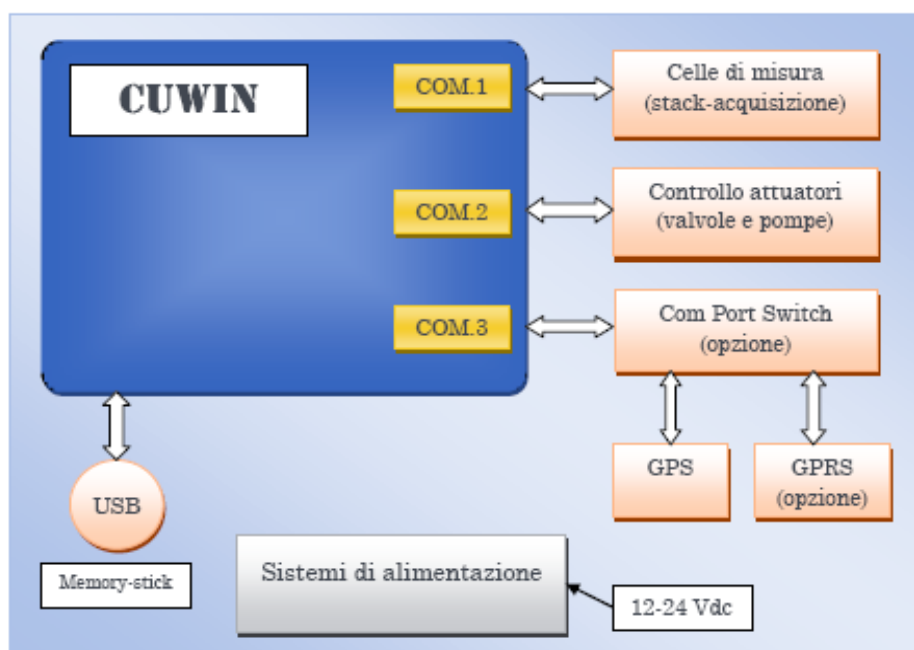


Fig. 5.18. Il sistema firmware/software *Spectra*

Il sistema di controllo consta di un dispositivo embedded CUWIN dotato di sistema operativo Windows CE 5.0, processore ARM 32 bit – 266 MHz e display touch screen TFT 7” a colori. Il software di controllo è stato implementato su piattaforma NET 2.0 Compact Framework e scritto utilizzando il linguaggio C#. Esso svolge funzioni di controllo, acquisizione delle misure in linea della fluorescenza Chl a, della fluorescenza CDOM, temperatura e conducibilità, acquisizione della posizione geografica da GPS, conversione delle misure in unità elettriche e/o fisiche ed archiviazione su file delle stesse, nonché visualizzazione sul display, in tempo reale, dei dati misurati, di navigazione e di esercizio.

Il software è costituito da tre funzioni principali: acquisizione ed archiviazione, parsing dell’input delle porte seriali e trattamento del dato. Il modulo di acquisizione si occupa di gestire la connessione alle tre porte COM, sulle quali arrivano tre diverse tipologie di dati e che vengono acquisiti con diversi metodi.

Sulla interfaccia seriale COM3 il dispositivo comunica con la strumentazione ed utilizza un protocollo di comunicazione sincrono, mediante l’invio di un comando di richiesta dei dati e attesa della stringa di risposta sulla porta. Sull’interfaccia seriale COM2 la comunicazione con un dispositivo GPS permette la localizzazione geografica e la misura della velocità di navigazione.

L’ultima interfaccia seriale COM1 è dedicata al controllo degli attuatori.

L’archiviazione dei dati si mette in atto tramite il salvataggio su file di log, in formato

ASCII, delle grandezze riportate in unità digitali, così come arrivano sulle porte seriali. La dimensione dei file archiviati totalmente in una giornata si aggira sui 20 MB, permettendo l'archiviazione di un intero mese di navigazione (circa 600 MB) all'interno di un normale storage USB inserito nel dispositivo.

In condizioni normali di esercizio il software visualizza costantemente e in tempo reale i dati catturati sulle tre porte e, per eseguire questo compito, è quindi necessario un modulo di parsing delle stringhe informato ASCII provenienti dalle interfacce seriali.

L'interfaccia utente del software è costituita da una finestra principale ove vengono visualizzate su display numerici le grandezze relative alle misurazioni, dati di navigazione e dati di esercizio, rispettivamente su tre pannelli separati.

### **5.3.2 Calibrazione dei sensori**

La calibrazione di un sensore consiste nell'individuare la legge che permette di convertirne i valori elettrici in uscita in valori fisici. Tale procedura si realizza attraverso il confronto delle misure dello strumento da calibrare su una serie di campioni standard di unità note con quelle ottenute simultaneamente da uno strumento di riferimento. La strumentazione di riferimento deve essere in grado di fornire misure con una incertezza minore di almeno un ordine di grandezza rispetto a quella del sensore da tarare. Dalla regressione ottenuta tra le coppie di dati delle variabili misurate si ricava la curva di calibrazione specifica per ciascun sensore. I range di variazione delle grandezze fisiche da misurare (temperatura, conducibilità, fluorescenza Chl a, fluorescenza CDOM) sono stati definiti tenendo conto delle loro variazioni caratteristiche nell'ambiente marino per cui i sensori sono stati specificamente progettati.

Trattandosi di uno strumento in linea d'acqua, *Spectra* necessita di un sistema di calibrazione in grado di studiare il comportamento dei sensori a contatto con un fluido in movimento. Per questo motivo è stato appositamente realizzato un circuito idraulico per la calibrazione dinamica dei sensori.

Il circuito idraulico realizzato per la calibrazione dei sensori *Spectra* è rappresentato in fig.5.19.



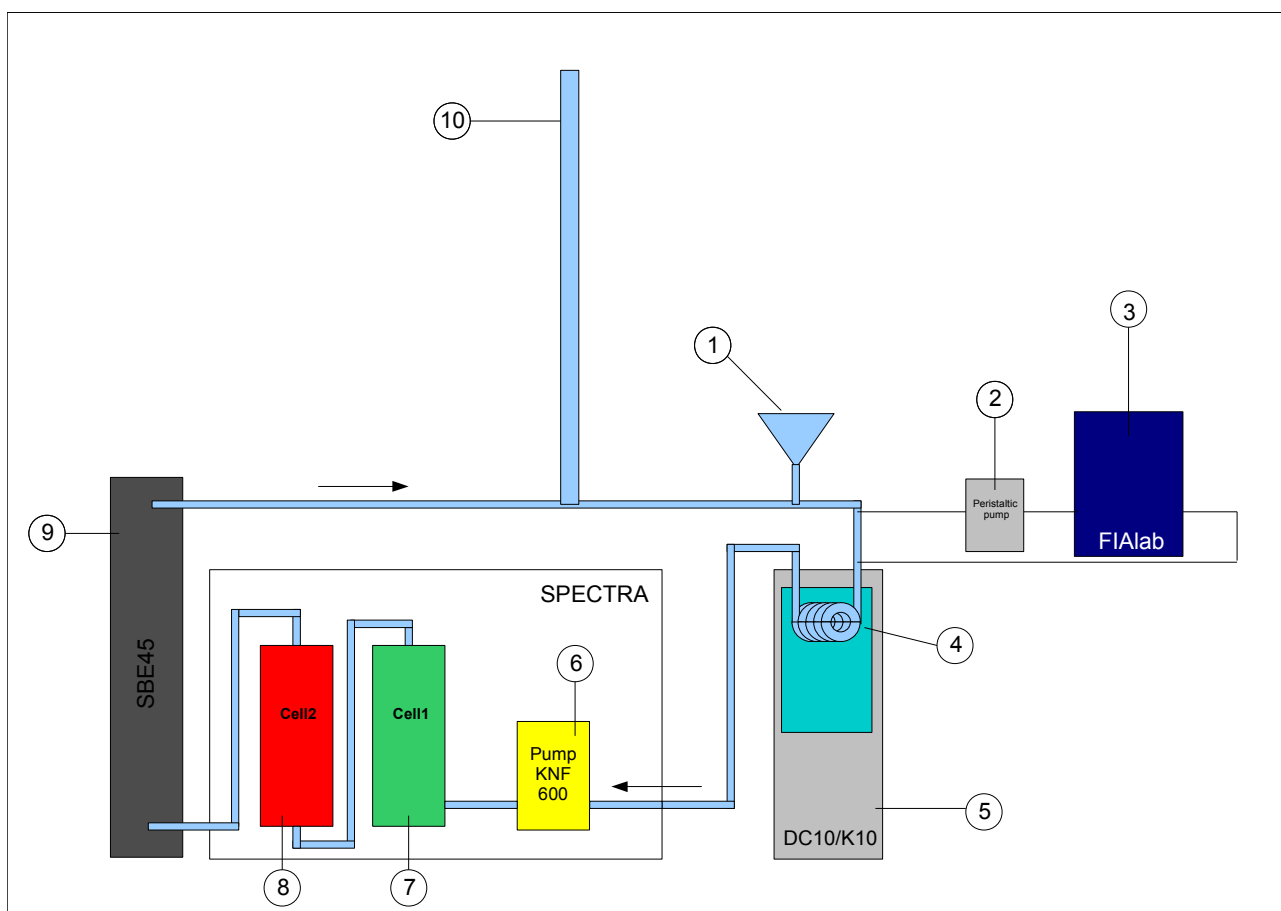


Fig.5.19. Circuito idraulico di calibrazione dei sensori *Spectra*

Esso è costituito dalle seguenti componenti:

- 1) sistema di ingresso del flusso d'acqua;
- 2) pompa peristaltica S2-Mini;
- 3) fluorimetro FIALab Ocean Optics per la calibrazione dei sensori di fluorescenza Chl a e CDOM;
- 4) scambiatore termico a serpentina realizzato *ad hoc*;
- 5) termocriostato Haake DC10/K10 per la regolazione della temperatura del circuito;
- 6) pompa KNF 600 dell'unità idraulica *Spectra*;
- 7) cella 1 dell'unità idraulica *Spectra* dove sono alloggiati i sensori di Fluorescenza della Chl a (Fluo1 e Fluo2), Temperatura, Conducibilità;
- 8) cella 2 dell'unità idraulica *Spectra* dove sono alloggiati i sensori di Fluorescenza CDOM, Torbidità, Temperatura, Conducibilità;
- 9) termosalinografo SBE45 per la calibrazione dei sensori di temperatura e conducibilità;
- 10) sistema di degassamento;

L'acqua fluisce all'interno del circuito tramite la pompa KNF modello NF600 dello *Spectra*

secondo la direzione indicata dalle frecce in fig. 1. La pompa, la cui portata massima è di 6L/min (100ml/sec), presenta 10 regolazioni della velocità di flusso da un minimo del 10% ad un massimo del 100% di quella massima. Misurando la portata in funzione della velocità della pompa (Fig. 5.20), e' stato osservato che la velocità che assicura il corretto funzionamento della strumentazione inserita (in particolare del termosalinografo che richiede un flusso di 10-30 ml/sec) nel circuito corrisponde al 20% di quella massima.

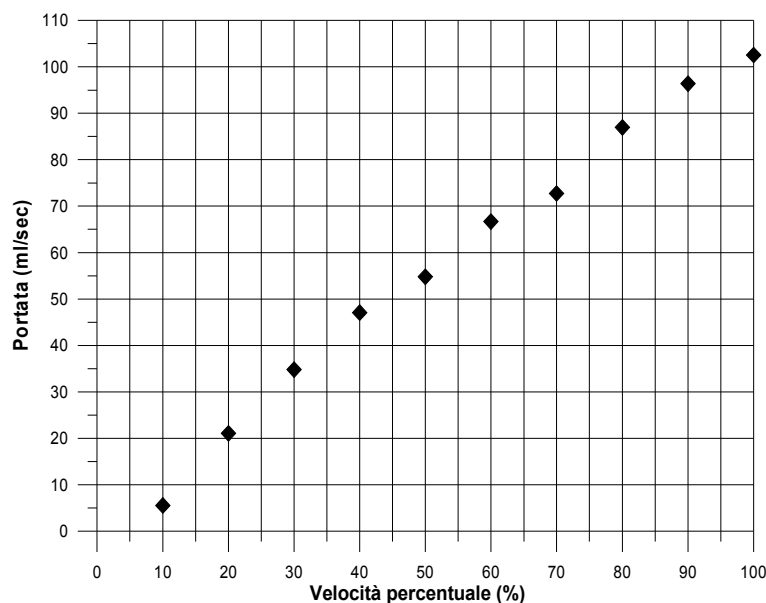


Fig.5.20 Misura delle portate (ml/sec) corrispondenti alle differenti velocità della pompa KNF600

### 5.3.2.1 Caratteristiche tecniche dei sensori di riferimento

Di seguito si riportano le caratteristiche tecniche dei sensori di riferimento e della strumentazione utilizzata:

|                                           |                                           |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <b>Modello</b>                            | 4 Diaphragm liquid pump<br>KNF NF600 KPDC |
| <b>Dimensioni</b>                         | 135 x 111 x 105 mm                        |
| <b>Portata (l/min)</b>                    | 6                                         |
| <b>Max altezza in aspirazione (m.c.a)</b> | 3                                         |
| <b>Max altezza in mandata (m.c.a)</b>     | 10                                        |
| <b>Tensione (V)</b>                       | 24                                        |
| <b>Corrente assorbita (A)</b>             | 1.9                                       |
| <b>Classe di protezione</b>               | IP50                                      |
| <b>Temperatura ambiente</b>               | +5 ...+40°C                               |
| <b>Max temperatura liquido</b>            | +5 ...+80°C                               |
| <b>Max viscosità (cSt)</b>                | 150                                       |

|                                 |          |
|---------------------------------|----------|
| <b>Filetto per collegamenti</b> | G 3/8"   |
| <b>Tubo Diam Int (mm)</b>       | Min 10   |
| <b>Peso (Kg)</b>                | 1,5      |
| <b>Normativa EMI</b>            | EN 55011 |

Tab.5.2. Specifiche della pompa KNF600 *Spectra*

### **Termocriostato Haake DC10/K10**

|                                                       |              |
|-------------------------------------------------------|--------------|
| <b>Bath volume</b>                                    | max. 3 L     |
| <b>Pump: Pressure/ Flow rate max<br/>(mbar/l/min)</b> | 300/<br>12.5 |
| <b>Cooling capacity at 20°C</b>                       | 240 W        |
| <b>Heater capacity 115V</b>                           | 1.2 kW       |
| <b>Heater capacity 230V</b>                           | 2 kW         |
| <b>Temperature accuracy</b>                           | +/- 0.02 K   |
| <b>Working temperature range</b>                      | -10 to 100°  |

Tab.5.3. Specifiche del termocriostato Haake DC10/K10

### **Termosalinografo SBE45**

|                                            | <b>Temperature<br/>(°C)</b> | <b>Conductivity<br/>(S/m)</b>                     | <b>Salinity<br/>(PSU)</b> |
|--------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------|
| <b>Measurement range</b>                   | -5 to +35                   | 0 - 7<br>(0 - 70<br>mS/cm)                        | -                         |
| <b>Initial accuracy</b>                    | 0.002                       | 0.0003<br>(0.003 mS/cm)                           | 0.005                     |
| <b>Typical Stability (per<br/>month)</b>   | 0.0002                      | 0.0003<br>(0.003 mS/cm)                           | 0.003                     |
| <b>Resolution</b>                          | 0.0001                      | 0.00001<br>(0.0001<br>mS/cm)                      | 0.0002                    |
| <b>Sensor calibration range</b>            | +1 to +32                   | 0-6; physical<br>calibration from<br>2.6 to 6 S/m | -                         |
| <b>Input Power</b>                         | 8-30 VDC                    |                                                   |                           |
| <b>Recommended Flow Rate</b>               | 10-30 ml/sec                |                                                   |                           |
| <b>Maximum Safe Operating<br/>Pressure</b> | 34.5 decibar (50 psi)       |                                                   |                           |

Tab.5.4. Specifiche del termosalinografo SBE45

### **FIALab Ocean Optics**

|                              |                                                                                                                   |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Detector</b>              | <b>Photomultiplier tube</b>                                                                                       |
| <b>PMT dynamic range</b>     | 2*10 <sup>6</sup>                                                                                                 |
| <b>Responsivity</b>          | 5*10 <sup>-17</sup> cps/watt (@400nm)                                                                             |
| <b>Spectral range</b>        | 310-750 nm                                                                                                        |
| <b>Limit of detection</b>    | 10 ppt (Fluorescein @200msec integration time)                                                                    |
| <b>Pulse-pair resolution</b> | 10 ns                                                                                                             |
| <b>Flow-cell pathlength</b>  | 10 mm                                                                                                             |
| <b>Flow cell volume</b>      | 25 µL with standard flow through cuvette                                                                          |
| <b>Lamp source</b>           | LED                                                                                                               |
| <b>Filter</b>                | Both the excitation and emission filters holder use standard 11.8 mm circular filters that are <5.1mm thick       |
| <b>Fluid compatibility</b>   | Fluids will be exposed to Teflon, quartz and Delrin. All fluids must be chemically compatible to these materials. |
| <b>Computer interface</b>    | RS-232                                                                                                            |
| <b>Operating systems</b>     | Windows 98/Me/2000/XP operating systems                                                                           |
| <b>Input Power</b>           | 5 VDC                                                                                                             |

Tab.5.5. Specifiche del fluorimetro da banco FIALab Ocean Optics

### **SEATECH Fluorometer**

|                       |                                                                                  |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Chl a range</b>    | X10= 3 mg/m <sup>3</sup><br>X3= 10 mg/m <sup>3</sup><br>X1= 30 mg/m <sup>3</sup> |
| <b>Signal output</b>  | 0-5 VDC                                                                          |
| <b>Time constant</b>  | 0.1, 1.0, 3.0 o 10 sec                                                           |
| <b>Spectral range</b> | Excitation - 425 nm peak 200nm FWHM<br>Emission - 685nm peak 30 nm FWHM          |
| <b>Power supply</b>   | Voltage 12 VDC<br>Power 2 Watts                                                  |
| <b>Material</b>       | Housing - Celcon<br>Windows - Acrylic                                            |
| <b>Weight</b>         | In air 5.92 Kg<br>In water 3.22 Kg                                               |
| <b>Dimensions</b>     | Diameter 4.75", 121 mm<br>Length 15.5", 394 mm                                   |
| <b>Maximum Depth</b>  | 500 meter                                                                        |

Tab.5.6 Specifiche del fluorimetro SEATECH

### 5.3.2.2 Protocolli di calibrazione della sensoristica

#### Calibrazione dei sensori di temperatura

La temperatura rappresenta la misura dell'energia cinetica delle particelle di un corpo espressa in termini di unità o gradi designati su di una scala standard. Insieme alla salinità ed alla densità, la temperatura costituisce una delle principali variabili descrittive delle masse d'acqua oceaniche.

Dal momento che il prototipo *Spectra* è stato sviluppato per la realizzazione di misure sullo strato superficiale marino in Mediterraneo il range di variazione entro cui sono state effettuate le misure di calibrazione deve contenere quello tipico delle acque mediterranee, compreso tra i 13 ed i 27 °C.

La calibrazione dei sensori di temperatura è stata effettuata prima di tutte le altre, dal momento che quest'ultima influenza le misure dei sensori di conducibilità e fluorescenza.

La procedura ha previsto una calibrazione con acqua standard di laboratorio in 6 punti fissi di temperatura: 5-10-15-20-25-28 °C . Il raggiungimento di ciascun valore all'interno del circuito è stato ottenuto facendo variare la temperatura del termocriostato Haake DC10/K10 ed attendendo che la temperatura misurata nel circuito di calibrazione dal microTSG SBE45, utilizzato come sonda di riferimento (0.0001 °C di risoluzione), fosse stabile allo 0.01°C.

In modo tale da garantire una stabilità delle temperature di calibrazione dello 0.01 °C, tutti i tubi di raccordo sono stati coibentati con copri-tubo in neoprene e la stanza adeguatamente condizionata.

#### Calibrazione del sensore di conducibilità

La conducibilità è una proprietà intrinseca dell'acqua di mare da cui possono essere derivate salinità e densità. L'unità di misura è il  $\mu\text{S}/\text{cm}$  dove 1 Siemens è uguale all'inverso della resistenza in Ohm. La conducibilità cresce linearmente ad aumenti di 0.01 di salinità, di 0.01 °C di temperatura e ogni 20 metri di profondità (pressione). La conducibilità si calcola a partire dalla conduttanza misurata dal sensore usando il fattore di scala o "costante della cella" che costituisce il rapporto tra la lunghezza e la sezione trasversale del volume d'acqua campionato attraversato dalla corrente elettrica secondo la seguente formula (6):

$$R = r * l/A$$

(6)

R= resistenza = 1/conducibilità

r= resistività =1/conducibilità

l= lunghezza della cella

A= Area della sezione della cella

La conducibilità dell'acqua di mare varia in un range fra 50000 e 60000 micro-Siemens per centimetro.

La procedura di calibrazione del sensore di conducibilità è stata effettuata facendo variare la temperatura di un certo volume di acqua di mare filtrata a conducibilità e salinità di 38.2 psu. I punti di calibrazione sono gli stessi di quelli utilizzati per la calibrazione dei sensori di temperatura così come la procedura di acquisizione.

#### **Calibrazione del sensore di fluorescenza Chl a**

La calibrazione dei sensori di fluorescenza Chl a è stata eseguita mediante l'utilizzo di diluizioni seriali di una coltura fitoplanctonica di laboratorio di *Chlorella sp.* a concentrazione nota.

La procedura ha previsto una calibrazione in 9 punti di concentrazione nel range 0.01 – 5 mg/m<sup>3</sup>, a partire da una soluzione madre di coltura da cui sono state effettuate le diluizioni seriali 1:2. La concentrazione di clorofilla *a* dei campioni utilizzati per la calibrazione è stata misurata attraverso l'uso della sonda di riferimento Seatech ed il fluorimetro da banco FIALab configurato per la misura di fluorescenza Chl a (sorgente di eccitazione a LED 400-470 nm+filtro rosso di ricezione 600-700 nm).

#### **Calibrazione del sensore di fluorescenza CDOM**

Il sensore di fluorescenza CDOM è stato calibrato utilizzando soluzioni seriali a concentrazione nota dello standard Chinina Solfato (Fluka) disciolto in una soluzione 0.05 M di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> secondo la metodologia standard utilizzata per la calibrazione delle principali sonde disponibili in commercio (TurnerDesign, Coble, 1993).

### 5.3.3 Compensazione della temperatura sulle misure di fluorescenza

Al fine di parametrizzare l'effetto della temperatura sulle misure di fluorescenza CDOM e Chl a, si è proceduto alla realizzazione di cicli di misura di fluorescenza a concentrazione nota al variare della temperatura. E' infatti noto che, a parità di concentrazione, la fluorescenza aumenta al diminuire della temperatura.

Le misure sono state effettuate utilizzando il circuito idraulico di calibrazione e facendo variare la temperatura del bagno termostatico DC10/K10. Per ogni punto di temperatura monitorato si è proceduto al raggiungimento di una stabilità di 0.01 °C all'interno del circuito idraulico.

Con lo scopo di valutare l'effetto della variazione di temperatura sull'offset di ciascun canale di misura sono stati effettuati ripetuti cicli di misure del segnale digitale al variare della temperatura, da 5 a 28 °C, riempiendo il circuito idraulico con acqua standard di laboratorio.

## 5.4 Misure *in situ*

Nell'ambito delle diverse fasi delle attività di sperimentazione, il sensore di fluorescenza CDOM è stato testato in 4 campagne di misura *in situ*. Di seguito si riportano le informazioni di dettaglio relative a ciascuna campagna e le modalità operative di utilizzo del sensore sviluppato.

### 5.4.1 Campagna *STIGE*

Nell'ambito delle attività di ricerca portate avanti dal Laboratorio di Oceanologia Sperimentale ed Ecologia Marina e la Capitaneria di Porto di Civitavecchia, rese possibili grazie alla condivisione ed allo scambio di risorse e competenze, sono state svolte numerose campagne di monitoraggio finalizzate allo studio ed al controllo di eventuali fenomeni di inquinamento in atto lungo il tratto di costa di giurisdizione della Capitaneria di Porto di Civitavecchia.

Tra queste, la campagna di misura STIGE (Fig. 5.21), svoltasi il 23 ottobre 2011, ha avuto come obiettivo quello di caratterizzare le acque marine interessate dalla presenza di foci fluviali e scarichi idrici presenti lungo la costa alto laziale compresa tra Tarquinia e Civitavecchia.

A tale scopo la Direzione Marittima di Roma ha messo a disposizione un velivolo ATR 42 MP del 3° Nucleo Aereo Guardia Costiera di Pescara, allestito con sistema Sensytech AA1268 ATM – E, che ha effettuato il sorvolo del litorale laziale tra le località di Montalto di Castro e Capo Linaro durante le attività di campionamento.



Fig.5.21. Area di studio della campagna STIGE

La strategia di campionamento ha previsto il coinvolgimento di 3 squadre operative a bordo dei mezzi nautici, messi a disposizione dalla Capitaneria di Porto di Civitavecchia, che hanno effettuato le misure simultaneamente al passaggio dell'aereo lungo le tratte pianificate dal Comando Generale.

In ciascun punto di campionamento (Fig. 5.23, Tab. 5.7) sono state effettuate misure di temperatura, conducibilità, salinità (densità), pH, ossigeno disciolto e fluorescenza della clorofilla *a* attraverso l'uso di sonde Idronaut 316 Ocean Seven dotate di fluorimetro Seapoint.



Fig.5.22. Sorvolo velivolo ATR 42 MP ed attività di campionamento.

In ogni stazione sono stati prelevati campioni d'acqua superficiale per l'analisi spettrofotometrica della clorofilla *a* (par. 5.4.5.1), la determinazione gravimetrica dei solidi sospesi (par. 5.4.5.5) e l'analisi dell'assorbimento CDOM (par. 5.4.5.3). Per valutare l'efficienza di rilevamento del segnale di fluorescenza CDOM del sensore sviluppato sono stati prelevati ulteriori



campioni d'acqua di mare per le misure di fluorescenza CDOM effettuate con la cella sperimentale in configurazione da banco. I campioni sono stati conservati in bottiglie di vetro borosilicato, mantenuti al buio ed analizzati entro le 4 ore dal prelievo.

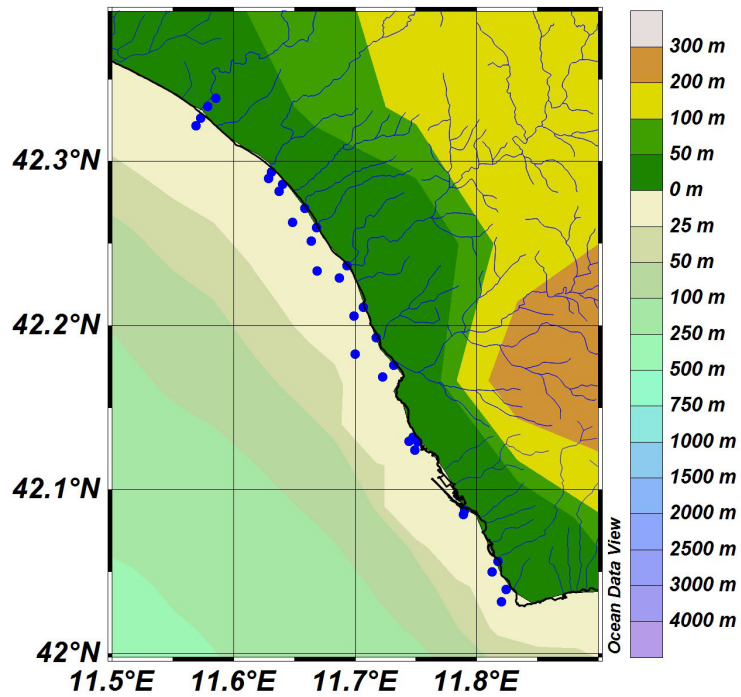


Fig.5.23. Piano di campionamento della campagan STIGE

| Stazione | Longitudine | Latitudine |
|----------|-------------|------------|
| FR01     | 11.572361   | 42.326639  |
| FR03     | 11.578194   | 42.333556  |
| FR04     | 11.584944   | 42.338694  |
| FR05     | 11.568528   | 42.321944  |
| FR06     | 11.630972   | 42.293639  |
| FR07     | 11.628222   | 42.289778  |
| FR08     | 11.640167   | 42.286083  |
| FR09     | 11.637056   | 42.282028  |
| MR01     | 11.658200   | 42.271600  |
| MR02     | 11.648200   | 42.263000  |
| MR03     | 11.668000   | 42.259600  |
| MR04     | 11.663400   | 42.251400  |
| MR05     | 11.692900   | 42.236500  |
| MR06     | 11.668400   | 42.233400  |
| MR07     | 11.686800   | 42.229200  |
| MR08     | 11.706700   | 42.211100  |
| MR09     | 11.698700   | 42.205900  |
| MR10     | 11.717000   | 42.192800  |
| MR11     | 11.699600   | 42.182600  |
| MG01     | 11.731667   | 42.175933  |
| MG02     | 11.722517   | 42.168683  |
| MG03     | 11.747500   | 42.132083  |
| MG04     | 11.743867   | 42.129667  |
| MG05     | 11.751217   | 42.129400  |
| MG06     | 11.748900   | 42.124200  |
| MG07     | 11.789600   | 42.087500  |
| MG08     | 11.788900   | 42.085017  |
| MG09     | 11.817117   | 42.056550  |
| MG10     | 11.812233   | 42.050250  |
| MG11     | 11.824183   | 42.039550  |
| MG12     | 11.820017   | 42.031917  |

Tab.5.7. Coordinate delle stazioni di campionamento della campagna STIGE

## 5.4.2 Campagne IOSMOS

Il progetto *Ionian Sea water quality MOnitoring by Satellite data* (IOSMOS), svolto in collaborazione con l'IMAA-CNR di Potenza e l'Università degli Studi di Firenze, ha avuto come obiettivo il monitoraggio delle proprietà bio-ottiche delle acque del tratto di costa ionica lucana compresa tra la foce del fiume Basento e quella del Sinni (Figura 5.24) attraverso l'analisi multi-temporale di dati e prodotti satellitari avanzati. A tale scopo sono state realizzate 2 campagne di misura *in situ* per l'intercalibrazione a scala locale delle osservazioni remote da satellite e da aereo.

Di seguito si riportano i piani di campionamento delle campagne (Fig. 5.25-26, Tab. 5.8, Tab. 5.9), svoltesi rispettivamente tra il 18 ed il 19 aprile 2013, a bordo della nave oceanografica "Cerruti" Istituto per l'ambiente marino e costiero U.O. di Taranto - IAMC , ed il 16 luglio 2013 a bordo di una motovedetta classe 200 della Capitaneria di Porto.



Fig.5.24. Area di studio delle campagne IOSMOS

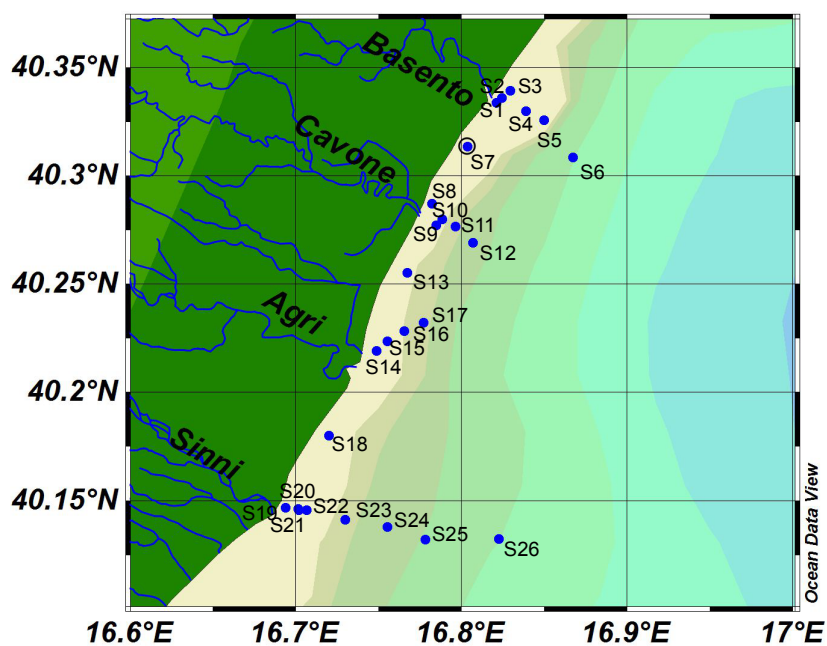


Fig.5.25. Piano di campionamento delle campagne IOSMOS

| Stazione | Coordinate                 | Foce   | Batimetria (m) | Distanza costa (m) | Vento (nodi) | Orario |
|----------|----------------------------|--------|----------------|--------------------|--------------|--------|
| 1 (S7)   | 40°17'14" N<br>16°46'55" E | Cavone | 3,3            | 240                | 8 NE         | 10:07  |
| 2 (S8)   | 40°16'38" N<br>16°47'04" E | Cavone | 6,1            | 500                | 9,6 NE       | 10:49  |
| 3 (S9)   | 40°16'48" N<br>16°47'17" E | Cavone | 8,7            | 1200               | 9 NE         | 11:25  |
| 4 (S10)  | 40°16'36" N<br>16°47'47" E | Cavone | 12,9           | 2312               | 6,5 NE       | 12:00  |

|             |                            |                                |      |       |         |          |
|-------------|----------------------------|--------------------------------|------|-------|---------|----------|
| 5 (S11)     | 40°16'09" N<br>16°48'24" E | Cavone                         | 16,2 | 2960  | 5,8 NE  | 12:30    |
| 6 (S6)      | 40°18'49" N<br>16°48'12" E | Intermedio Cavone -<br>Basento | 4,2  | 481   | 6,4 SE  | 13:15    |
| 7 (S1)      | 40°20'02" N<br>16°49'16" E | Basento                        | 3,8  | 370   | 7 SE    | 13:50    |
| 8 (S2)      | 40°20'10" N<br>16°49'27" E | Basento                        | 5    | 647   | 6,7 SE  | 14:45:00 |
| 9 (S3)      | 40°20'22" N<br>16°49'46" E | Basento                        | 6,1  | 1110  | 6,6 SE  | 15:10    |
| 10 (S4)     | 40°19'48" N<br>16°50'19" E | Basento                        | 12,7 | 2331  | 5,6 SE  | 15:48    |
| 11 (S5)     | 40°19'33" N<br>16°50'59" E | Basento                        | 20,3 | 2960  | 6,6 SE  | 16:20    |
| 12 (S5 bis) | 40°18'31" N<br>16°52'02" E | Basento                        | 233  | 5920  | 7,4 SE  | 16:53    |
| 13 (S26)    | 40°07'57" N<br>16°49'21" E | Sinni                          | 203  | 11100 | 2 NE    | 11:00    |
| 14 (S24)    | 40°08'17" N<br>16°45'19" E | Sinni                          | 20,6 | 5550  | 6,8 NE  | 11:40    |
| 15 (S25)    | 40°07'56" N<br>16°46'41" E | Sinni                          | 51   | 7400  | 7,8 NE  | 12:00    |
| 16 (S23)    | 40°08'29" N<br>16°43'47" E | Sinni                          | 15,9 | 3515  | 4,8 NE  | 12:25    |
| 17 (S22)    | 40°08'45" N<br>16°42'23" E | Sinni                          | 11   | 2960  | 6 NE    | 12:52    |
| 18 (S21)    | 40°08'52" N<br>16°42'06" E | Sinni                          | 9    | 1295  | 4,7 NE  | 13:16    |
| 19 (S20)    | 40°08'47" N<br>16°42'05" E | Sinni                          | 6,4  | 555   | 6 NE    | 14:02    |
| 20 (S19)    | 40°08'49" N<br>16°41'37" E | Sinni                          | 5,4  | 231   | 3,1 NE  | 14:34    |
| 21 (S18)    | 40°10'47" N<br>16°43'11" E | Intermedio Sinni -<br>Agri     | 6,3  | 463   | 6,2 NE  | 15:05    |
| 22 (S14)    | 40°13'09" N<br>16°44'55" E | Agri                           | 5,9  | 465   | 7,3 NE  | 15:36    |
| 23 (S15)    | 40°13'25" N<br>16°45'18" E | Agri                           | 8    | 1295  | 9,8 NE  | 16:00    |
| 24 (S16)    | 40°13'45" N<br>16°46'08" E | Agri                           | 13,2 | 2220  | 8,7 NE  | 16:22    |
| 25 (S17)    | 40°13'56" N<br>16°46'37" E | Agri                           | 14   | 3145  | 8,8 NE  | 16:40    |
| 26 (S12)    | 40°15'18" N<br>16°46'02" E | Intermedio Cavone -<br>Agri    | 6,5  | 470   | 10,5 NE | 17:00    |

Tab.5.8. Stazioni di campionamento della campagna IOSMOS-aprile



In corrispondenza di ogni stazione sono stati effettuati profili verticali di temperatura, conducibilità, salinità (densità), pH, ossigeno disciolto e fluorescenza della clorofilla *a* mediante sonda multiparametrica Idronaut Ocean Seven 316 dotata di fluorimetro Seapoint. Oltre alle misure idrologiche sono state effettuate misure di radianza spettrale attraverso l'utilizzo di uno spettrofotoradiometro portatile (ASD, OceanOptics) a cura dell'UO IMAA-CNR.

Nelle stazioni indicate in tabella (Tab. 5.8, Tab. 5.9) sono stati prelevati campioni superficiali d'acqua di mare per lo svolgimento delle seguenti analisi:

- stima della concentrazione della clorofilla *a* mediante tecnica cromatografica (HPLC)
- misura dell'assorbimento CDOM
- misura dell'assorbimento *in vivo* del particolato su filtro
- determinazione gravimetrica dei solidi sospesi organici ed inorganici

Le analisi bio-ottiche sono state svolte presso i laboratori del Dipartimento di Ecologia e Fisiologia Vegetale dell'Università degli Studi di Firenze.

Durante le campagne è stato possibile testare la strumentazione sviluppata. In particolare, nell'ambito della campagna di aprile sono stati prelevati campioni d'acqua di mare per le misure di fluorescenza CDOM effettuate con la cella sperimentale in configurazione da banco. I campioni sono stati conservati in bottiglie di vetro borosilicato, mantenuti al buio, refrigerati ed analizzati entro le 4 ore dal prelievo. In occasione della campagna di luglio, invece, sono state effettuate misure *in continuo* con il prototipo *Spectra*. Quest'ultima è stata svolta simultaneamente al passaggio per acquisizioni iperspettrali nella porzione NIR dello spettro elettromagnetico tramite l'imager CASI 1500 del Corpo delle Capitanerie di Porto (fig. 5.27).

#### **5.4.3 Campagna CIV**

La campagna di misura CIV è stata realizzata il 4 Febbraio 2014 lungo il tratto di costa del litorale di Civitavecchia (RM) (Fig. 5.27), con lo scopo di valutare le condizioni operative del prototipo sviluppato e per valutare le prestazioni del sensore fluorimetrico CDOM nel rilevare la presenza in mare di acque di scarico. Data la presenza di numerosi scarichi urbani, infatti, l'area oggetto di studio è frequentemente soggetta al verificarsi di fenomeni di inquinamento ed accumulo di acque contenenti un elevato carico organico.

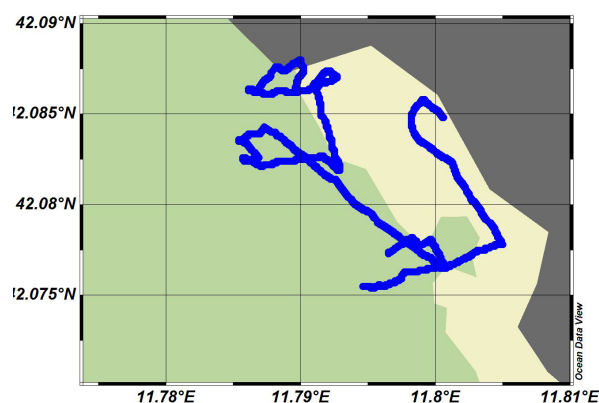


Fig.5.27. Traiettoria *Spectra* effettuata durante la campagna CIV

Durante la campagna sono state effettuate misure *in continuo* sulla superficie del mare a bordo del gommone Nadir del Laboratorio di Oceanologia Sperimentale ed Ecologia Marina. In corrispondenza delle stazioni indicate in tabella 5.10 sono stati prelevati campioni superficiali di acqua di mare per le seguenti analisi di laboratorio:

- analisi spettrofotometrica della clorofilla *a*;
- misure di assorbimento CDOM;
- determinazione gravimetrica dei solidi sospesi.

| Stazione    | Longitudine | Latitudine |
|-------------|-------------|------------|
| ST01SP      | 11.7900     | 42.0880    |
| ST02SP      | 11.7887     | 42.0874    |
| ST03SP      | 11.7867     | 42.0862    |
| ST04SP      | 11.7927     | 42.0870    |
| ST05SP      | 11.7928     | 42.0819    |
| ST05SP_STAR | 11.7867     | 42.0827    |
| ST09SP      | 11.8013     | 42.0821    |
| ST10SP      | 11.7998     | 42.0780    |
| ST10SP_STAR | 11.7951     | 42.0751    |
| ST11SP      | 11.8050     | 42.0778    |

Tab.5.10. Stazioni di campionamento della campagna CIV



#### 5.4.4 Strumentazione utilizzata

La caratterizzazione dei parametri fisici, chimici e biologici ed il confronto dei dati acquisiti con la strumentazione prototipale nelle 4 campagne di misura è stata effettuata attraverso l'uso della sonda Idronaut 316 (Figura 5.29), equipaggiata con i sensori di pressione, temperatura, conducibilità, pH, ossigeno disciolto e di un elettrodo di riferimento. Dalla misura delle suddette variabili è stato possibile calcolare la salinità e la densità delle masse d'acqua. Il software di programmazione consente di effettuare profili verticali lungo la colonna d'acqua o acquisizioni *in continuo* ad una profondità nota. La sonda è provvista, inoltre, di un sensore Seapoint per la misura della fluorescenza *in vivo* della clorofilla *a*.



Fig.5.29. Sonda multiparametrica Idronaut 316

Le caratteristiche tecniche dei sensori sono riportate nella tabella 5.11:

| Parametri          | Range         | Accuratezza | Risoluzione |
|--------------------|---------------|-------------|-------------|
| Pressione          | 0-1000 dbar   | 0.1 %       | 0.03 %      |
| Temperatura        | -3/+50 °C     | 0.003 °C    | 0.0005 °C   |
| Conducibilità      | 0-64 mS/cm    | 0.003 mS/cm | 0.001 mS/cm |
| pH                 | 0-14 pH       | 0.01 pH     | 0.001 pH    |
| Fluorescenza Chl a | 0.02-150 µg/L | 0.02 µg/L   | 0.03 µg/L   |
| Ossigeno           | 0-50 ppm      | 0.1 ppm     | 0.01 ppm    |
|                    | 0-500 % sat.  | 1 % sat.    | 0.1 % sat.  |

Tab 5.11. Caratteristiche tecniche dei sensori della sonda Idronaut 316



#### 5.4.5 Analisi di laboratorio

Durante ciascuna campagna di monitoraggio, in corrispondenza delle stazioni di campionamento indicate nelle tabelle 5.7, 5.8, 5.9 e 5.10 sono stati prelevati campioni di acqua di mare per mezzo di una bottiglia Niskin da 10 L (Fig.5.30) e travasati in bottiglie di plastica scure da 2L mantenute al fresco. I campioni raccolti *in situ* sono stati filtrati non oltre le 2 ore successive al prelievo, secondo i criteri riportati nelle metodologie di analisi specifiche per ogni parametro analizzato, riportate nei sottoparagrafi annessi.



Fig.5.30. Bottiglia Niskin

##### 5.4.5.1 Analisi spettrofotometrica della clorofilla *a*

Il metodo per la stima quantitativa dei pigmenti clorofilliani consiste nel concentrare il particolato sospeso presente in ogni campione su di un filtro in fibra di vetro. I pigmenti vengono estratti a freddo dalle cellule tritutando ed omogeneizzando i filtri immersi in un solvente acetico. Infine la concentrazione dei pigmenti nell'estratto viene stimata per via spettrofotometrica. Il metodo utilizzato per l'analisi della clorofilla *a* è quello descritto nel manuale “Metodologie di Studio del Plancton marino” ISPRA 56/2010 (Lazzara et al., 2010).

Di seguito si riporta la procedura utilizzata per il campionamento e per l'analisi di laboratorio.

1) I campioni prelevati tramite bottiglia Niskin sono stati prefiltrati utilizzando un retino da plancton con maglia da 250  $\mu\text{m}$  in modo tale da eliminare dal campione lo zooplancton ed i

frammenti di macroalghe eventualmente presenti;

2) un volume noto di ciascun campione è stato filtrato (da 1 a 4L) su filtri di fibra di vetro Whatman GF/F (25 mm di diametro) utilizzando una pompa da vuoto, ad una pressione di circa 150 mmHg, per evitare la rottura delle cellule vegetali ed il conseguente passaggio dei pigmenti attraverso il filtro;

3) i filtri sono stati conservati in provette da 10 mL in 5mL di Acetone disidratato 100% al buio ad una temperatura di -20 °C;

4) i filtri sono stati tritutati con un pestello con l'aggiunta di un volume di Acetone 80% pari al volume di Acetone 100% con lo scopo di ottenere un estratto al 90%. Infine i campioni sono stati riposti ad una temperatura di circa 4°C per 24h per completare l'estrazione;

5) i campioni sono stati centrifugati per 15 minuti a 4000 giri/min in modo da separare il filtro dalla soluzione. Infine è stato prelevato il sopranatante mediante pipetta per le successive letture allo spettrofotometro;

6) le letture degli estratti sono state effettuate utilizzando uno spettrofotometro SCHIMADZU UV1240 mini.

Il calcolo delle concentrazioni dei pigmenti è stato effettuato applicando le seguenti equazioni:

- equazione monocromatica per la stima della clorofilla *a* (7) (con feopigmenti) (Jeffrey & Humphrey, 1975):

$$Chl\ a\ (\mu g/dm^3) = \{[A(664s)-A(664b)]-[A(750s)-A(750b)]\} * v * 10^6 / (\epsilon * d * V) \quad (7)$$

- equazione tricromatica per la stima delle clorofille *a*, *b* e *c* (8,9,10) (Lorenzen & Jeffrey, 1980):

$$Chl\ a\ (\mu g/dm^3) = [11.85 * A(664) - 1.54 * A(647) - 0.08 * (630)] * v * 10^3 / (d * V) \quad Chl\ b\ (\mu g/dm^3) = [5.43 * A(664) + 21.03 * A(647) - 2.66 * (630)] * v * 10^3 / (d * V) \quad (8)$$

$$Chl\ b\ (\mu g/dm^3) = [-5.43 * A(664) + 21.03 * A(647) - 2.66 * (630)] * v * 10^3 / (d * V) \quad (9)$$

$$Chl\ c1+c2\ (\mu g/dm^3) = [-1.67 * A(664) - 7.6 * A(647) + 24.52 * (630)] * v * 10^3 / (d * V) \quad (10)$$

- stima della concentrazione di clorofilla *a* e dei feopigmenti (11,12) (Lorenzen, 1967):

$$Chl\ a\ (\mu g/dm^3) = 26.7 * [A(665o) - A(665a)] * v * 10^3 / (d * V) \quad (11)$$

$$Feopigm. (\mu g/dm^3) = 26.7 [1.7 * A(665a) - A(665o)] * v * 10^3 / (d * V) \quad (12)$$

#### 5.4.5.2 HPLC per la stima dei pigmenti fitoplanctonici

La cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC) applicata allo studio dei pigmenti del fitoplancton marino è stata introdotta per la prima volta per lo studio dei pigmenti del fitoplancton marino da Mantoura & Llewellyn (1983) e da Gieskes & Kraay (1983). Questo metodo (Fig. 5.31) permette di separare e quantificare i pigmenti clorofilliani e quelli accessori (ad eccezione delle ficobiliproteine) e viene attualmente applicato sia in ambienti oligotrofici che eutrofici costieri.

L'analisi è stata condotta mediante un sistema HPLC Classe VP (Shimadzu) presso i laboratori del Dipartimento di Ecologia e Fisiologia Vegetale dell'Università degli Studi di Firenze, secondo il protocollo suggerito da Vidussi et al. (1996) e Barlow et al. (1997).

Al fine di estrarre la clorofilla *a* i filtri sono stati immersi in metanolo al 100% e successivamente triturati ed omogeneizzati mediante l'utilizzo di un pestello in vetro smerigliato per un massimo di 2 minuti, sciacquando più volte la bacchetta.

Gli estratti sono stati quindi recuperati e quantificati con siringhe di precisione. Prima dell'iniezione nel loop dello strumento, a ciascun estratto è stato aggiunto acetato d'ammonio al fine di migliorare la capacità di separazione dei pigmenti.

La separazione cromatografica dei pigmenti all'interno della colonna dipende dalla loro differente polarità la quale determina l'affinità tra la fase mobile (solventi d'eluizione) e quella stazionaria (colonna). Sono stati utilizzati due solventi di eluizione (A e B): l'eluente A, costituito da metanolo 70% e 30% (w/v) 1 M di ammonio acetato e BHT (Carlo Erba), l'eluente B, invece, costituito da metanolo al 100%.

L'eluente viene prelevato da una pompa, miscelato col campione all'interno dell'iniettore e quindi fatto passare nella colonna cromatografica. All'uscita esso attraversa un rivelatore differenziale che, tramite un microprocessore, confronta le caratteristiche dell'eluente puro con il liquido uscente dalla colonna, rivelando i componenti della miscela analitica in ordine di eluizione.

I pigmenti così separati sono stati rilevati e quantificati ottenendo un cromatogramma in cui la posizione dei picchi sull'asse dei tempi ha permesso di identificare la presenza di clorofilla *a* nel campione, mentre dalle aree dei picchi è stato possibile effettuarne la quantificazione. Il tempo di

ritenzione considerato per la clorofilla *a* è stato di 22.817 minuti. Il peso del pigmento è stato ottenuto a partire da un coefficiente di calibrazione ottenuto dalla standardizzazione dello strumento con pigmenti standard.

Come indicatore della biomassa fitoplanctonica è stata usata la somma di clorofilla *a* + divinil clorofilla *a* + clorofillide *a* (Chl).

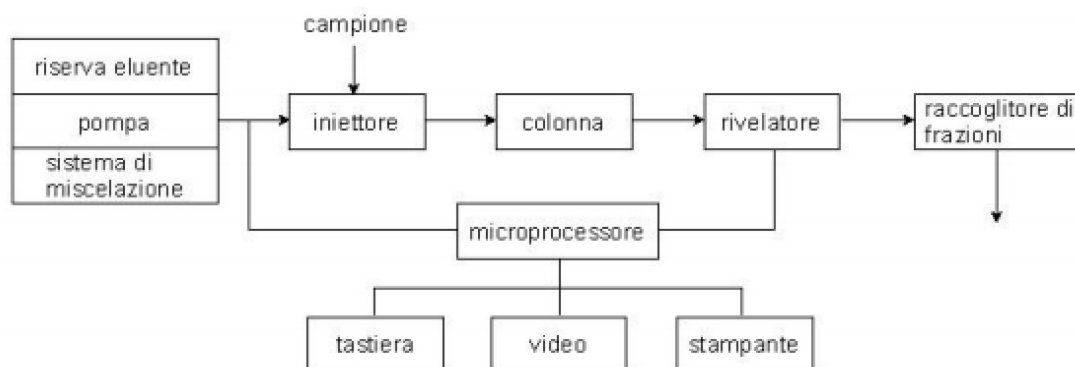


Fig.5.31. Schema di funzionamento del sistema HPLC

#### 5.4.5.3 Analisi spettrale dell'assorbimento CDOM

L'analisi dell'assorbimento CDOM è stata effettuata su aliquote di 200 ml di filtrato recuperate dalla filtrazione su filtri Whatman GF/F da 25 mm di ciascun campione prelevato *in situ*.

Ciascun'aliquota è stata successivamente filtrata con filtri in policarbonato Nuclepore (porosità 0.2 µm) sciacquati con acqua distillata MilliQ e conservata in bottiglie di vetro scuro in vetro borosilicato precedentemente trattate con HCl 10% a 4°C fino al momento dell'analisi.

La procedura di analisi impiegata fa riferimento ai protocolli NASA per la validazione dei dati satellitari Ocean Optics Protocols For Satellite Ocean Color Sensor Validation (Mitchell et al., 2003 - NASA/TM-2003).

I campioni sono stati analizzati utilizzando uno spettrofotometro SHIMADZU UV250PC in cuvettes di quarzo con cammino ottico di 10 cm. Gli spettri ottenuti dalle letture spettrofotometriche sono stati corretti per l'assorbimento residuo della radiazione rossa sottraendo la densità ottica (OD) a 750 nm dalla DO a ciascuna lunghezza d'onda. Infine, gli spettri OD sono stati convertiti in assorbimento ed interpolati in tutta la gamma (300 - 700 nm) utilizzando una funzione esponenziale ed il metodo non lineare dei minimi quadrati proposto da Stedmon et al, 2000.; Twardowski et al. 2004. Il valore a 400 nm è stato utilizzato come stima della concentrazione CDOM di ogni campione.

#### 5.4.5.4 Analisi spettrale dell'assorbimento del particolato su filtro

Un'aliquota variabile da 1 a 2 L di acqua prelevata *in situ* è stata filtrata a bassa depressione su filtri Whatman GF/F con diametro di 25 mm precedentemente imbibiti con acqua distillata per facilitare una sedimentazione omogenea. Al termine della filtrazione i filtri, sono stati conservati in appositi portafiltri al buio ed a -80°C fino al momento dell'analisi. Le procedure di misura sono quelle descritte nel manuale "Metodologie di Studio del Plancton marino" ISPRA 56/2010 (Massi et al, 1997) e prevedono lo scongelamento al buio dei filtri, la loro imbibizione con acqua di mare filtrata ed invecchiata per circa 20 minuti e la successiva misura spettrale della riflettanza e della trasmittanza del particolato raccolto sul filtro (Tassan & Ferrari, 1995) ottenute per mezzo di uno spettrometro LiCor LI 1800UW munito di sfera integratrice LI1800-12S. Per poter determinare lo spettro di assorbimento del particolato depigmentato (detrito) si è proceduto con l'estrazione, in 5 mL di metanolo assoluto al buio per 24h a 4°C (Kishino et al., 1985), dei pigmenti liposolubili presenti nelle cellule fitoplanctoniche raccolte sul filtro. Al termine dell'estrazione i filtri depigmentati sono stati nuovamente imbibiti con acqua distillata e mantenuti al buio per circa 30-40 minuti per consentire l'eliminazione del metanolo residuo e la parziale estrazione dei pigmenti liposolubili (Bricaud et al., 1995). Successivamente è stata effettuata una nuova lettura della riflettanza e della trasmittanza.

Il procedimento seguito per la misura dell'assorbimento si basa su una semplificazione del metodo proposto da Tassan & Ferrari (2002). L'assorbanza del filtro bianco  $A_b(\lambda)$  e dell'insieme filtro + particolato  $A(\lambda)$  tal quale e depigmentato, sono state calcolate secondo l'equazione del bilancio radiativo a partire dalle misure di trasmittanza,  $T(\lambda)$ , e di riflettanza,  $R(\lambda)$ :

$$A(\lambda) = I - T(\lambda) - R(\lambda) \quad (13)$$

Le assorbanze così ottenute sono state convertite in densità ottiche (DO):

$$DO(\lambda) = -\log(I - A(\lambda)) \quad (14)$$

Dalle densità ottiche sono stati calcolati gli assorbimenti:

$$a(\lambda) = 2.303 (DO(\lambda) - DO_b(\lambda)) \text{ sf}/v \beta \quad (15)$$

dove:

$DO(\lambda)$  e  $DOb(\lambda)$  sono rispettivamente la densità ottica del filtro + particellato (o del filtro + particellato dopo estrazione in metanolo) e del filtro bianco;

$\beta$  è il fattore di amplificazione del cammino ottico calcolato secondo Bricaud & Stramski (1990);

$sf$  è la superficie su cui si dispone il particellato ( $m^2$ );

$v$  il volume di acqua filtrato ( $m^3$ ).

Gli spettri di assorbimento del fitoplancton  $aph(\lambda)$  sono stati calcolati per sottrazione:

$$aph(\lambda) = ap(\lambda) - aNAP(\lambda) \quad (16)$$

Gli spettri di assorbimento specifico del fitoplancton,  $a^*ph(\lambda)$ , sono stati ottenuti dividendo  $aph(\lambda)$  per il valore di clorofilla  $a$  + feopigmenti dello stesso campione. Gli spettri di assorbimento del fitoplancton sono stati normalizzati per la loro media spettrale nel range 400-700 nm, per meglio confrontare ed analizzare le loro modificazioni spettrali.

#### 5.4.5.5 Analisi gravimetrica dei solidi sospesi

Il metodo adottato per l'analisi gravimetrica dei solidi sospesi è quella riportata in Strickland & Parsons (1972).

I campioni d'acqua sono stati filtrati attraverso l'uso di filtri in fibra di vetro Whatman GF/C. Ciascun filtro è stato precedentemente essiccato in stufa a 105°C per 1 ora ed infine pesato al decimo di milligrammo su una bilancia di precisione. In seguito alla filtrazione dei campioni d'acqua di mare, i filtri ottenuti sono stati nuovamente essiccati a 105 °C per un'ora e pesati.

Il contenuto di solidi totali (17) sospesi è stato calcolato dalla seguente equazione:

$$\text{Solidi sospesi totali ( mg/L )} = ( M1 - M0 ) * 1000 / V \quad (17)$$

$M1$  = peso ( mg ) del filtro e del residuo dopo essiccamento;

$M0$  = peso ( mg ) del filtro bianco;

$V$  = volume ( mL ) di campione sottoposto a filtrazione.

## 5.5 Elaborazione dati

I dati acquisiti nel corso delle differenti fasi della sperimentazione sono stati processati e filtrati mediante l'uso del software Mathcad 7 Professional. Mathcad è una applicazione di calcolo e presentazione allo stesso tempo che consente, attraverso la sua interfaccia, di integrare liberamente annotazioni, risolvere calcoli, analizzare funzioni matematiche e visualizzare i risultati attraverso grafici ed animazioni. L'ambiente si avvale di un motore di calcolo sia numerico che simbolico.

Oltre alla vasta classe delle funzioni integrate, che coprono campi che vanno dalla statistica all'analisi, dall'ottimizzazione al calcolo matriciale, l'ambiente offre la possibilità di realizzare programmi e nuove funzioni nel suo linguaggio di programmazione. Con Mathcad si possono inoltre utilizzare anche linguaggi di programmazione tradizionale, come C/C++ e creare delle macro o script per automatizzare processi ripetitivi, attraverso VBScript, Jscript. E' infine possibile integrare componenti sviluppate in Matlab, Excel o Axum attraverso opportuni wizard.

Può essere integrato anche con il pacchetto MS Office. Come pacchetti opzionali, sono inoltre disponibili librerie di funzioni "verticali", come quelle relative all'Analisi del segnale e delle immagini, l'analisi numerica o la termodinamica.

Una volta elaborati i dati sono stati rappresentati utilizzando il programma Grapher7 Golden Software ed il programma di rappresentazione grafica Ocean Data View 4.6.

Ocean Data View è un programma utilizzato per visualizzare dati di stazioni oceanografiche compatibile con molti tra i più comuni formati di dati utilizzati nella ricerca marina.

Possono essere visualizzate sia variabili standard derivate, sia variabili calcolate internamente dal programma. Il programma consente, inoltre, di creare sezioni di profili e plot di superfici (una variabile può essere plottata con un valore specifico di una qualsiasi altra variabile) usando uno specifico layout di coordinate cartesiane. I dati plottati possono essere facilmente visualizzati in vari tipi di formati.

## 6. RISULTATI

### 6.1 Analisi spettrometriche della componentistica ottica

Di seguito si riportano le caratteristiche spettrali dei dispositivi elettro-ottici selezionati e testati durante la fase di realizzazione del sensore (LED, filtri ottici, vetri ottici, fotodiodo).

#### LED

| LED CODE        | SIZE (mm) | Fv  | Pfv  | Pd   | Ot         |
|-----------------|-----------|-----|------|------|------------|
| XSL-355-5E      | 5         | 25  | 100  | 100  | -30 to +80 |
| XSL-365-5E      | 5         | 25  | 100  | 100  | -30 to +80 |
| XSL-370-5E      | 5         | 25  | 100  | 100  | -30 to +80 |
| XRL-375-5E      | 5         | 25  | 100  | 100  | -30 to +80 |
| UVLED-375-10-30 | 5         | 20  | 80   | 85   | -30 to +85 |
| XLS-375-5E      | 5         | 25  | 100  | 100  | -30 to +80 |
| H2A1-H365-E     | exagonal  | 350 | 1000 | 1000 | -30 to +85 |

Tab. 6.1 : Fv: Forward Current (mA); Pfv: Pulse Forward Current (mA); Pd: Power Dissipation (mW); Ot: Operating Temperature (°C)

| LED CODE        | Fv  | Pfv  | Pw     | Φ           | Eint    | Ep     |
|-----------------|-----|------|--------|-------------|---------|--------|
| XSL-355-5E      | 20  | 100  | 353.42 | 0.8 – 1.2   | 9.87    | 0.43   |
| XSL-365-5E      | 20  | 100  | 368.4  | 2.4 – 6.0   | 43.28   | 2.13   |
| XSL-370-5E      | 20  | 100  | 372.34 | 4.0 – 6.0   | 88.31   | 4.88   |
| XRL-375-5E      | 20  | 100  | 376.28 | 6           | 253.29  | 16.39  |
| UVLED-375-10-30 | 20  | 100  | 378.64 | 19.0 – 26.0 | 156.71  | 6.51   |
| XSL-375-5E      | 20  | 80   | 373.13 | 6.8 – 13.6  | 107.11  | 9.75   |
| H2A1-H365-E     | 350 | 1000 | 367.61 | 135         | 3035.02 | 166.67 |

Tab. 6.2 : Fv: Forward Current (mA); Pw: Peak wavelength (nm); Pfv: Pulse Forward Current (mA); Φ: Total Radiant Power (mW); E = Integrated Irradiance ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ); Ep = Peak Irradiance ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ )

Il criterio di selezione dei LED si è basato sulla scelta di LED commerciali caratterizzati da un picco di intensità spettrale nel range di lunghezze d'onda della banda di eccitazione caratteristica delle molecole CDOM, da un basso costo ed infine da un basso valore di angolo di emissione, il quale diminuisce i fenomeni di riflessione all'interno della cella. I LED selezionati per la sorgente di eccitazione del fluorimetro CDOM (Tab. 6.1, Tab. 6.2) sono caratterizzati da un picco di emissione nella regione spettrale del UV con picchi di 355, 365, 370 e 375 nm. I grafici (Fig. 6.1) mostrano

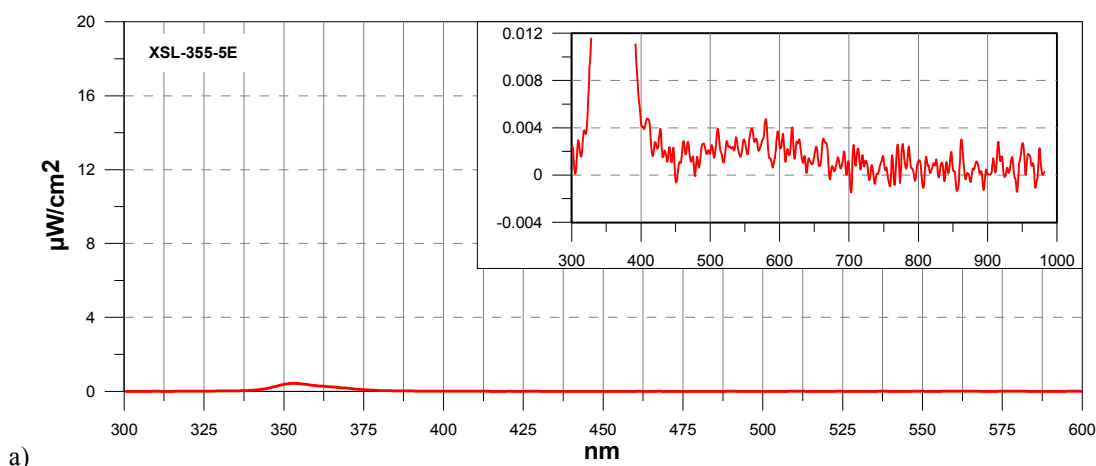


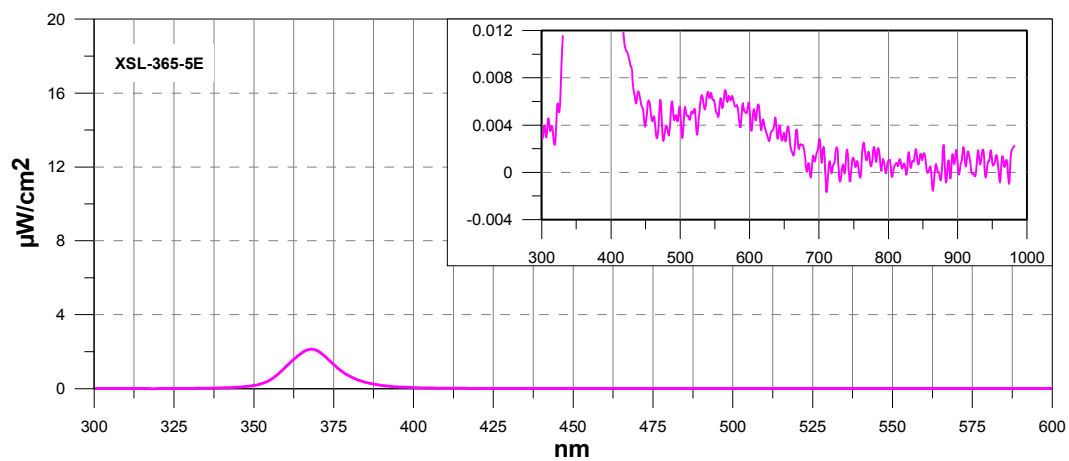
come il LED XSL-355-5E nm sia quello con intensità minore, rilevando un valore di irradianza massima  $E_p = 0.43 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  in corrispondenza della lunghezza d'onda di 353.42 nm e di  $9.87 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  di irradianza integrata nell'intervallo 300-420 nm.

Anche il LED XSL-365-5E è caratterizzato da bassi valori di irradianza ( $E_p = 2.13 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ;  $E_{\text{int}} = 43.28$ ). I LED con lunghezza d'onda massima superiore ai 370 nm presentano, invece, intensità spettrali maggiori, con valori di massima  $E_p$  e di irradianza integrata nell'intervallo 300-420 nm rispettivamente di 4.88 – 88.31 (XSL-370-5E), 16.39 – 253.29 (XRL-375-5E), 6.51 – 156.71 (UVLED-375-10-30) e 9.75 – 107.11 (XSL-375-5E).

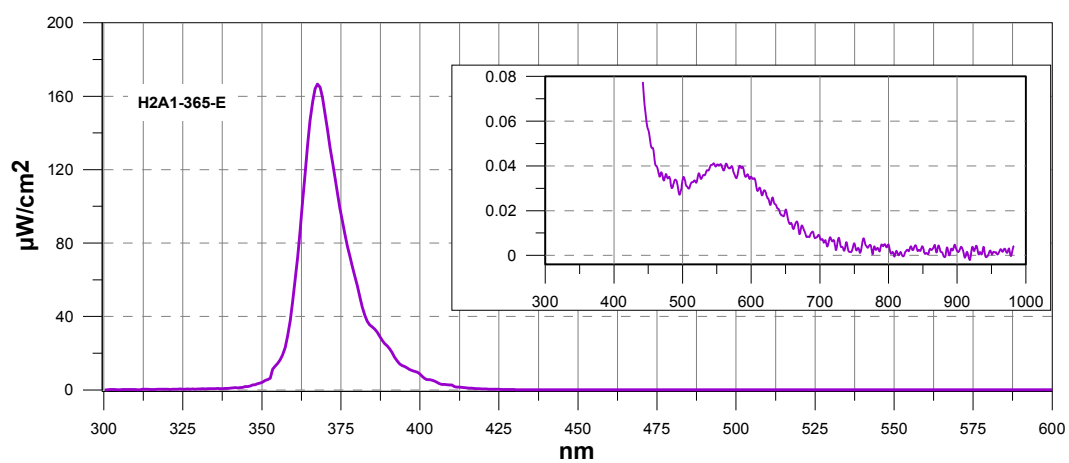
A differenza dei LED a bassa potenza, il LED H2A1-365-E appartenente alla categoria degli High-Power LED, presenta i valori di irradianza più alti fra tutti i LED sottoposti a test, con irradianza massima  $E_p = 166.67 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  in corrispondenza della lunghezza d'onda di 367.61 nm e di  $3035 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  di irradianza integrata nell'intervallo 300-420 nm.

L'analisi spettrale dei LED ha messo in evidenza la presenza di un secondo picco di intensità compreso tra i 500 ed i 700 nm con valori di irradianza variabili a seconda della potenza di ciascun LED. Tale segnale luminoso costituisce una potenziale fonte di rumore del sensore in quanto si sovrappone alla banda spettrale caratteristica della fluorescenza CDOM (400-600 nm).

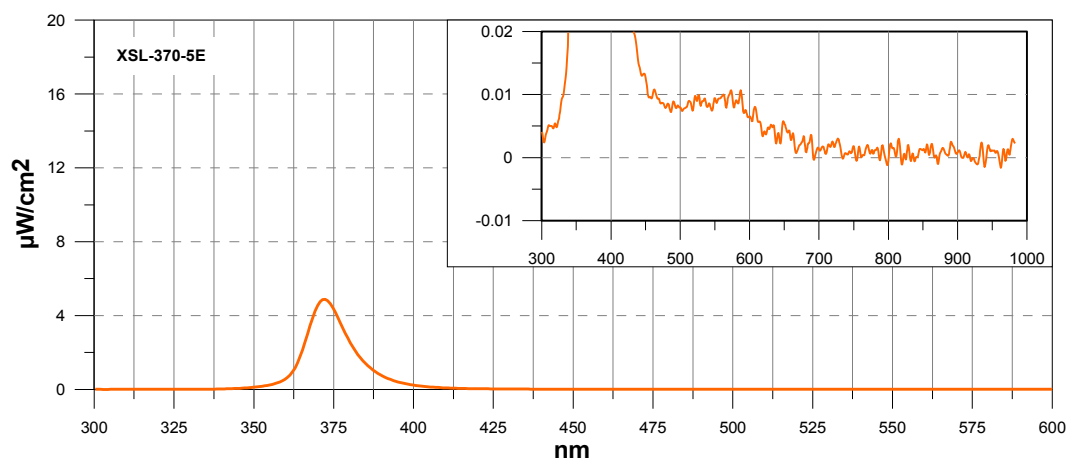




b)



c)



d)

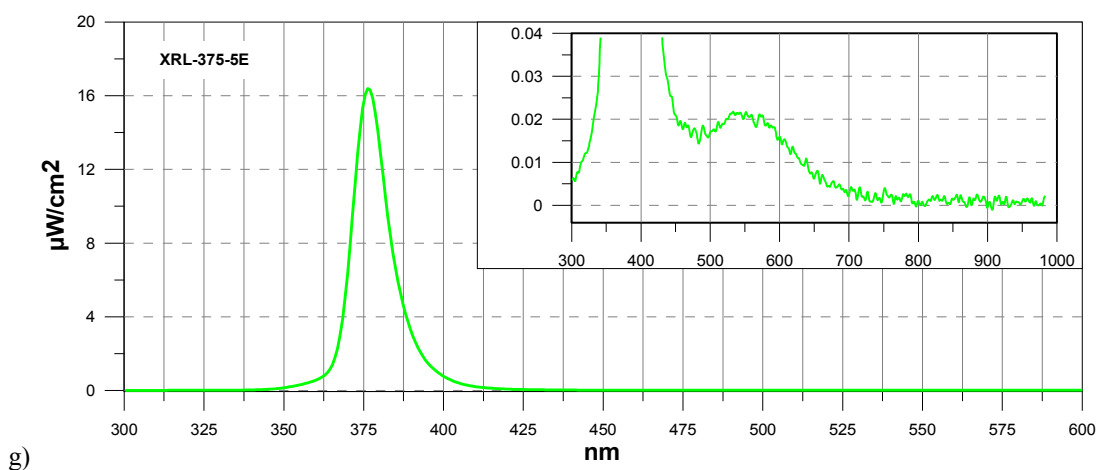
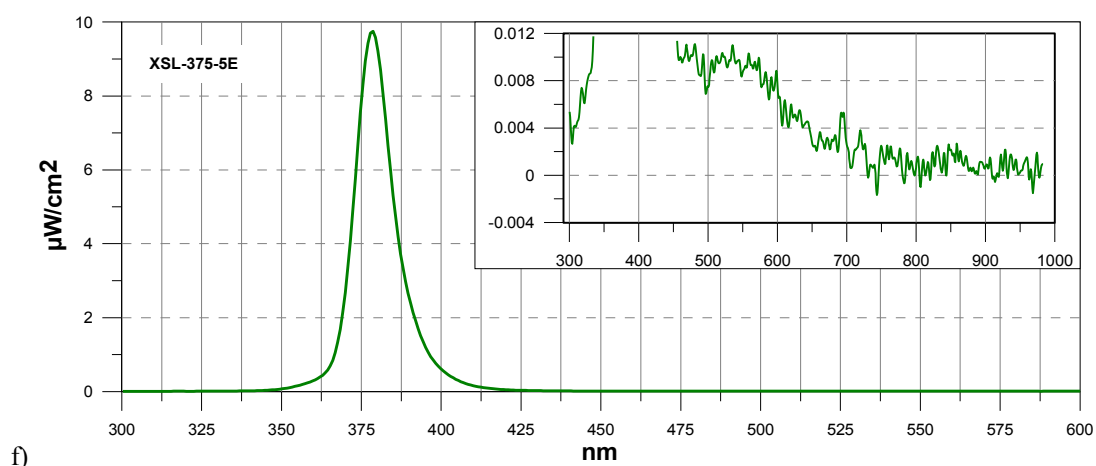
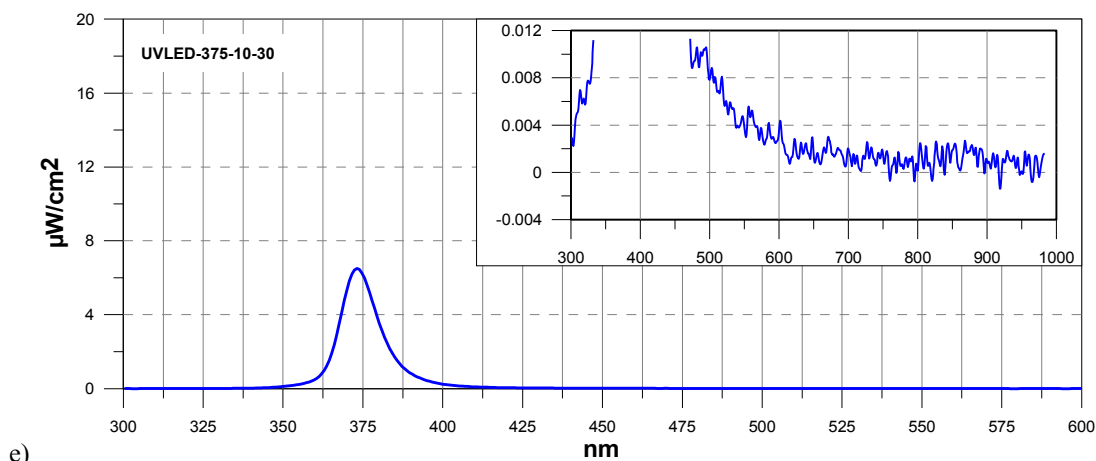


Fig. 6.1 (a,b,c,d,e,f,g) Spettri di emissione dei LED testati per la realizzazione del prototipo *Spectra*

I grafici di figura (Fig. 6.2) riportano le curve voltaggio-corrente specifiche dei LED testati. I LED XSL-370-5E ED XRL-375-5E richiedono voltaggi maggiori a 20 mA (3.8 e 3.9 V) rispetto agli altri (compresi tra 3.55 e 3.7 V). L'andamento della curva voltamperometrica relativa al LED di tipo High-Power (H2A1-H365-E) individua una tensione in uscita caratteristica di 3.6 V ad una corrente costante di 350 mA.

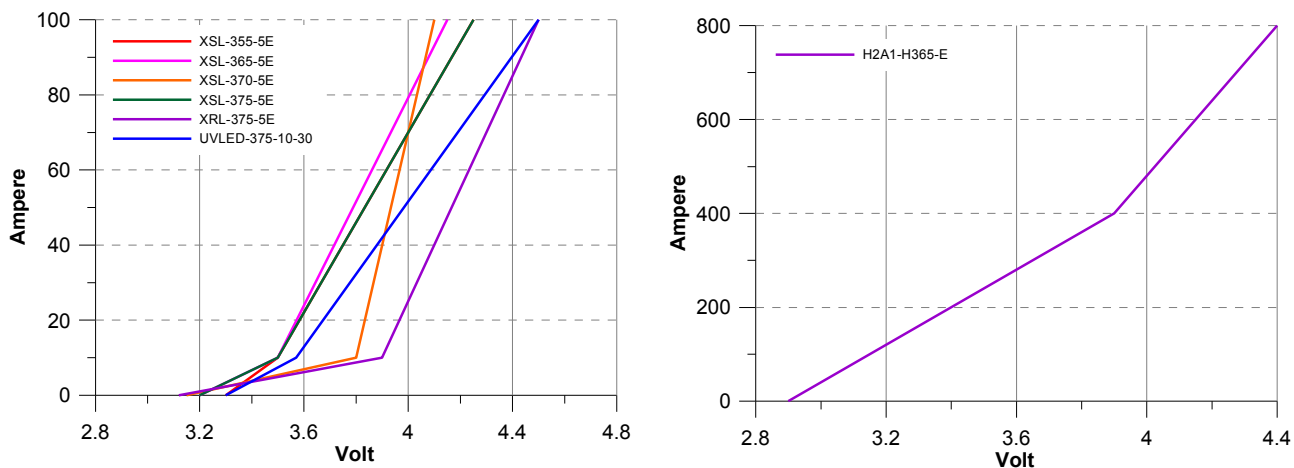


Fig. 6.2. Curve voltaggio-corrente specifiche dei LED testati

## FILTRI OTTICI

### Filtro ottico di emissione

Per la selezione del filtro ottico della sorgente di eccitazione, sono stati testati un filtro in plexiglass ed un filtro interferenziale di tipo *short-pass*. Nel primo caso è stata valutata l'ipotesi di utilizzare un materiale a basso costo, quale il plexiglass, in grado di far passare la radiazione UV.

Dal grafico di Fig 6.3 si osserva che la trasmissione % del plexiglass presenta valori inferiori all'80% in corrispondenza del picco massimo di emissione della sorgente LED di eccitazione, assumendo valori compresi tra 80 e 85 % al di sopra dei 400 nm.

Il filtro interferenziale *short-pass* presenta un valore di trasmissione % massima per le lunghezze d'onda inferiori ai 390 nm ed una banda spettrale di trasmissione minima (<0.2 %) compresa tra 400 e 620 nm (Fig. 6.4).

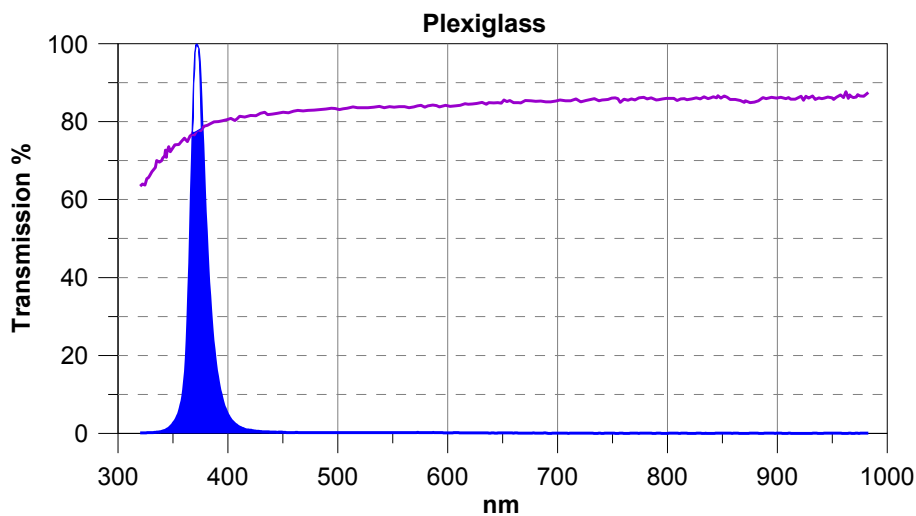


Fig. 6.3. Spettro di trasmissione del filtro in plexiglass sovrapposto allo spettro di emissione del LED

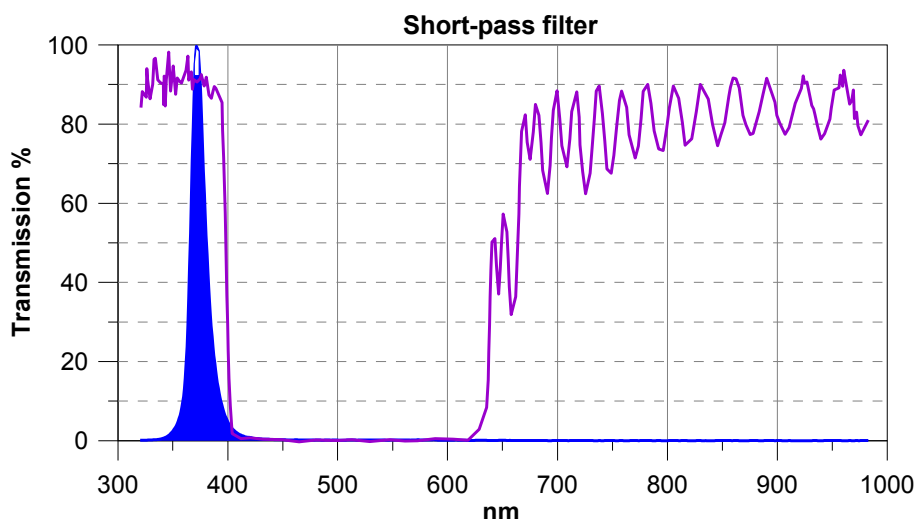


Fig. 6.4. Spettro di trasmissione del filtro *short-pass* sovrapposto allo spettro di emissione del LED

### Filtro ottico di ricezione

I filtri ottici testati per la ricezione del segnale di fluorescenza CDOM appartengono a 3 diverse categorie: filtri interferenziali *broad-band pass* (Fig. 6.5), filtri interferenziali *narrow-band pass* (Fig. 6.6) ed i filtri *IR-cut-off* (Fig. 6.7).

Nel primo caso i filtri presentano una banda selettiva di trasmissione che si sovrappone alla banda di emissione massima di fluorescenza CDOM caratteristica. Dei due filtri testati, è possibile notare la differente trasmissione massima percentuale di picco (linea blu  $T=95\%$ , linea rossa  $T=45\%$ ). Inoltre, il filtro che presenta lo spettro più idoneo all'impiego nel modulo di ricezione è quello avente valori di trasmissione minimi al di sopra dei 500 nm (linea blu). I filtri *narrow-band pass* testati presentano un andamento spettrale simile, con una banda di trasmissione molto stretta ed un picco massimo in corrispondenza dei 370 nm (linea blu  $T=92\%$ , linea rossa  $T=48\%$ ).

L'andamento della trasmissione spettrale del filtro *IR-cut off* presenta una finestra ottica di trasmissione massima compresa tra i 400 ed i 600 nm ( $T=90\%$ ). Il filtro è in grado di bloccare il passaggio della radiazione di lunghezza d'onda compresa tra 600 ed 800 nm, non risultando non-selettivo a lunghezze d'onda maggiori di 800 nm.

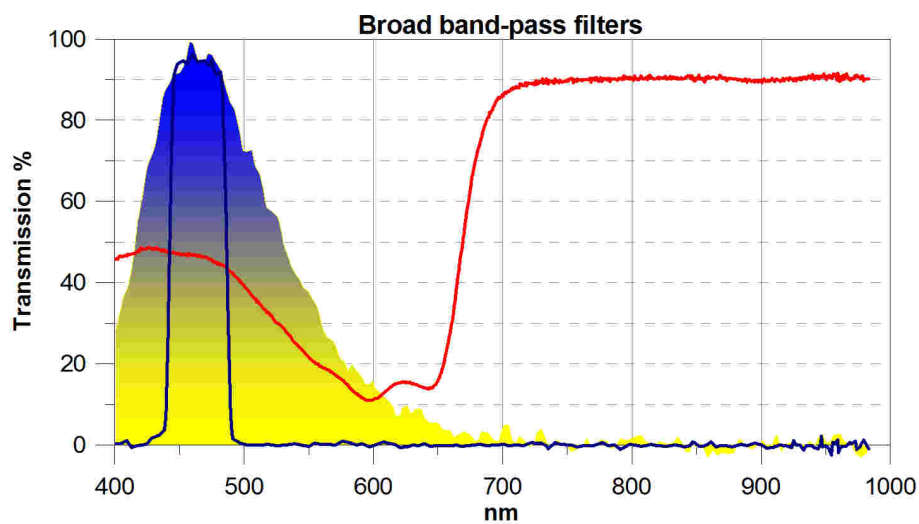


Fig. 6.5 Spettro di trasmissione dei filtri *broad band-pass* testati sovrapposti allo spettro di fluorescenza CDOM

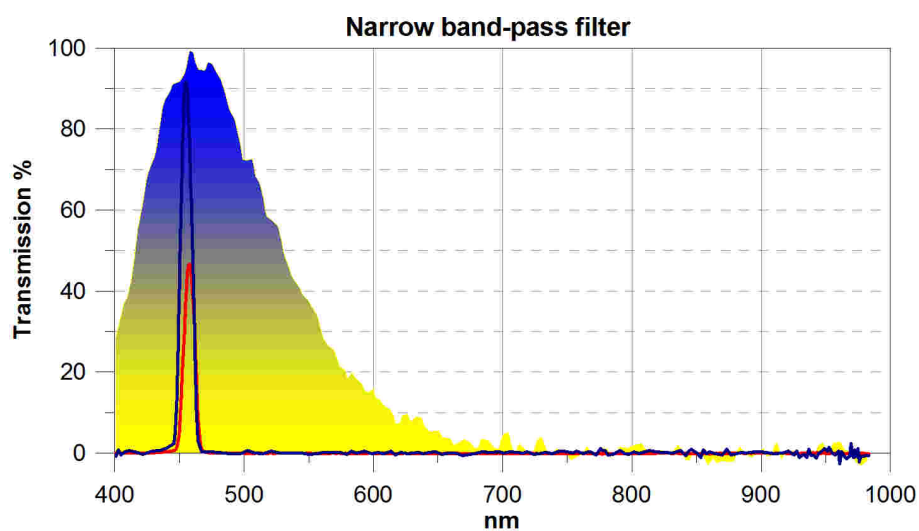


Fig. 6.6. Spettro di trasmissione dei filtri *narrow band-pass* testati sovrapposti allo spettro di fluorescenza CDOM

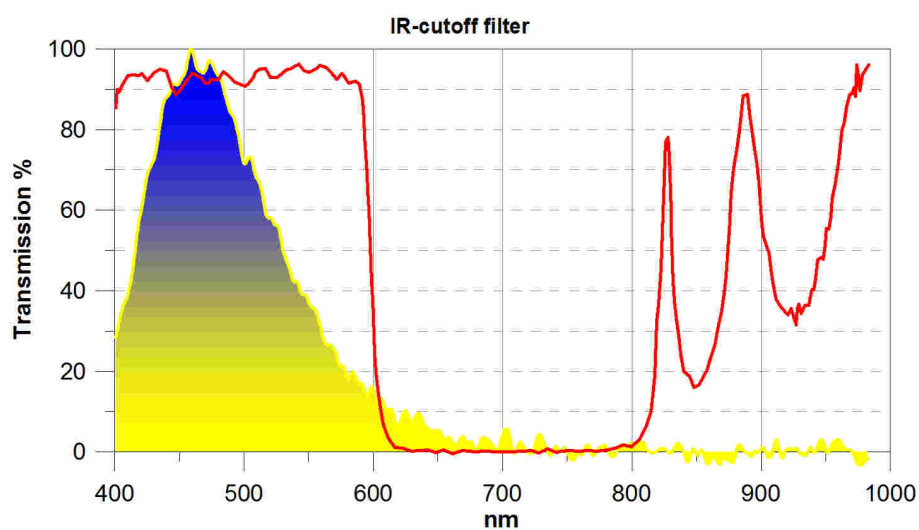


Fig. 6.7. Spettro di trasmissione del filtro *IR-cutoff* sovrapposto allo spettro di fluorescenza CDOM

## Lenti

Le lenti selezionate per il modulo di emissione e di ricezione sono rispettivamente una lente asferica in quarzo in grado di far passare le lunghezze d'onda UV-VIS ed una lente piano convessa acrilica.

Dal momento che le lenti sono state oggetto di test in fasi precedenti della sperimentazione sui sensori di fluorescenza della clorofilla *a*, l'interesse in questa fase sperimentale è stato quello di verificare l'effetto ottico prodotto dalla lente asferica sulla sorgente di eccitazione.

Il grafico di figura 6.8 mostra come l'inserimento della lente asferica nel modulo di emissione produca un incremento dell'intensità del fascio di luce eccitante di 3.6 volte.

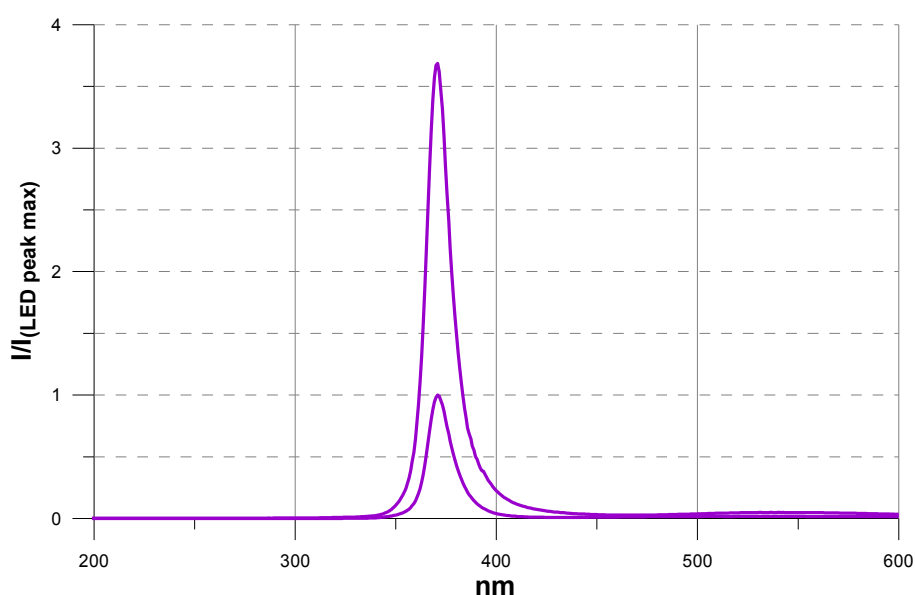


Fig. 6.8. Contributo della lente asferica all'incremento di intensità del LED

## Vetri ottici

L'inserimento nei moduli di emissione/ricezione di vetri ottici trasparenti alla radiazione incidente costituisce un valido supporto alle fasi di manutenzione della sensoristica, soprattutto nell'evitare che il fenomeno del *biofouling* possa danneggiare direttamente le ottiche dello strumento. Il grafico di figura 6.9 mette in evidenza l'elevata capacità di trasmissione del vetro ottico selezionato per entrambi i moduli di misura, presentando valori di trasmissione % che oscillano su tutto il range UV-VIS intorno al valore di 95%.

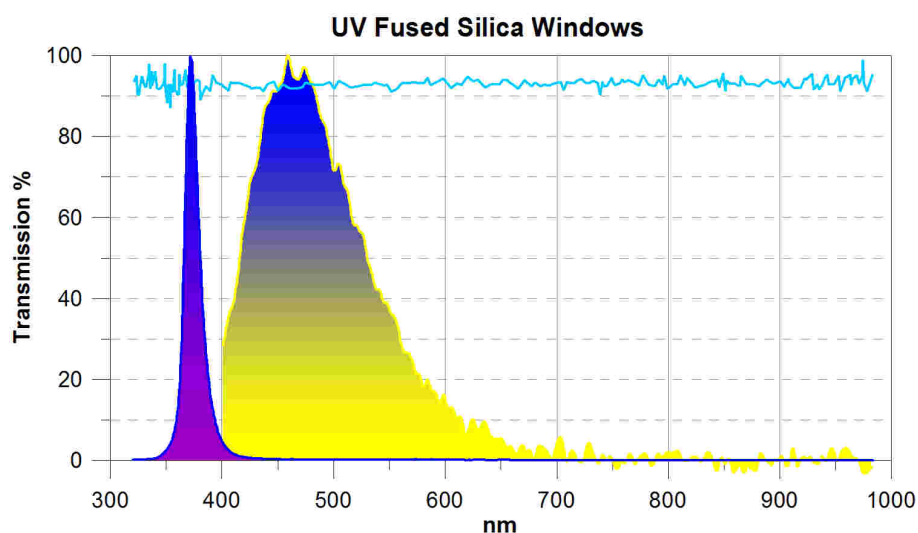
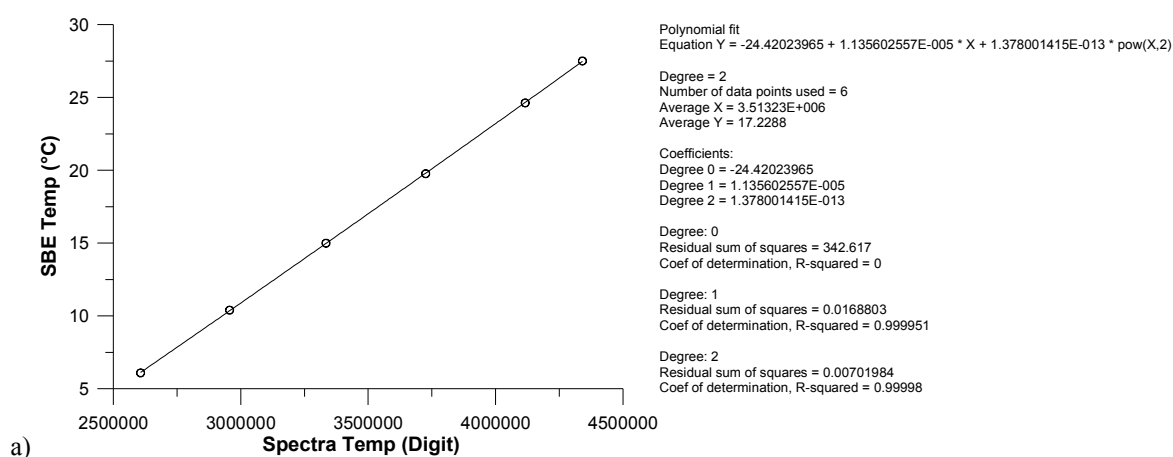


Fig. 6.9. Spettro di trasmissione del vetro ottico selezionato sovrapposto allo spettro di emissione del LED (blu-viola) ed a quello caratteristico di fluorescenza CDOM

## 6.2 Calibrazione dei sensori

Di seguito si riportano i risultati delle calibrazioni dei sensori *Spectra* effettuate in laboratorio.

Le curve di regressione (Fig. 6.10 a, b, c, d), ottenute dal confronto tra i dati digitali dei sensori con le misure di riferimento, hanno permesso di calcolare l'equazione di trasformazione dei segnali in uscita, mostrando un'elevata correlazione statistica per tutti i sensori testati (Temperatura  $R^2=0.99$ ; Conducibilità  $R^2=0.98$ ; Fluorescenza CDOM  $R^2=0.99$ ; Fluorescenza Chl a  $R^2=0.99$ ).





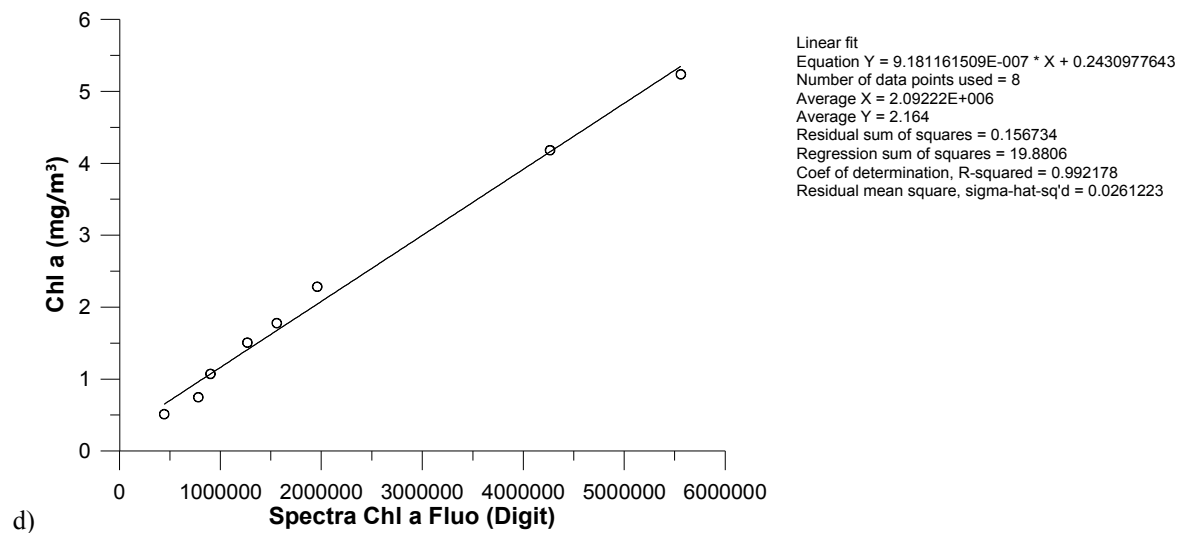
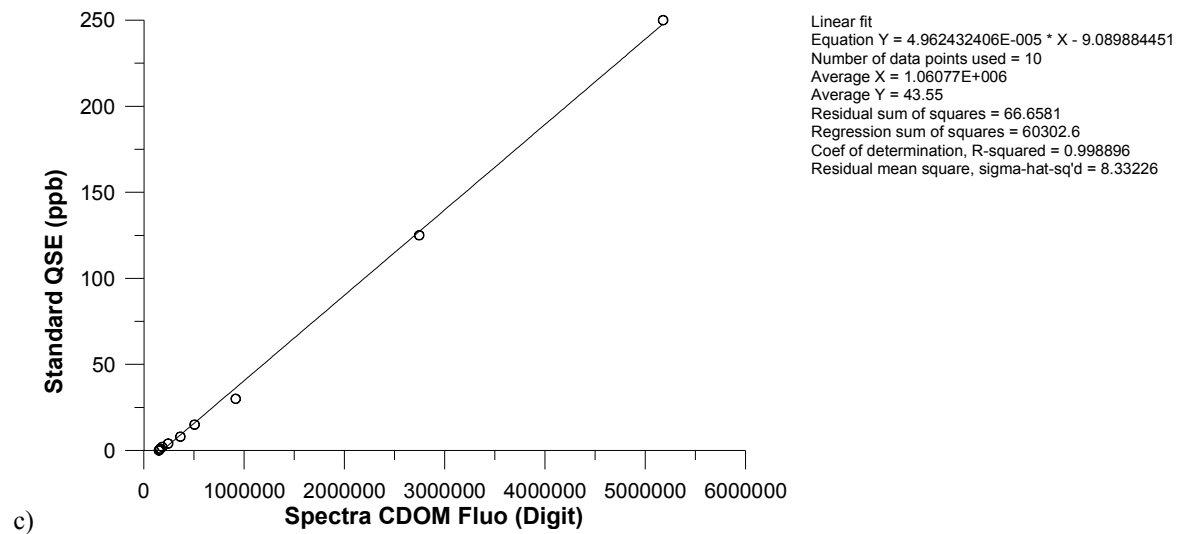
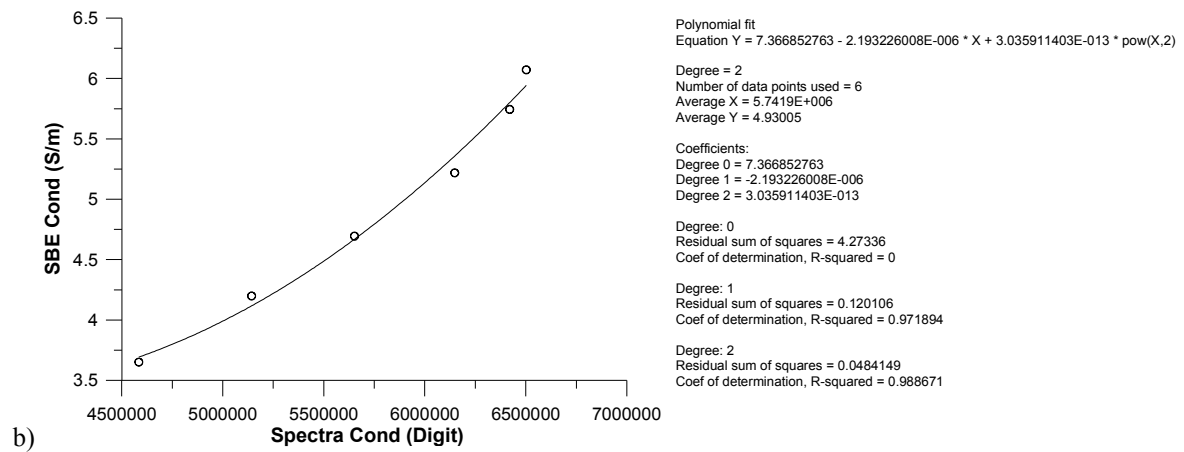


Fig. 6.10. Curve di regressione ottenute dal confronto tra i dati digitali dei sensori con le misure di riferimento relative alla temperatura (a), conducibilità (b), fluorescenza CDOM (c) e fluorescenza Chl a (d)

### 6.3 Compensazione della temperatura sulle misure di fluorescenza

I risultati relativi alle misure di fluorescenza in funzione della temperatura mostrano che l'intensità della fluorescenza misurata dai sensori fluorimetrici CDOM e Chl a è correlata negativamente alla temperatura. La regressione lineare (18) che descrive la relazione tra le due variabili è la seguente:

$$Fm(T) = Fa + m(Tm - Ta) \quad (18)$$

dove  $Fm(T)$  è la fluorescenza misurata alle differenti temperature  $Tm$ ,  $Fa$  è l'intercetta della retta corrispondente alla fluorescenza misurata alla temperatura di riferimento  $Ta$  (20°C) ed  $m$  è la pendenza della retta.

Dall'equazione 18 si è proceduto al calcolo del coefficiente termico specifico della fluorescenza  $\rho$  (°C<sup>-1</sup>) come il rapporto  $m/Fa$ . I coefficienti calcolati sono stati utilizzati per applicare l'equazione di compensazione dell'effetto della temperatura sulla fluorescenza (19) proposta da Watras et al., 2014:

$$F_{ma} = F_m * (1 - \rho (T_m - T_a)) \quad (19)$$

Applicando l'equazione ai valori di fluorescenza misurati dai sensori, è stato rimosso l'effetto della temperatura sui dati (Fig. 6.11). (

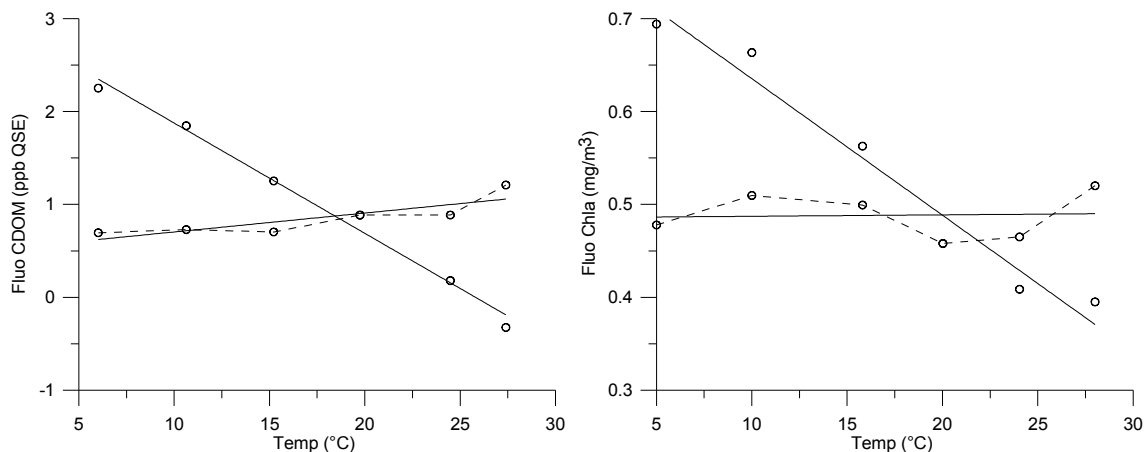


Fig. 6.11. Compensazione della temperatura sulle misure di fluorescenza CDOM e fluorescenza Chl a

I risultati di fig. 6.12 mostrano la risposta dell'offset strumentale alle variazioni di temperatura del volume d'acqua. E' possibile notare come i canali della cella 2, CDOM e torbidità, presentano una generale diminuzione del segnale all'aumentare della temperatura, con un  $\Delta$  Digit

mediano di 43892 e 405855 relativo ad un  $\Delta T$  di 21.4207 °C da 5 a 28 °C. I canali di fluorescenza della cella 1, invece, mostrano una diminuzione dei valori da 5 a 20 °C di 54447 e 199472 digit ed un aumento degli stessi di 178413.5 e 180329 digit da 20 a 28 °C.

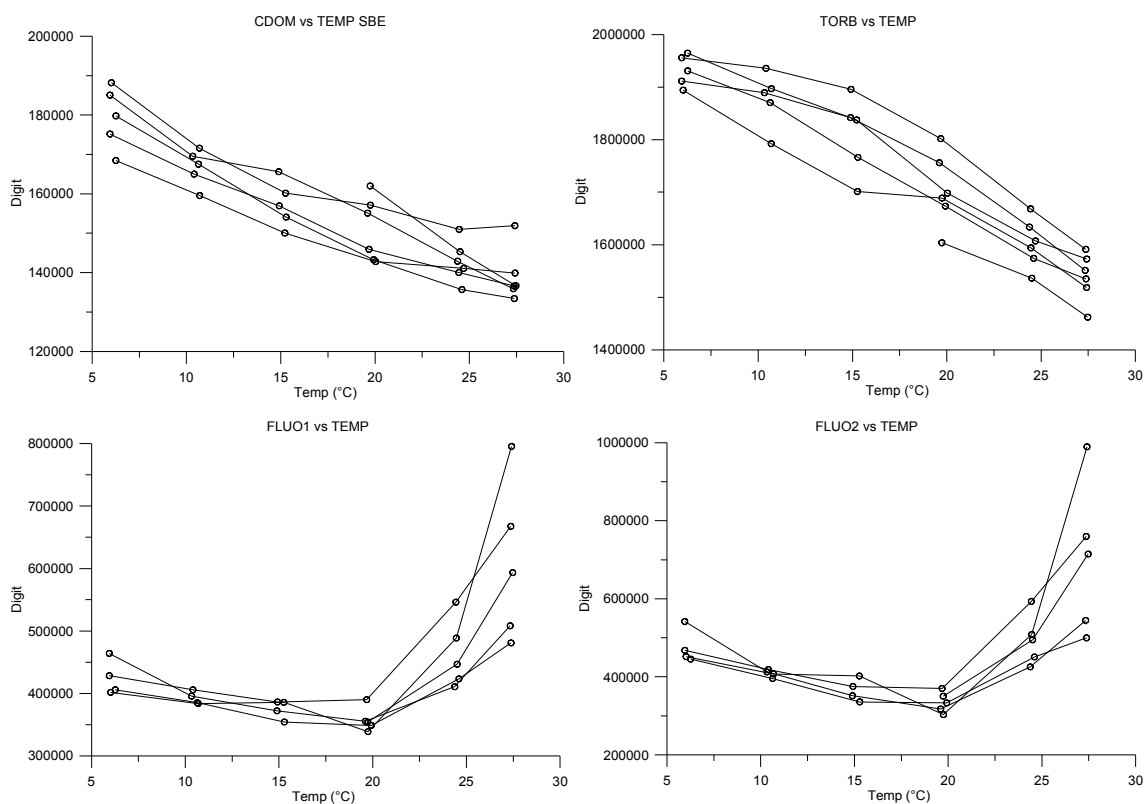


Fig. 6.12. Risposta dell'offset strumentale dei sensori *Spectra* alle variazioni di temperatura

## 6.4 Misure *in situ*

### 6.4.1 Campagna STIGE

La tabella 6.3 mostra i risultati relativi ai parametri temperatura, salinità, fluorescenza CDOM, concentrazione della clorofilla *a* e dei solidi sospesi misurati durante la campagna STIGE.

| Stazione | Temperatura (°C) | Salinità (psu) | Fluo CDOM (ppb QSE) | Chl a (mg/m3) | TSM (mg/L) |
|----------|------------------|----------------|---------------------|---------------|------------|
| FR01     | 19.912           | 37.995         | 15.663              | 3.305         | 14.1       |
| FR03     | 17.128           | 21.953         | 44.461              | 3.199         | 17.1       |
| FR04     | 13.763           | 6.231          | 41.041              | 3.732         | 34.7       |
| FR05     | 19.977           | 38.205         | 13.47               | 0.746         | 8.4        |
| FR06     | 19.579           | 38.18          | 7.703               | 0.586         | 9.7        |
| FR07     | 19.672           | 38.121         | 6.371               | 0.533         | 8.7        |
| FR08     | 19.585           | 38.216         | 11.711              | 0.586         | 8.6        |
| FR09     | 19.704           | 38.322         | 8.224               | 0.586         | 8.4        |
| MR01     | 18.937           | 37.703         | 10.32               | 0.773         | 9.8        |
| MR02     | 19.766           | 38.024         | 5.945               | 0.64          | 8.0        |
| MR03     | 19.188           | 38.133         | 6.237               | 0.533         | 7.7        |
| MR04     | 19.947           | 38.076         | 6.182               | 0.586         | 8.5        |
| MR05     | 20.047           | 37.905         | 25.185              | 0.533         | 8.9        |
| MR06     | 19.766           | 37.882         | 11.449              | 0.613         | 8.6        |
| MR07     | 19.729           | 38.097         | 7.633               | 0.693         | 8.8        |
| MR08     | 19.192           | 38.173         | 6.501               | 0.586         | 8.6        |
| MR09     | 20.105           | 38.165         | 5.187               | 0.48          | 7.8        |
| MR10     | 19.621           | 38.151         | 6.638               | 0.427         | 8.2        |
| MR11     | 20.841           | 38.215         | 4.524               | 0.133         | 6.7        |
| MG01     | 19.434           | 36.855         | 17.228              | 0.506         | 14.7       |
| MG02     | 20.483           | 37.882         | 9.718               | 0.267         | 9.2        |
| MG03     | 20.772           | 38.097         | 8.181               | 0.267         | 7.7        |
| MG04     | 21.186           | 38.173         | 4.743               | 0.228         | 7.7        |
| MG05     | 20.834           | 38.165         | 8.431               | 0.16          | 7.8        |
| MG06     | 21.043           | 38.151         | 6.161               | 0.217         | 7.6        |
| MG07     | 20.576           | 38.215         | 7.393               | 0.4           | 7.4        |
| MG08     | 20.602           | 38.173         | 8.175               | 0.32          | 7.7        |
| MG09     | 20.371           | 38.165         | 6.514               | 0.48          | 7.9        |
| MG10     | 20.621           | 38.151         | 9.955               | 0.213         | 7.9        |
| MG11     | 20.712           | 38.215         | 5.652               | 0.267         | 7.3        |
| MG12     | 20.75            | 38.173         | 6.897               | 0.213         | 7.4        |

Tab. 6.3. Temperatura, salinità, fluorescenza CDOM, concentrazione Chl a e TSM relativi alle stazioni STIGE

La distribuzione orizzontale della temperatura (Fig. 6.13) mette in evidenza come questa variabile separi l'area di studio in due macro aree termiche, una a nord, tra il fiume Fiora ed il fiume Mignone, con temperature inferiori ai 20 °C ed una a sud della Centrale di Torrevaldaliga dell'Enel con temperature superiori ai 20°C. I valori di temperatura più bassi sono stati rilevati in corrispondenza delle stazioni FR04 ed MR01 con valori rispettivamente di 13.76 e 18.94 °C. Il valore più alto viene rilevato in corrispondenza della stazione MG04, localizzato nell'area prospiciente la Centrale di Torrevaldaliga dell'Enel, con un valore di 21.18 °C. Le acque fluviali vengono individuate dai piu' bassi valori di salinità registrati nell'area di studio, con valori rispettivamente di 6.23, 21.95 e 37.99 psu in corrispondenza del transetto effettuato lungo l'asta principale del fiume Fiora, di 37.88 e 36.85 psu nelle stazioni antistanti i fiumi Marta e Mignone.

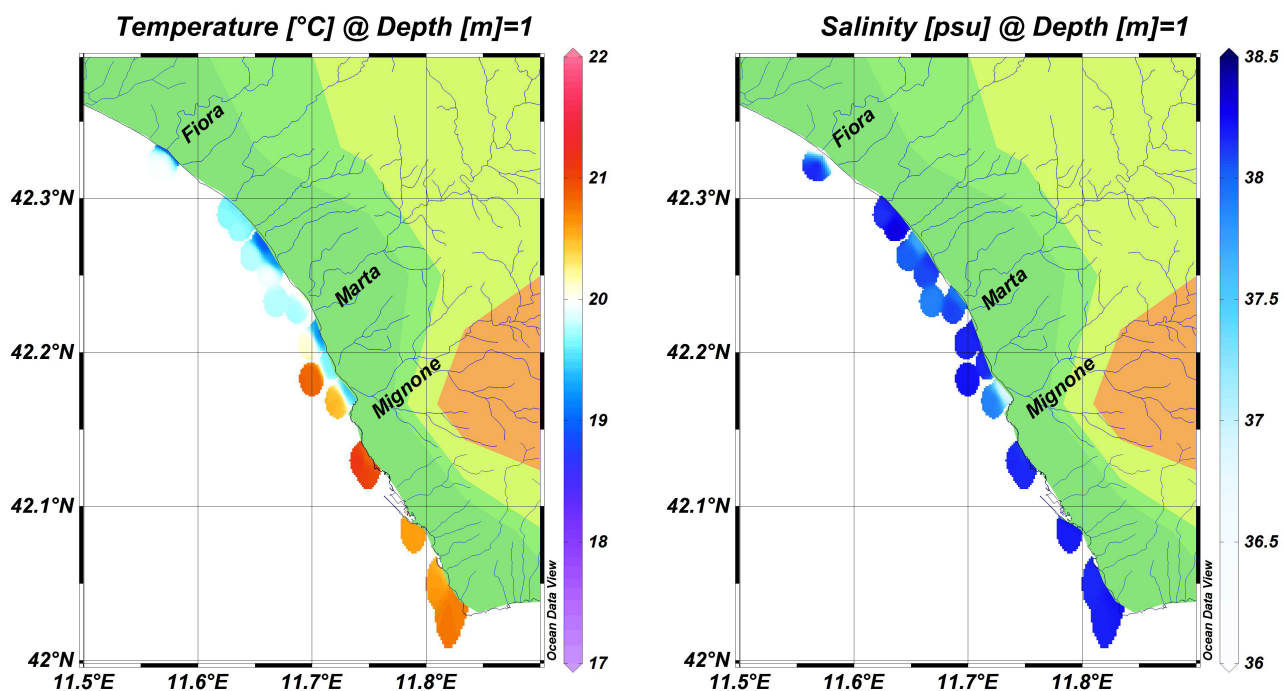


Fig. 6.13 Distribuzione superficiale della temperatura e della salinità (campagna STIGE)

Per quanto riguarda la distribuzione della concentrazione di clorofilla *a* si osservano valori massimi in corrispondenza delle stazioni antistanti il fiume Fiora, con valori che vanno da 3.73 mg/m<sup>3</sup> nella parte più interna del transetto a 0.74 mg/m<sup>3</sup> in corrispondenza della stazione a mare.

Le analisi relative alla determinazione dei solidi sospesi (Fig. 6.14) mostrano elevate concentrazioni di particolato in sospensione in corrispondenza dei fiumi Fiora e Mignone, con valori che vanno da 34.7 a 14.1 mg/L in corrispondenza del fiume Fiora e di 14.7 mg/L presso il fiume Mignone. Le stazioni posizionate nell'area di mare antistante il fiume Marta presentano valori più bassi rispetto agli altri fiumi, variando da 9.7 a 6.7 mg/L.

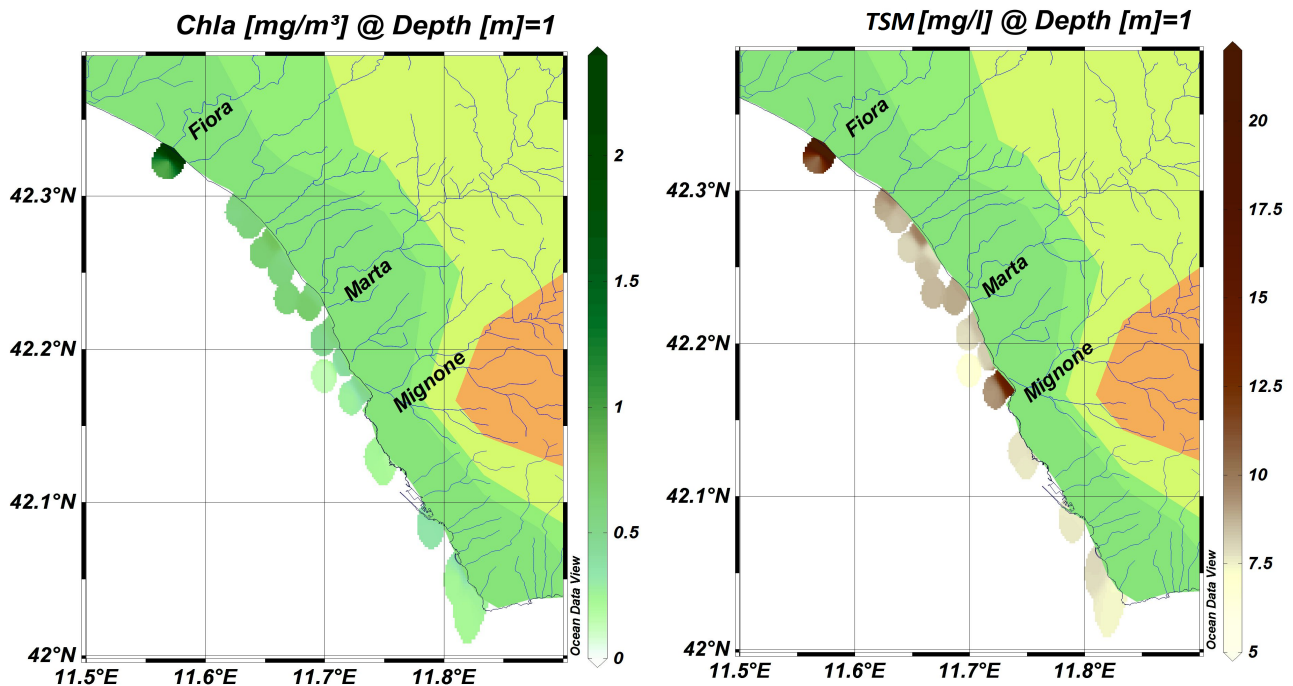


Fig. 6.14 Distribuzione superficiale della fluorescenza Chl a e di TSM (campagna STIGE)

Le misure di fluorescenza CDOM variano da un valore minimo di 4.52 ppb QSE (Quinine Sulfate Equivalent) in corrispondenza della stazione MR11 ed un valore massimo di 44.46 ppb QSE nella stazione FR03. La mappa di Fig 6.15 mostra che le aree antistanti le foci dei fiumi Fiora, Marta e Mignone sono caratterizzate da elevati carichi di materia organica disciolta con valori rispettivamente di 44.46, 25.18 e 17.22 ppb QSE. Da notare, inoltre, come le misure di fluorescenza CDOM risultano positivamente correlate con le misure di assorbimento CDOM a 375 nm, presentando un coefficiente di regressione  $R^2 = 0.96$  (Fig. 6.16).

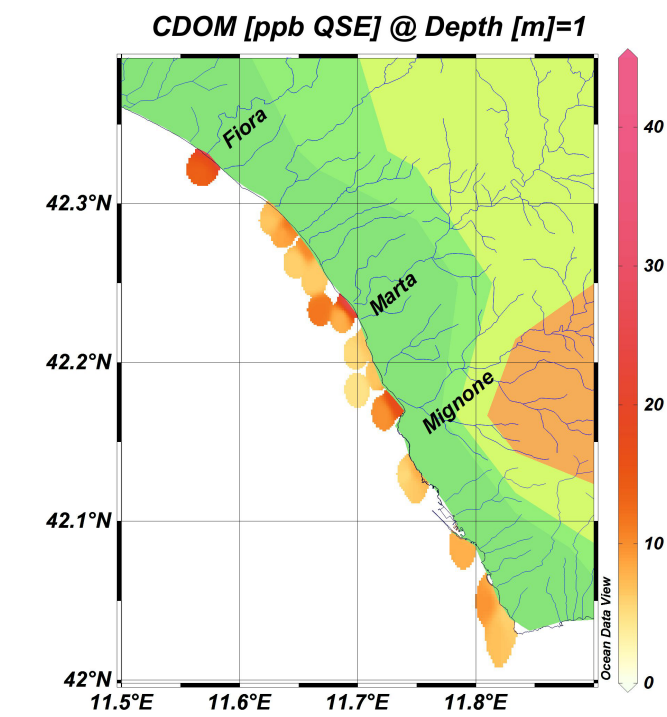


Fig. 6.15 Distribuzione superficiale della fluorescenza CDOM (campagna STIGE)

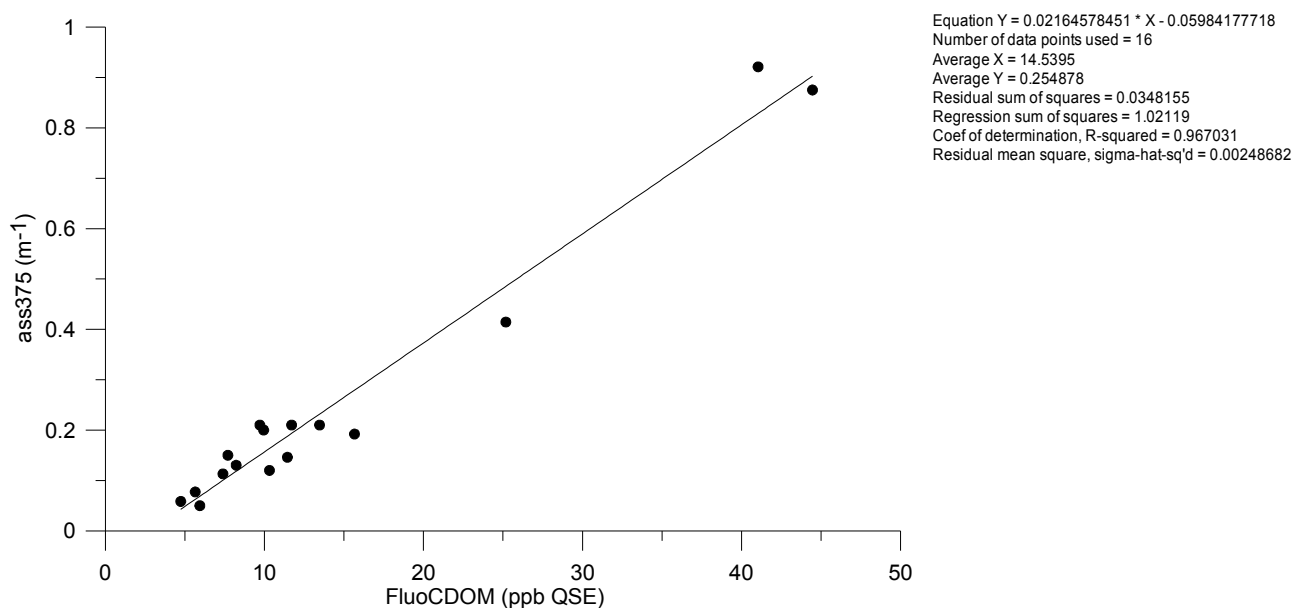


Fig. 6.16 Retta di regressione tra le misure di fluorescenza CDOM e il corrispondente valore di assorbimento a 375 nm

## 6.4.2 Campagne IOSMOS

*18-19 aprile 2013*

Le mappe superficiali relative ai parametri chimico-fisici acquisiti con la sonda Idronaut 316 Ocean Seven rilevano valori di temperatura compresi tra 15.96 e 17.04 °C, evidenziando una

variazione termica di 1°C tra le masse d'acqua prospicienti i fiumi Sinni ed Agri (a sud) ed il tratto di costa compreso tra i fiumi Cavone e Basento. Si evince, inoltre, la presenza di un gradiente termico costa-largo lungo i transetti dei fiumi Basento e Sinni, con una variazione dei valori di temperatura da 16.98 a 16.16 °C e da 16.99 a 15.96°C.

I valori superficiali di salinità rilevati nell'area di studio variano da 37.95 a 38 psu. In particolare, è possibile notare come i valori più bassi di salinità siano stati registrati in corrispondenza delle stazioni prossime alle foci dei fiumi con valori minimi rilevati in corrispondenza della stazione S14 posta alla foce del fiume Agri ( $S1 = 38.36$  psu - fiume Basento;  $S7 = 38.64$  psu – fiume Cavone;  $S14 = 37.95$  psu – fiume Agri;  $S22 = 38.46$  – fiume Sinni).

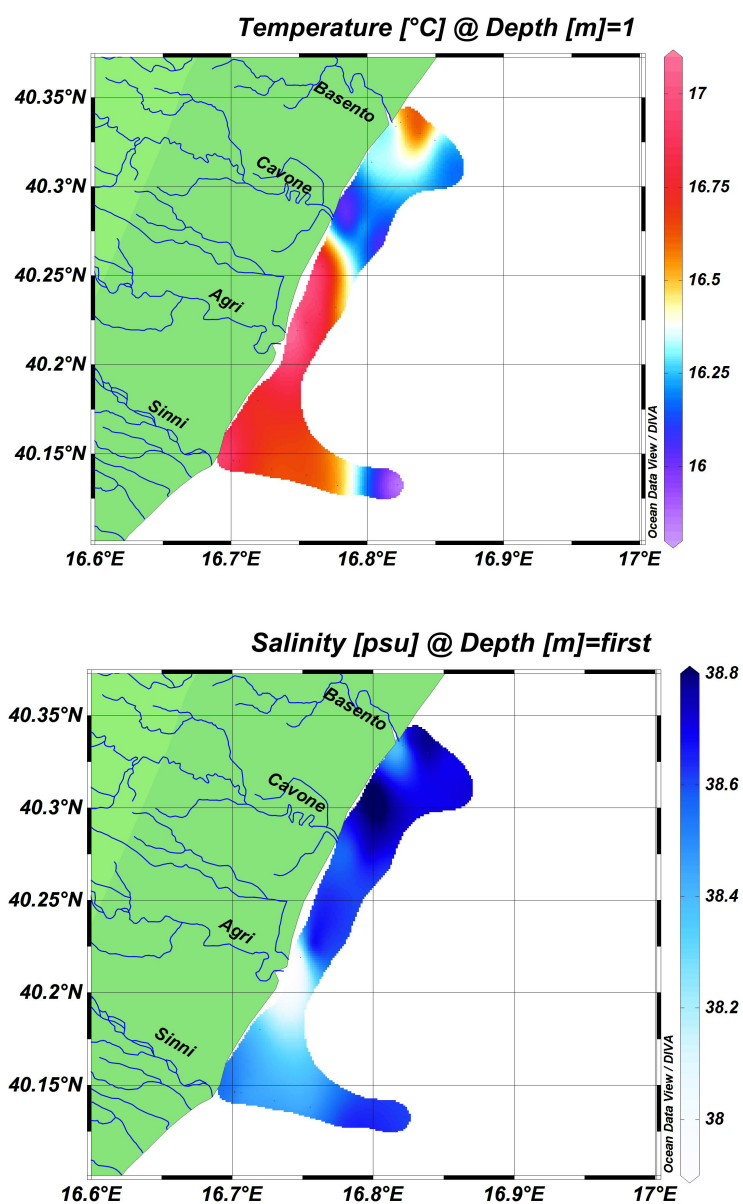


Fig. 6.17. Distribuzione superficiale della temperatura e della salinità (campagna IOSMOS-aprile)



La biomassa fitoplanctonica risulta caratterizzata da valori di concentrazione di clorofilla *a* compresi tra 0.2 e 0.8 mg/m<sup>3</sup>). La mappa di distribuzione orizzontale della clorofilla *a* (Fig. 6.18) mostra come i picchi di massima concentrazione vengano rilevati in corrispondenza delle stazioni nelle quali si registra una concentrazione minore di solidi sospesi (S1=0.77 mg/m<sup>3</sup>; S12=0.68 mg/m<sup>3</sup>). Per quanto riguarda, invece, il particolato in sospensione si osserva una variazione tra 4.7 e 16.4 mg/L, con un picco di concentrazione massima in prossimità della foce del fiume Agri (S14).

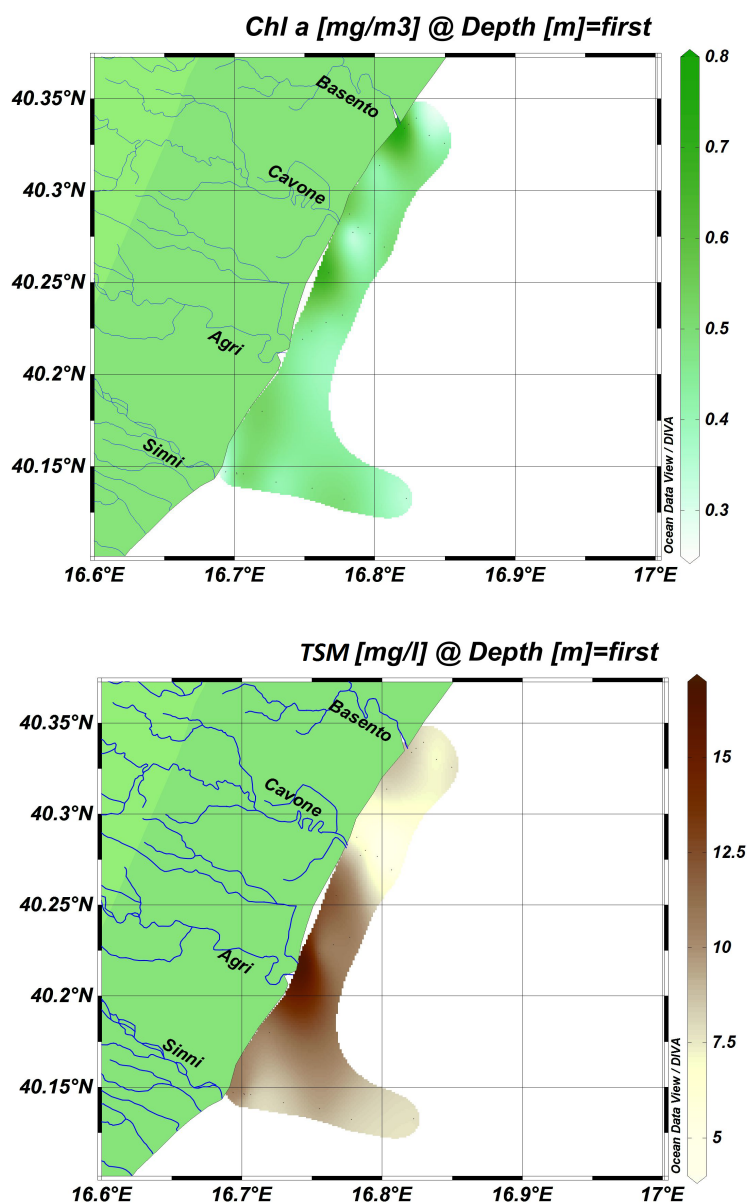


Fig. 6.18. Distribuzione superficiale della fluorescenza Chl a e di TSM (campagna IOSMOS-aprile)

Le misure di fluorescenza CDOM superficiale, effettuate con il sensore fluorimetrico sviluppato, presentano un range di variazione nell'intervallo 0.09 – 1.72 ppb QSE (Fig. 6.19),

presentando i valori massimi di concentrazione in corrispondenza delle stazioni costiere lungo i transetti posti dinanzi all'immissione dei fiumi Basento, Cavone ed Agri (S1=1.01 ppb QSE - fiume Basento, S9=1.72 ppb QSE- fiume Cavone, S14=1.52 ppb QSE- fiume Agri, ) e valori più bassi nelle stazioni poste tra un transetto e l'altro. Lungo il transetto posto dinanzi al fiume Sinni sono stati rilevati valori più bassi di fluorescenza CDOM rispetto agli altri fiumi monitorati, con una marcata distribuzione costa-largo da valori costieri di 0.92 (S22) a valori di 0.09 ppb SE in corrispondenza della stazione di largo S26.

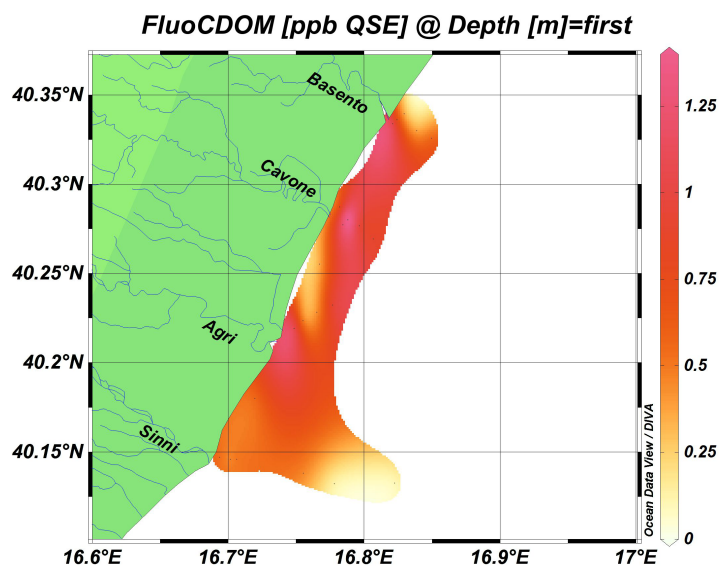


Fig. 6.19. Distribuzione superficiale della fluorescenza CDOM (campagna IOSMOS-aprile)

Di seguito si riportano i risultati relativi all'analisi delle proprietà ottiche inerenti (assorbimento del fitoplancton, del particolato non algale e della CDOM) misurate in corrispondenza di ciascuna stazione (Tab. 6.4).

| Stazione | S <sub>CDOM</sub> | aCDOM <sub>375</sub> | aCDOM <sub>440</sub> | aPHY <sub>440</sub> | a*PHY <sub>440</sub> | aNAP <sub>440</sub> | aP <sub>440</sub> | fCDOM | R <sub>ss5</sub> | R <sub>43/RS55</sub> | Chl   | TSM  | TSM% in |
|----------|-------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|-------------------|-------|------------------|----------------------|-------|------|---------|
| S1       | 0.0262            | 0.072                | 0.013                | 0.009               | 0.0118               | 0.007               | 0.016             | 1.003 | 0.014            | 0.787                | 0.770 | 8.5  | 71.8    |
| S2       | 0.0239            | 0.102                | 0.022                |                     |                      |                     |                   | 1.040 | 0.012            | 0.880                | 0.593 | 8.2  | 75.6    |
| S3       | 0.0298            | 0.042                | 0.006                | 0.006               | 0.0139               | 0.003               | 0.009             | 0.369 | 0.010            | 1.005                | 0.417 | 7.6  | 84.2    |
| S4       | 0.0275            | 0.054                | 0.009                | 0.005               | 0.0130               | 0.003               | 0.007             | 0.368 | 0.005            | 1.501                | 0.358 | 6.9  | 69.6    |
| S5       | 0.0242            | 0.092                | 0.019                | 0.003               | 0.0080               | 0.002               | 0.005             | 0.765 | 0.003            | 2.002                | 0.404 | 7.6  | 75.0    |
| S6       | 0.0263            | 0.065                | 0.012                | 0.006               | 0.0149               | 0.006               | 0.012             | 0.678 | 0.014            | 0.776                | 0.411 | 8    | 73.8    |
| S7       | 0.0295            | 0.045                | 0.007                | 0.006               | 0.0164               | 0.006               | 0.012             | 0.673 | 0.010            | 0.960                | 0.544 | 6.1  | 63.9    |
| S8       | 0.0222            | 0.116                | 0.027                | 0.006               | 0.0195               | 0.004               | 0.009             | 1.698 | 0.009            | 1.036                | 0.296 | 7.9  | 68.4    |
| S9       | 0.0222            | 0.116                | 0.027                | 0.005               | 0.0125               | 0.005               | 0.010             | 1.716 | 0.007            | 1.192                | 0.434 | 6.6  | 66.7    |
| S10      | 0.0227            | 0.100                | 0.023                | 0.007               | 0.0167               | 0.001               | 0.008             | 1.236 | 0.005            | 1.433                | 0.396 | 4.7  | 66.0    |
| S11      | 0.0238            | 0.094                | 0.021                | 0.006               | 0.0115               | 0.005               | 0.011             | 0.892 | 0.006            | 1.449                | 0.482 | 5.2  | 78.8    |
| S12      | 0.0243            | 0.083                | 0.017                | 0.005               | 0.0103               | 0.003               | 0.009             | 0.645 | 0.009            | 1.053                | 0.684 | 12.1 | 69.4    |
| S14      | 0.0228            | 0.108                | 0.025                | 0.008               | 0.0177               | 0.029               | 0.037             | 1.517 | 0.017            | 0.844                | 0.432 | 16.4 | 70.7    |
| S15      | 0.0242            | 0.078                | 0.016                | 0.006               | 0.0122               | 0.003               | 0.009             | 0.852 | 0.009            | 1.148                | 0.451 | 11.1 | 69.4    |
| S16      | 0.0245            | 0.077                | 0.016                | 0.006               | 0.0132               | 0.003               | 0.009             | 0.766 | 0.005            | 1.540                | 0.435 | 10.7 | 66.4    |
| S17      | 0.0212            | 0.121                | 0.031                |                     |                      |                     |                   | 1.794 | 0.006            | 1.460                | 0.464 | 10.8 | 59.3    |
| S18      | 0.0259            | 0.064                | 0.012                | 0.006               | 0.0115               | 0.004               | 0.010             | 1.012 | 0.010            | 1.055                | 0.531 | 10.5 | 61.0    |
| S19      | 0.0249            | 0.078                | 0.016                | 0.009               | 0.0282               | 0.008               | 0.017             | 0.996 | 0.011            | 0.954                | 0.324 | 10.3 | 63.1    |
| S20      | 0.0243            | 0.077                | 0.016                | 0.007               | 0.0144               | 0.006               | 0.012             | 0.819 | 0.010            | 1.027                | 0.461 | 11.3 | 65.5    |
| S21      | 0.0257            | 0.068                | 0.013                | 0.006               | 0.0125               | 0.005               | 0.012             | 0.646 | 0.009            | 1.126                | 0.516 | 8.6  | 61.6    |
| S22      | 0.0250            | 0.078                | 0.015                | 0.006               | 0.0127               | 0.006               | 0.012             | 0.912 | 0.009            | 1.170                | 0.508 | 8.5  | 55.3    |
| S23      | 0.0226            | 0.105                | 0.024                | 0.004               | 0.0111               | 0.004               | 0.009             | 1.876 | 0.007            | 1.283                | 0.405 | 8.4  | 66.7    |
| S24      | 0.0262            | 0.062                | 0.011                | 0.006               | 0.0136               | 0.005               | 0.012             | 0.807 | 0.008            | 1.339                | 0.470 | 9.4  | 69.1    |
| S25      | 0.0278            | 0.049                | 0.008                | 0.005               | 0.0111               | 0.004               | 0.009             | 0.126 | 0.004            | 1.774                | 0.490 | 8.3  | 73.5    |
| S26      | 0.0271            | 0.054                | 0.009                | 0.004               | 0.0121               | 0.003               | 0.007             | 0.093 | 0.003            | 2.251                | 0.341 | 7.7  | 72.7    |
| media    | 0.025             | 0.080                | 0.017                | 0.006               | 0.0139               | 0.005               | 0.011             | 0.932 | 0.008            | 1.242                | 0.465 | 8.9  | 68.7    |

Tab. 6.4. Parametri bio-ottici relativi ai punti di campionamento della campagna IOSMOS-aprile

Le misure di assorbimento del particolato totale ( $aP_{440}$ ) e del particolato non algale ( $aNAP_{440}$ ) a 440 nm variano nel range 0.005 – 0.037 e 0.001 – 0.029  $m^{-1}$  con i picchi massimi rilevati in corrispondenza della stazione S14 (foce del fiume Agri). L'assorbimento specifico del fitoplancton ( $aPHY^*_{440}$ ) mostra invece una variazione compresa tra il valore minimo di 0.008 rilevato in corrispondenza della stazione S5, stazione più a largo del transetto antistante il fiume Basento ed un picco massimo in corrispondenza della foce del fiume Sinni (S19), con un valore di 0.028  $m^{-1}$ . L'assorbimento della sostanza CDOM a 375 nm varia nel range 0.042 – 0.121  $m^{-1}$ . In particolare si osserva un gradiente costa-largo con valori più elevati in corrispondenza delle stazioni costiere in prossimità delle foci dei fiumi indagati (Basento S2=0.102  $m^{-1}$ ; Cavone S8=0.116  $m^{-1}$ ; Agri S14= 0.108  $m^{-1}$ ), ad eccezione del fiume Sinni dove si rileva un valore costiero di 0.078  $m^{-1}$ , così come rilevato per le misure di fluorescenza CDOM.

In figura 6.20 vengono riportati gli spettri di assorbimento del particolato totale (P), del particolato non algale (NAP), del fitoplancton (PHY\*) e della CDOM. Gli spettri di assorbimento P mostrano come il particolato in sospensione caratteristico dell'area di studio sia prevalentemente costituito da particolato di origine non algale, con una maggiore dominanza sullo spettro della componente NAP rispetto alla componente fitoplanctonica, la cui presenza viene identificata dal picco nel rosso a 670 nm. Il confronto tra gli spettri mette in evidenza i massimi valori di  $aP$  ed  $aNAP$  rilevati in corrispondenza della stazione S14 (foce del fiume Agri). Il popolamento

fitoplanctonico risulta, invece, caratterizzato dai picchi di assorbimento caratteristici della clorofilla *a* rispettivamente a 440 e 670 nm.

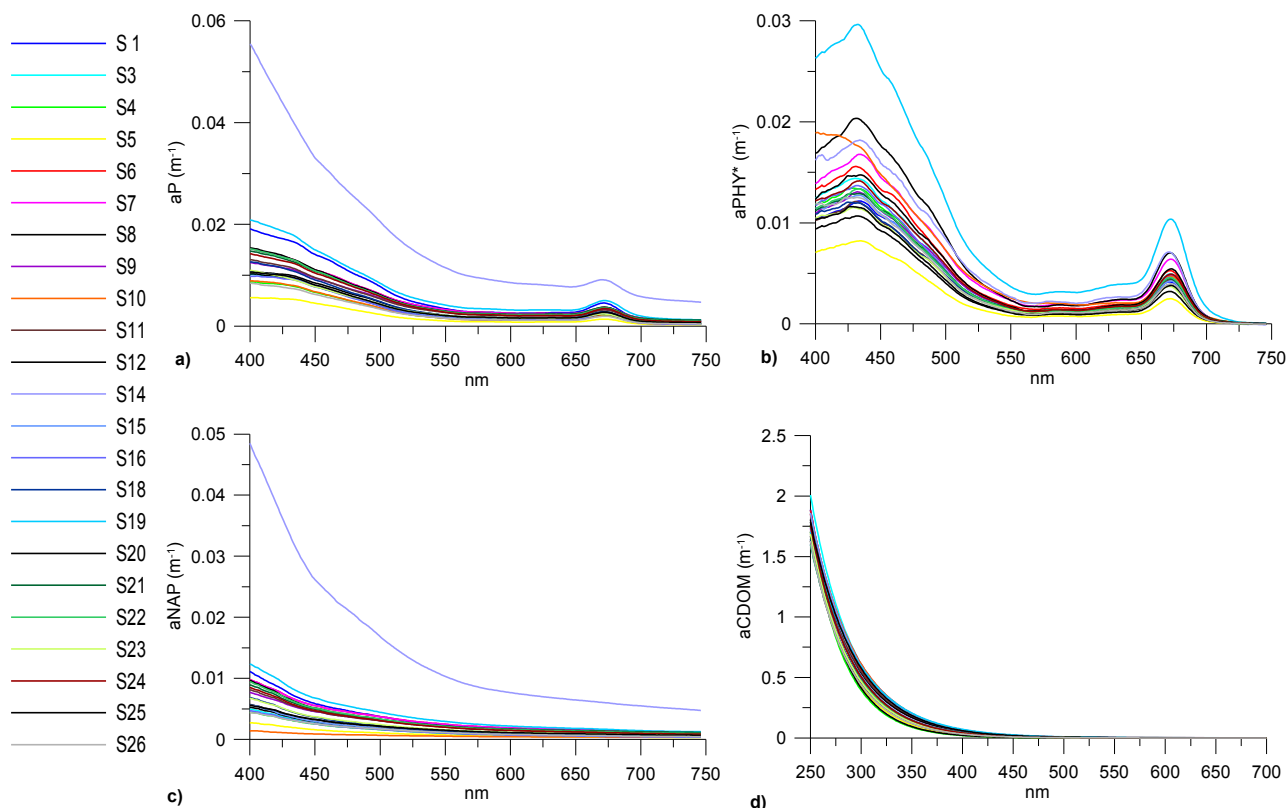


Fig. 6.20. Spettri di assorbimento delle proprietà ottiche inerenti rilevate nel mese di aprile: a) *aP* assorbimento del particolato totale, b) *aPHY\** assorbimento specifico del fitoplancton, c) *aNAP* assorbimento del NAP e d) *aCDOM* assorbimento CDOM

Le misure di riflettanza spettrale (Fig. 6.21) mostrano un andamento simile in tutte le stazioni, caratterizzato da bassi valori a 400 nm con valori medi di 0.08, due picchi di concentrazione massima alle lunghezze d'onda di 500 e 550 nm di 0.010 e minimi valori oltre i 600 nm con un lieve picco a 685nm di 0.0015, dovuto alla fluorescenza naturale del fitoplancton. I bassi valori di riflettanza a 400 nm sono da porre in relazione all'elevato assorbimento della componente blu della luce ad opera della sostanza CDOM e del NAP. E' possibile notare, inoltre, come la stazione S14 in prossimità della foce del fiume Agri presenti i valori massimi rilevati nell'area di studio con un valore di riflettanza di 0.018, in accordo con tutti i parametri bio-ottici monitorati.

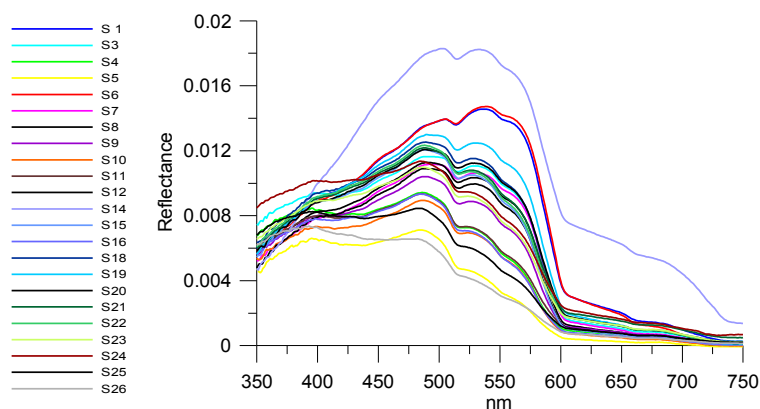


Fig. 6.21. Spettri di riflettanza (campagna IOSMOS-aprile)

16 luglio 2013

Di seguito si riportano le misure effettuate con il prototipo *Spectra* durante la campagna IOSMOS svolta nel mese di luglio (Fig. 6.22-6.25).

La temperatura rilevata nell'area di indagine varia tra 24.5°C, valore registrato in corrispondenza della foce del fiume Agri, e i 27 °C misurati a largo della foce del fiume Basento. I valori di fluorescenza della clorofilla *a* presentano un valore medio di 0.31 rispetto al valore di 0.46 mg/m<sup>3</sup> rilevato in aprile. Si osserva, inoltre, la presenza di un picco massimo di 1.59 mg/m<sup>3</sup> in corrispondenza della stazione S6, posta lungo il transetto del fiume Basento.

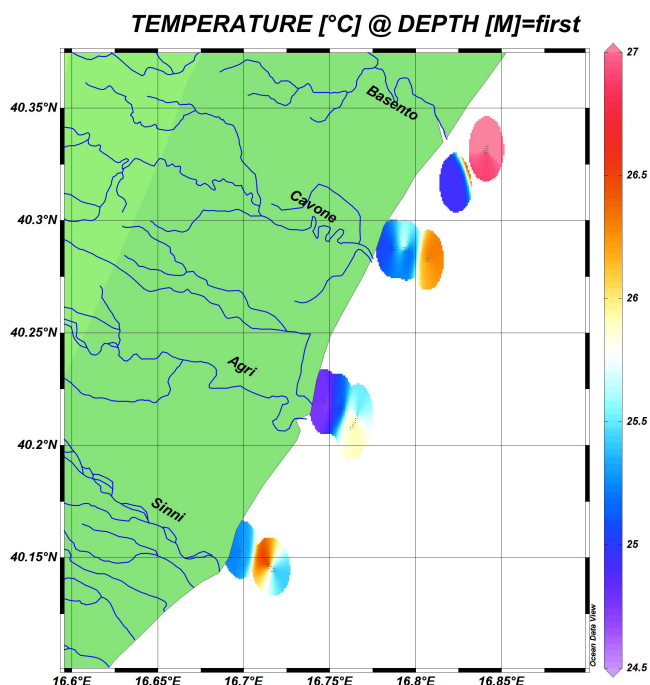


Fig. 6.22. Distribuzione superficiale della temperatura (campagna IOSMOS-luglio)

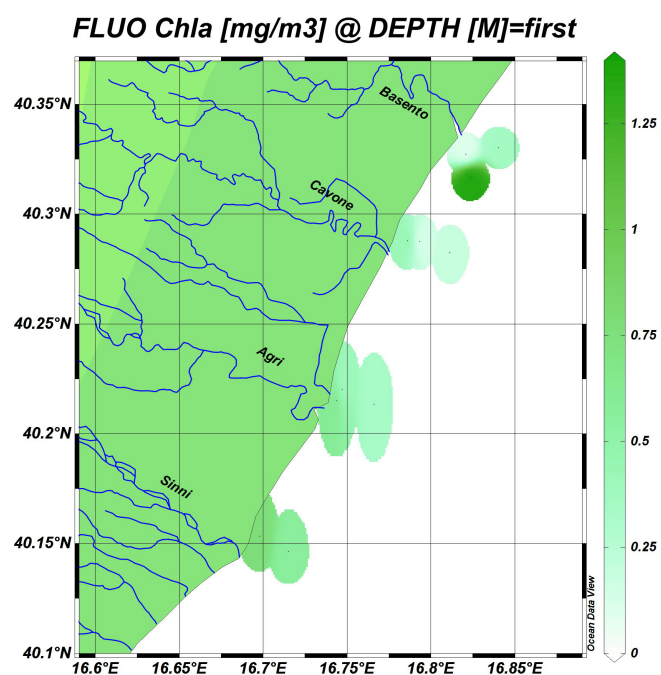


Fig. 6.23. Distribuzione superficiale della fluorescenza Chl a (campagna IOSMOS-luglio)

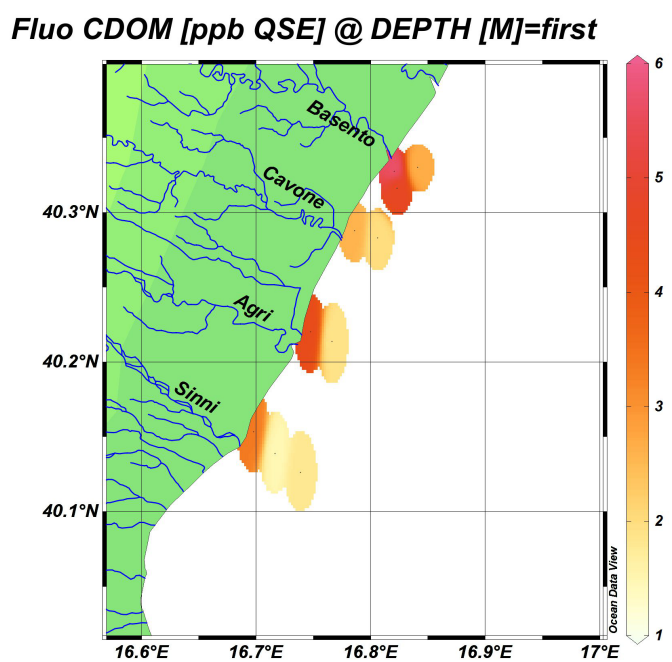


Fig. 6.24. Distribuzione superficiale della fluorescenza CDOM (campagna IOSMOS-luglio)

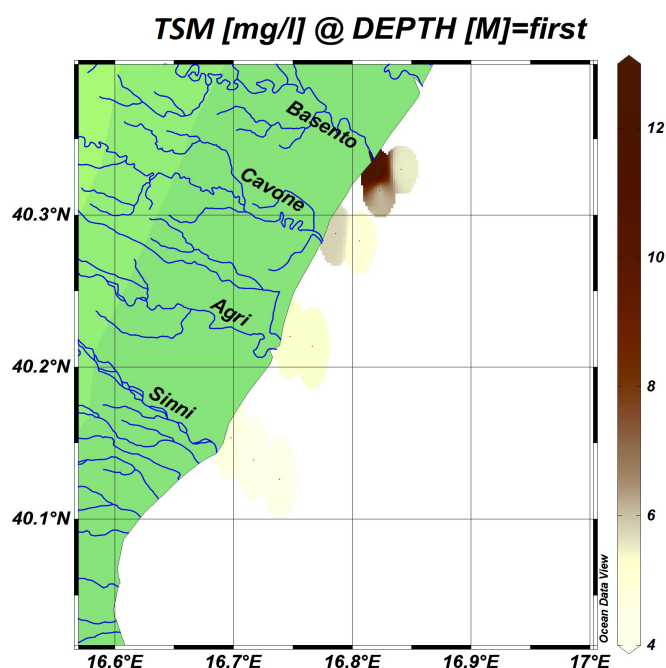


Fig. 6.25. Distribuzione superficiale dei solidi sospesi (campagna IOSMOS-luglio)

La distribuzione della fluorescenza CDOM presenta un caratteristico andamento costa-largo lungo tutti i transetti monitorati, con valori superiori in prossimità delle foci fluviali (S15=5.69 ppb – fiume Basento, S11=2.56 ppb – fiume Cavone, S16=4.40 ppb fiume Agri, S21=3.34 ppb fiume Sinni) rispetto alle stazioni di largo corrispondenti. Si osserva, inoltre, un generale aumento da un valore medio di 0.93 nei mesi primaverili a 3.03 ppb QSE nel mese di luglio.

Le concentrazioni dei solidi sospesi superficiali rilevate nel mese di luglio presentano valori mediamente più bassi (5.8 mg/L) rispetto a quelli rilevati ad aprile (8.9 mg/L), ad eccezione della stazione in corrispondenza della foce del fiume Basento dove si rileva un picco massimo di concentrazione di 12.8 mg/L. La percentuale media di particolato inorganico rilevata in entrambe le stazioni è di 68.7 ad aprile e 67.1 a luglio.

Come riportato nei grafici di Fig. 6.26, le misure di temperatura e fluorescenza della clorofilla *a* mostrano un'elevata correlazione statistica con i dati acquisiti a luglio dalla sonda di riferimento Idronaut Ocean Seven (Temp  $R^2=0.98$ ; Fluo Chl  $a$   $R^2=0.87$ ).

La retta di regressione lineare calcolata tra le misure di fluorescenza CDOM acquisite dal sensore sviluppato ed i valori di assorbimento CDOM a 375 in entrambe le campagne mostra anch'essa una buona correlazione statistica ( $R^2=0.87$ ), mettendo in evidenza come i bassi valori rilevati ad aprile presentino una minor correlazione rispetto a quelli rilevati durante il mese di luglio.

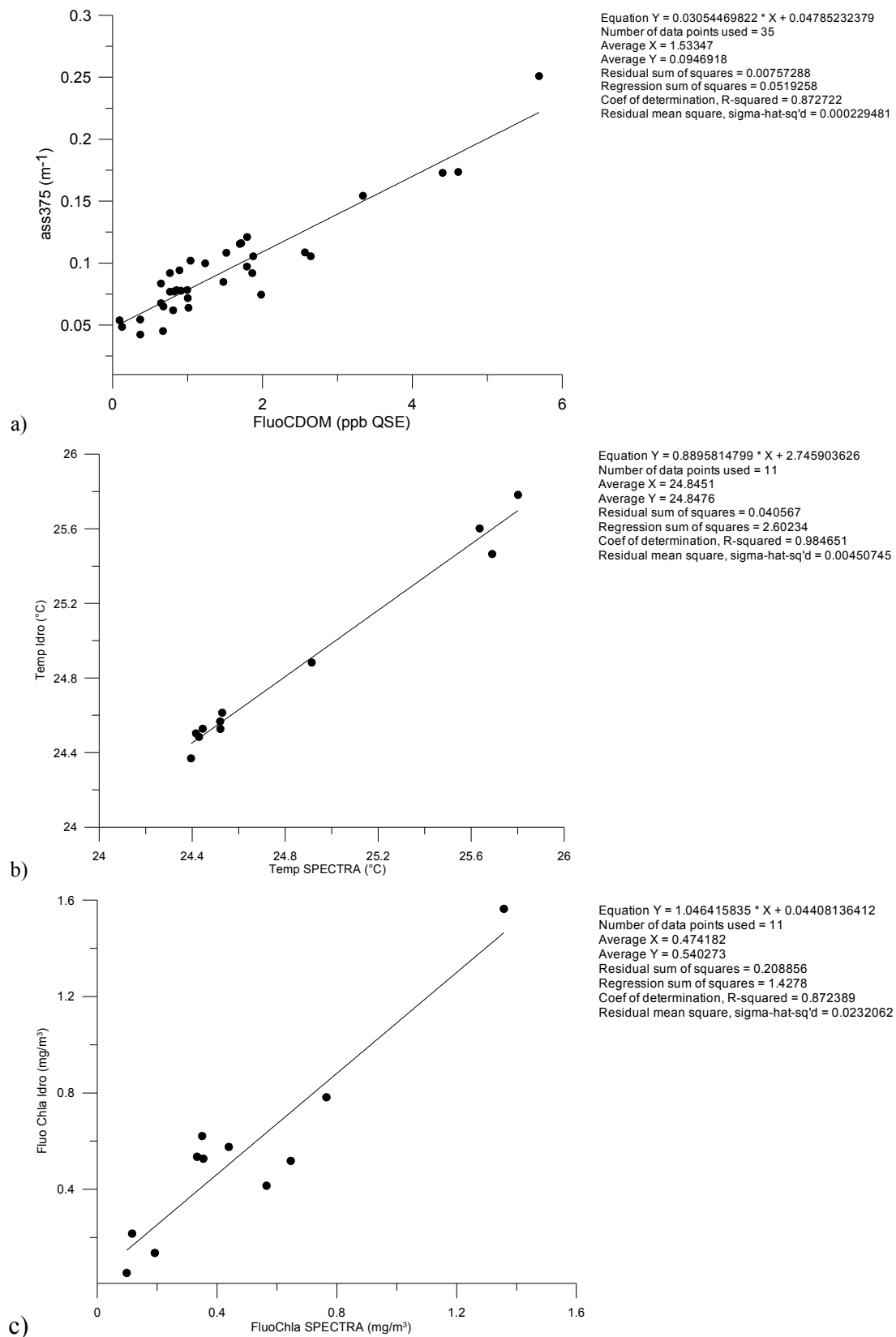


Fig. 6.26. Rette di regressione tra fluorescenza CDOM e ass375 nm (a), temperatura *Spectra* e temperatura Idronaut (b), fluorescenza Chl a *Spectra* e fluorescenza Chl a Idronaut (c)



| Stazione | S <sub>CDOM</sub> | aCDOM <sub>375</sub> | aCDOM <sub>440</sub> | aPHY <sub>440</sub> | a*PHY <sub>440</sub> | aNAP <sub>440</sub> | aP <sub>440</sub> | fCDOM | R <sub>rs55</sub> | R <sub>443/R555</sub> | Chl   | TSM  | TSM% in |
|----------|-------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|-------------------|-------|-------------------|-----------------------|-------|------|---------|
| S6       | 0.0229            | 0.174                | 0.039                | 0.012               | 0.0137               | 0.007               | 0.019             | 4.612 | 0.011             | 0.007                 | 0.857 | 5.9  | 76.3    |
| S8       | 0.0258            | 0.105                | 0.020                | 0.006               | 0.0174               | 0.004               | 0.011             | 2.644 | 0.008             | 0.010                 | 0.353 | 5.5  | 74.5    |
| S11      | 0.0256            | 0.109                | 0.021                | 0.006               | 0.0192               | 0.038               | 0.010             | 2.567 | 0.010             | 0.009                 | 0.297 | 5.8  | 53.4    |
| S13      | 0.0281            | 0.074                | 0.012                | 0.003               | 0.0232               | 0.001               | 0.004             | 1.982 | 0.006             | 0.010                 | 0.133 | 4.9  | 75.5    |
| S15      | 0.0214            | 0.251                | 0.063                | 0.013               | 0.0209               | 0.038               | 0.051             | 5.690 | -                 | -                     | 0.601 | 12.8 | 61.7    |
| S16      | 0.0229            | 0.173                | 0.039                | 0.005               | 0.0275               | 0.005               | 0.004             | 4.404 | 0.014             | 0.012                 | 0.190 | 5.3  | 71.7    |
| S18      | 0.0265            | 0.092                | 0.016                | 0.005               | 0.0311               | 0.003               | 0.009             | 1.864 | 0.009             | 0.011                 | 0.172 | 5.3  | 66.0    |
| S21      | 0.0233            | 0.154                | 0.034                | 0.005               | 0.0179               | 0.003               | 0.008             | 3.340 | 0.011             | 0.010                 | 0.278 | 4.7  | 68.1    |
| S23      | 0.0267            | 0.085                | 0.017                | 0.004               | 0.0184               | 0.003               | 0.007             | 1.478 | 0.011             | 0.014                 | 0.217 | 4    | 70.0    |
| S25      | 0.0270            | 0.097                | 0.015                | 0.003               | 0.0343               | 0.001               | 0.004             | 1.792 | 0.007             | 0.011                 | 0.075 | 4.1  | 53.7    |
| media    | 0.0250            | 0.131                | 0.028                | 0.0061              | 0.0224               | 0.011               | 0.013             | 3.037 | 0.010             | 0.010                 | 0.317 | 5.8  | 67.1    |

Tab. 6.5 Parametri bio-ottici relativi ai punti di campionamento della campagna IOSMOS-luglio

Le misure spettrali di assorbimento del particolato totale ( $aP_{440}$ ) e del particolato non algale ( $aNAP_{440}$ ) variano nel range 0.004-0.051 e 0.001-0.038  $m^{-1}$ , con i valori massimi rilevati in corrispondenza della stazione S15 (foce del fiume Basento), nella quale vengono rilevati i massimi valori di TSM (12.8 mg/L).

L'assorbimento specifico del fitoplancton presenta una variazione nel range 0.0171-0.0343  $m^{-1}$ , con il picco massimo in corrispondenza della stazione S25, stazione di largo del transetto antistante il fiume Sinni. L'assorbimento della sostanza CDOM a 375 nm varia nel range 0.074-0.174  $m^{-1}$ , presentando valori maggiori rispetto a quelli rilevati nel mese di aprile (0.131 vs 0.08  $m^{-1}$ ), in accordo con le misure di fluorescenza CDOM precedentemente riportate.

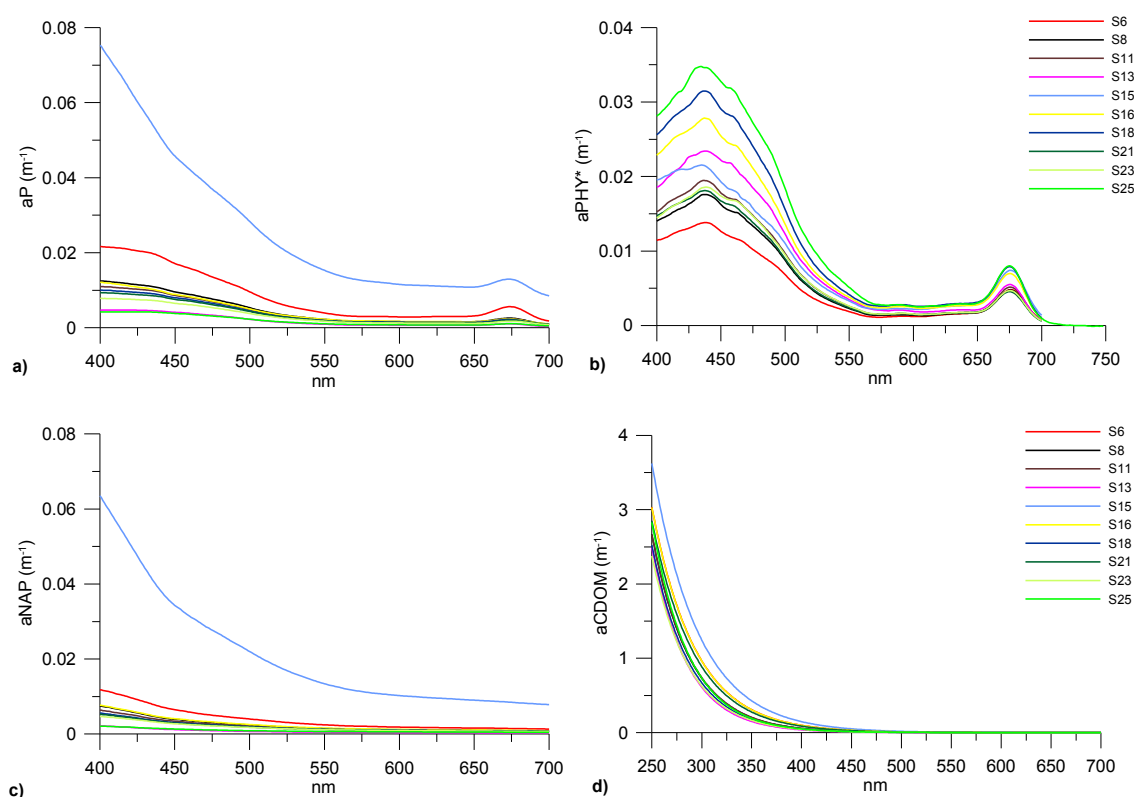


Fig. 6.27. Spettri di assorbimento delle proprietà ottiche inerenti rilevate nel mese di luglio di: a)  $aP$  assorbimento del particolato totale, b)  $a^*PHY$  assorbimento specifico del fitoplancton, c)  $aNAP$  assorbimento del NAP e d)  $aCDOM$  assorbimento CDOM

Le misure di riflettanza spettrale rilevate nel mese di luglio mostrano lo stesso andamento rilevato nel mese di aprile con due picchi di concentrazione massima alle lunghezze d'onda di 500 e 550 nm (0.012). E' possibile notare, inoltre, come la stazione S16, in prossimità della foce del fiume Basento, presenti i valori massimi rilevati nell'area di studio con valori di riflettanza a 500 nm di 0.015, in accordo con tutti i parametri bio-ottici monitorati.

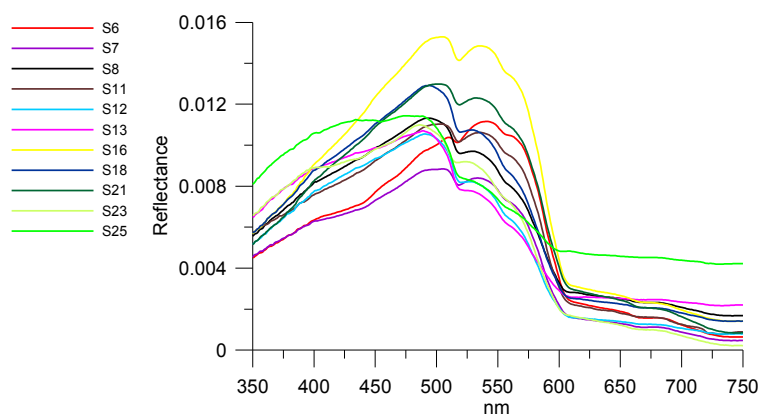


Fig. 6.28. Spettri di riflettanza (campagna IOSMOS-luglio)

#### 6.4.2.1 Relazioni fra Chl, TSM e CDOM

Con lo scopo di caratterizzare e classificare le acque ioniche lucane in funzione delle componenti otticamente attive disciolte e particellate, sono state calcolate le relazioni quantitative tra le concentrazioni di CDOM, NAP e TSM ed i valori di Chl rilevati nel corso delle campagne IOSMOS di aprile e luglio 2013.

Il grafico di figura 6.29a mostra la relazione tra  $a_{CDOM}$  a 443nm e Chl. E' possibile notare come a luglio le due variabili covariano in modo statisticamente più significativo che in aprile ( aprile  $R^2=0.01$   $N=25$ ; luglio  $R^2=0.44$   $N=10$ ).

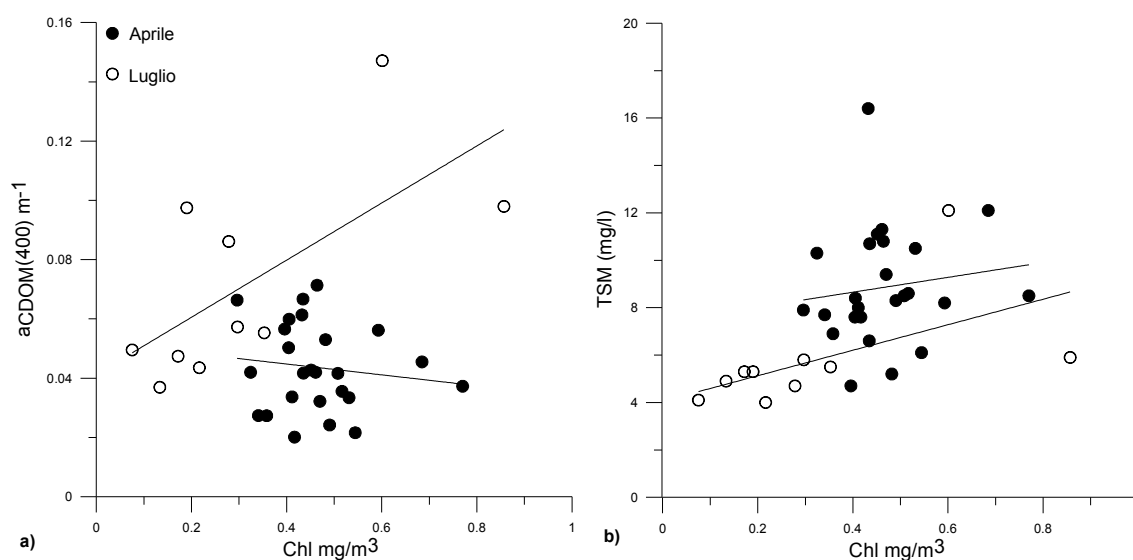


Fig. 6.29. Relazioni tra le concentrazioni di a) CDOM e Chl (aprile  $Y = -0.0183 \cdot X + 0.0521$ ,  $R^2 = 0.01$ ,  $N = 25$ ; luglio  $Y = 0.0963 \cdot X + 0.0412$ ,  $R^2 = 0.44$ ,  $N = 10$ ) e b) TSM e Chl (aprile  $Y = 3.127 \cdot X + 7.402$ ,  $R^2 = 0.01$ ,  $N = 25$ ; luglio  $Y = 5.3789 \cdot X + 4.053$ ,  $R^2 = 0.30$ ,  $N = 10$ ).

Per quanto riguarda la relazione tra le variabili TSM e Chl (Fig. 6.29b), essa risulta molto bassa in entrambe le stagioni, sebbene a luglio la correlazione sia più alta di quella calcolata per il mese di aprile, così come per  $a_{CDOM}$  (aprile  $R^2 = 0.01$   $N = 25$ ; luglio  $R^2 = 0.30$   $N = 10$ ).

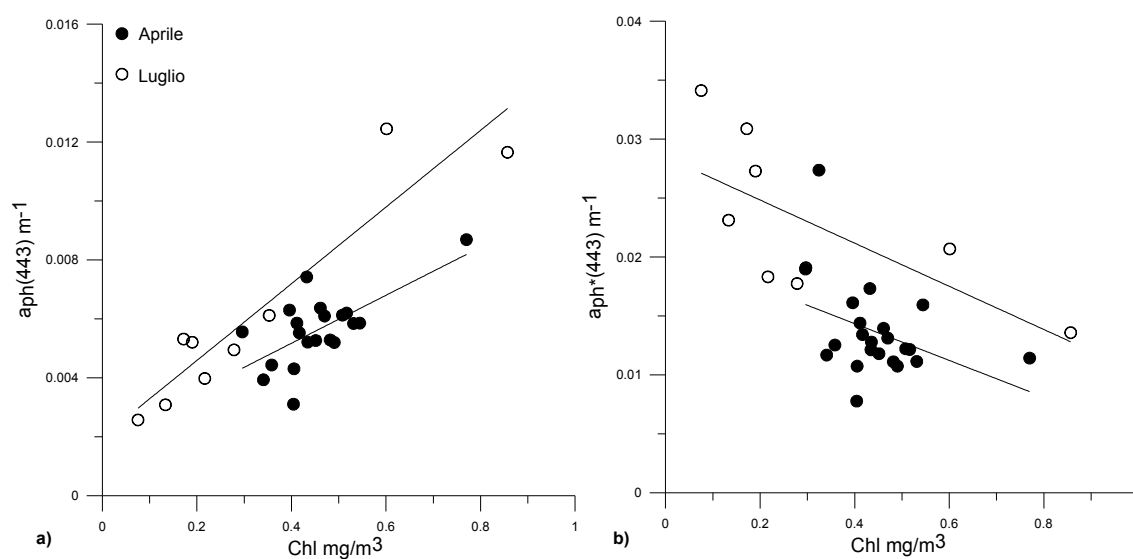


Fig. 6.30. Relazioni tra le concentrazioni di a)  $a_{ph443}$  e Chl (aprile  $Y = 0.0081 \cdot X + 0.001$ ,  $R^2 = 0.44$ ,  $N = 20$ ; luglio  $Y = 0.0130 \cdot X + 0.001$ ,  $R^2 = 0.87$ ,  $N = 9$ ) e b)  $a^*_{ph443}$  e Chl (aprile  $Y = -0.0155 \cdot X + 0.0205$ ,  $R^2 = 0.14$ ,  $N = 22$ ; luglio  $Y = -0.0183 \cdot X + 0.02$ ,  $R^2 = 0.47$ ,  $N = 9$ ).

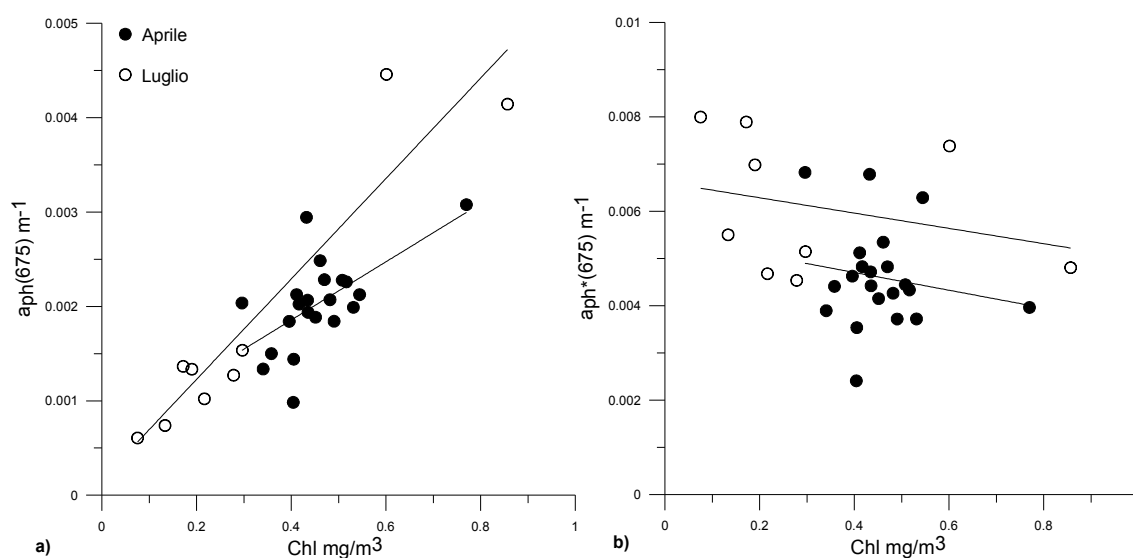


Fig. 6.31. Relazioni tra le concentrazioni di a)  $a_{ph675}$  e Chl (aprile  $Y = 0.003 \cdot X + 0.0006$ ,  $R^2 = 0.37$ ,  $N = 21$ ; luglio  $Y = 0.0053 \cdot X + 0.00016$ ,  $R^2 = 0.88$ ,  $N = 9$ ) e b)  $a^*_{ph675}$  e Chl (aprile  $Y = -0.0018 \cdot X + 0.005$ ,  $R^2 = 0.02$ ,  $N = 21$ ; luglio  $Y = -0.00162 \cdot X + 0.0066$ ,  $R^2 = 0.08$ ,  $N = 9$ ).

I grafici di Fig.6.30 e 6.31 mostrano le relazioni tra l'assorbimento del fitoplancton a 443 e 675 nm, lunghezze d'onda alle quali il fitoplancton mostra i massimi di assorbimento, ed i corrispettivi valori di Chl. I coefficienti di regressione risultano elevati in entrambe le stagioni (aprile  $R^2 = 0.37$   $N = 21$ ; luglio  $R^2 = 0.87$   $N = 9$ ), ad indicare che all'aumentare della concentrazione di Chl aumenta l'assorbimento della luce nel blu e nel rosso ad opera del fitoplancton. Al contrario, la relazione osservata tra l'assorbimento specifico del fitoplancton e le concentrazioni di Chl mostrano una proporzionalità inversa.

Per quanto riguarda l'assorbimento del NAP si osserva una minor correlazione tra i valori a 443 nm ed i corrispettivi valori di Chl ad aprile rispetto a luglio (aprile  $R^2 = 0.08$   $N = 25$ ; luglio  $R^2 = 0.87$   $N = 9$ ). Lo stesso andamento viene rilevato nella relazione tra  $a_{NAP}$  e TSM, ad indicare che la condizione primaverile è caratterizzata da una maggior presenza di apporti terrigeni rispetto a quella estiva in cui la concentrazione media di TSM è inferiore (TSM aprile = 8.85 mg/L; TSM luglio = 5.83 mg/L) e caratterizzata, oltre che da particelle non algali anche dalla componente fitoplanctonica.

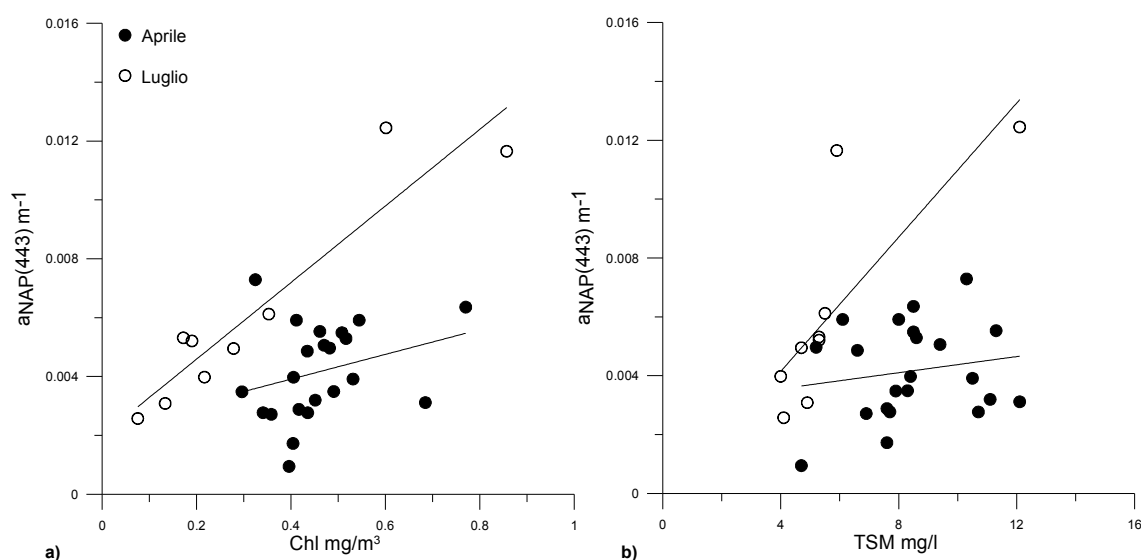


Fig. 6.32. Relazioni tra le concentrazioni di a)  $a_{NAP443}$  e Chl (aprile  $Y = 0.0042 \cdot X + 0.0022$ ,  $R^2 = 0.081$ ,  $N = 22$ ; luglio  $Y = 0.0130 \cdot X + 0.0019$ ,  $R^2 = 0.87$ ,  $N = 9$ ) e b)  $a_{NAP443}$  e TSM (aprile  $Y = 0.00137 \cdot X + 0.0003$ ,  $R^2 = 0.02$ ,  $N = 9$ ; luglio  $Y = 0.0011 \cdot X - 0.0004$ ,  $R^2 = 0.62$ ,  $N = 9$ ).

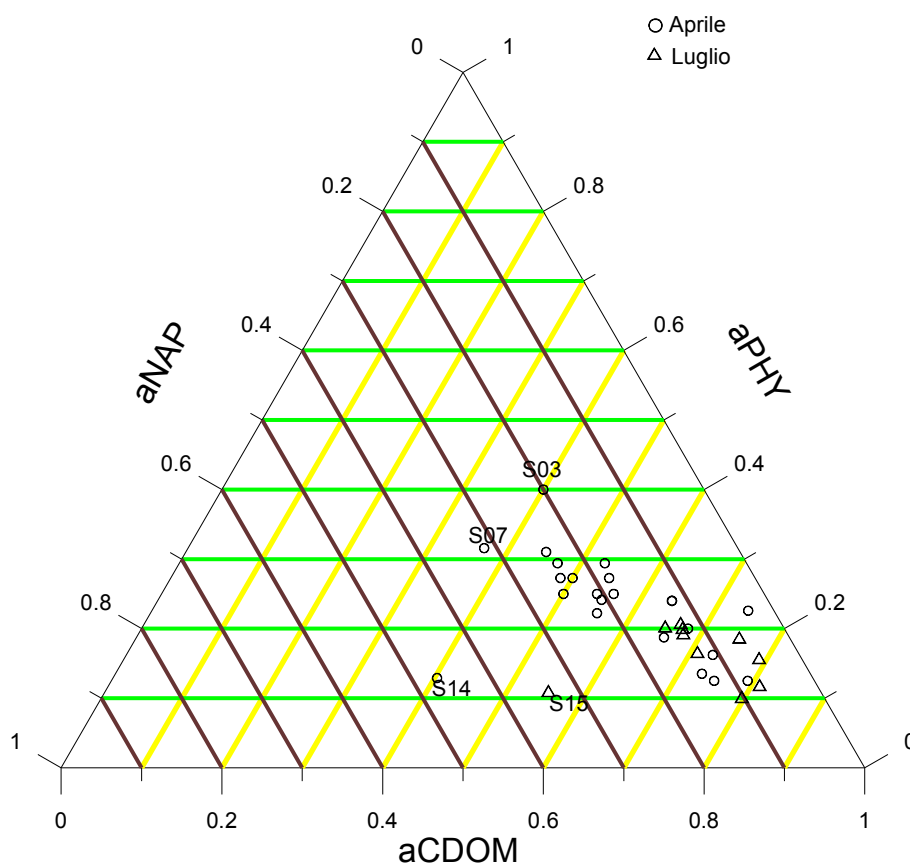


Fig. 6.33. Diagramma triangolare secondo Prieur e Sathyendranath (1981)

Il diagramma triangolare (Prieur & Sathyendranath, 1981) riportato in figura 6.33 consente di analizzare le tre componenti principali dell'assorbimento della radiazione ( $a_{PHY440}$ ,  $a_{NAP440}$ ,  $a_{CDOM440}$ ) delle acque costiere lucane nei mesi di aprile e luglio 2013. In tutti i campioni presi in

esame l'agente ottico che contribuisce maggiormente all'assorbimento totale è rappresentato dalla sostanza CDOM, variando tra il 40 ed il 60% in aprile e tra il 60 e l'80% in luglio.

Per quanto riguarda la componente fitoplanctonica si osserva una variazione compresa tra il 10 ed il 40% in aprile e tra il 20 ed il 30% a luglio. Il particolato non algale presenta valori compresi tra lo 0 ed il 40 % ad aprile, ad eccezione della stazione S14 (in prossimità della foce del fiume Agri), nella quale viene rilevato una percentuale di  $a_{NAP440}$  maggiore del 50% circa, in accordo con il picco massimo di particolato in sospensione rilevato (16.4 mg/L). A luglio il contributo del NAP è compreso tra lo 0-20% ad eccezione della stazione S15, in corrispondenza del fiume Basento, con una percentuale del 35%.

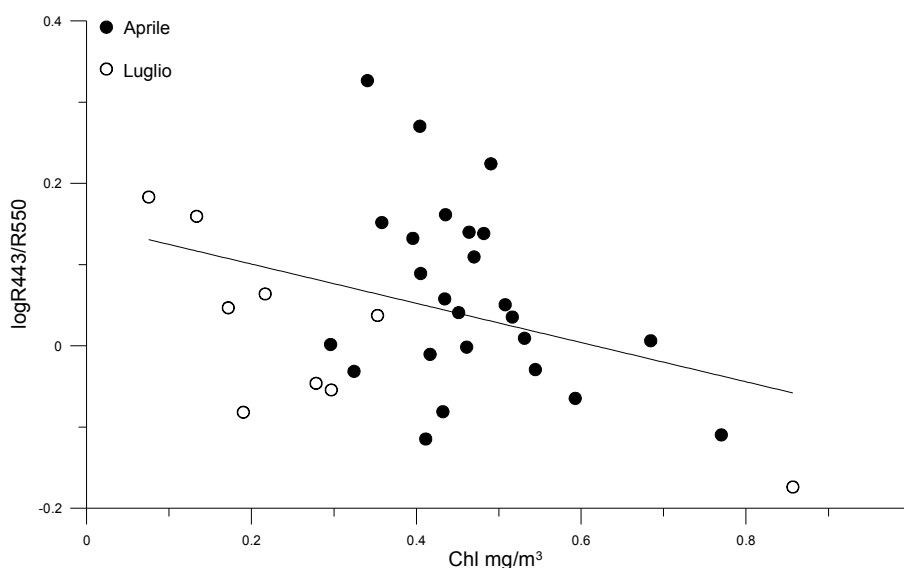


Fig. 6.34. Relazione fra i rapporti fra la riflettanza a 443 nm e quella a 550 ( $R(443)/R(550)$ ) in relazione a Chl.  $Y = -0.2416 \cdot X + 0.148$ ,  $R^2 = 0.148$ ,  $N = 22$ ;  $R^2 = 0.12$ .

In Fig. 6.34 sono riportate le relazioni fra le concentrazioni di Chl ed il rapporto blu/verde delle riflettanze spettrali. Queste relazioni sono molto frequentemente utilizzate per stimare Chl dalla riflettanza, negli algoritmi di tipo empirico. La regressione ottenuta ed il suo coefficiente di correlazione diverso da 0 mostrano come le due variabili presentino una bassa correlazione, a conferma del fatto che in queste acque la stima della Chl a partire dalle misure di riflettanza spettrale non può prescindere dalla considerazione delle altre componenti otticamente attive che assorbono nel blu (NAP e CDOM), le quali contribuiscono in modo dominante alla determinazione delle proprietà ottiche dell'area di studio.

### 6.4.3 Campagna CIV

Di seguito si riportano le mappe superficiali (Fig. 6.35-6.40) ottenute attraverso l'utilizzo del prototipo *Spectra* durante la campagna CIV, effettuata a bordo del gommone Nadir. L'area oggetto di studio è caratterizzata da 2 insenature, la prima compresa tra l'antemurale del Porto di Civitavecchia e la Punta di Borgo Odescalchi, la seconda che si stende da questa fino alla Punta del Pecoraro. Il tratto di costa oggetto di indagine è caratterizzato dalla presenza di 3 scarichi urbani, posti in corrispondenza delle stazioni ST01, ST08 ed ST09, nonché del fosso Scarpatosta, in corrispondenza della stazione ST22. La temperatura rilevata nell'area di studio varia tra 14.07 e 14.90 °C presentando valori superiori in corrispondenza delle stazioni più a nord (compresi tra 14.40 e 14.89 °C) e valori inferiori nelle stazioni più a sud (14.07-14.28 °C). Il picco massimo di temperatura viene registrato presso lo specchio d'acqua confinato dal molo della Lega Navale.

Anche la conducibilità presenta lo stesso range di variazione presentato dalla temperatura, con valori maggiori in corrispondenza dell'area nord compresa tra l'antemurale del Porto di Civitavecchia, e valori più bassi nell'area antistante il fosso Scarpatosta, ad indicare l'abbondante immissione di masse d'acqua di origine continentale.

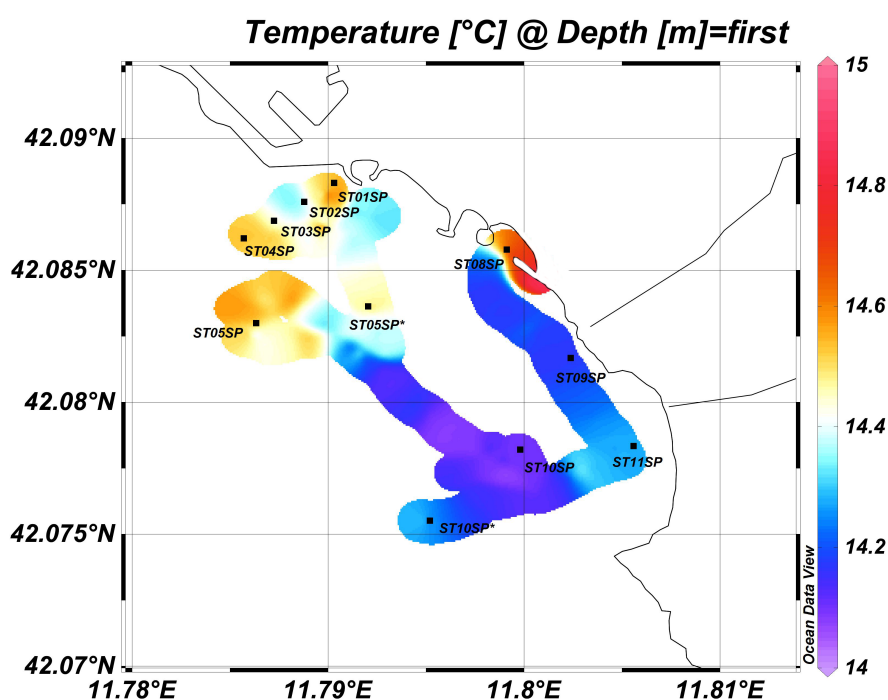


Fig. 6.35. Mappe superficiali di temperatura (campagna CIV)

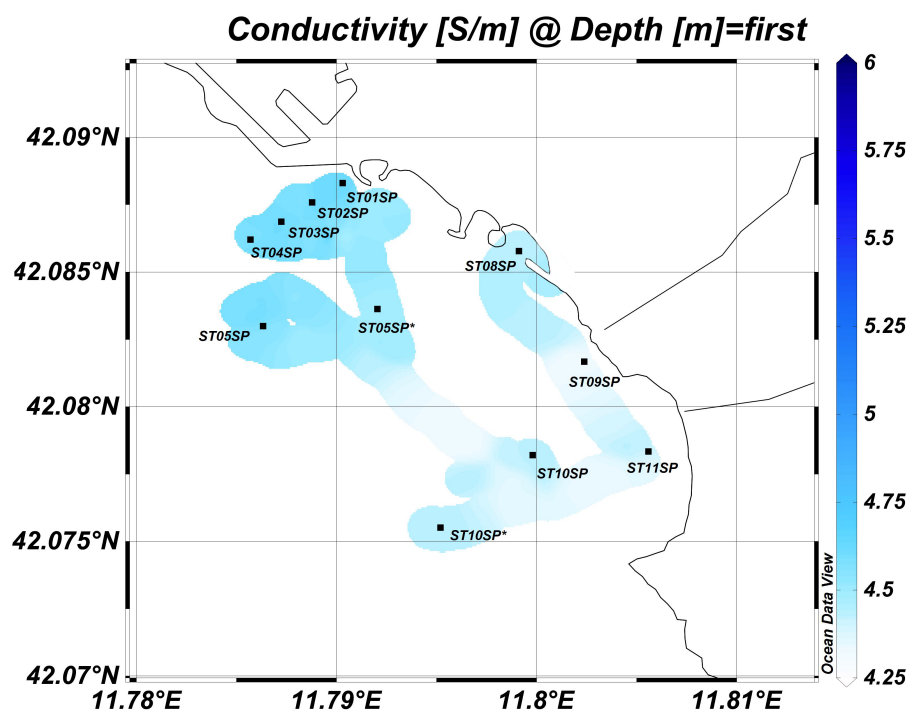


Fig. 6.36. Mappe superficiali di conducibilità (campagna CIV)

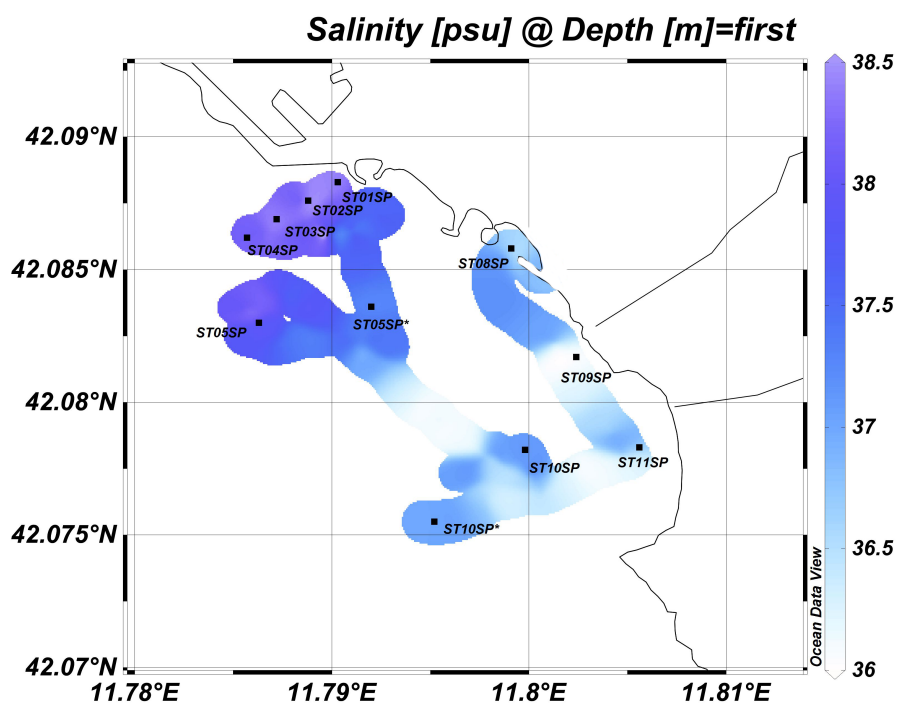


Fig. 6.37. Mappe superficiali di salinità (campagna CIV)



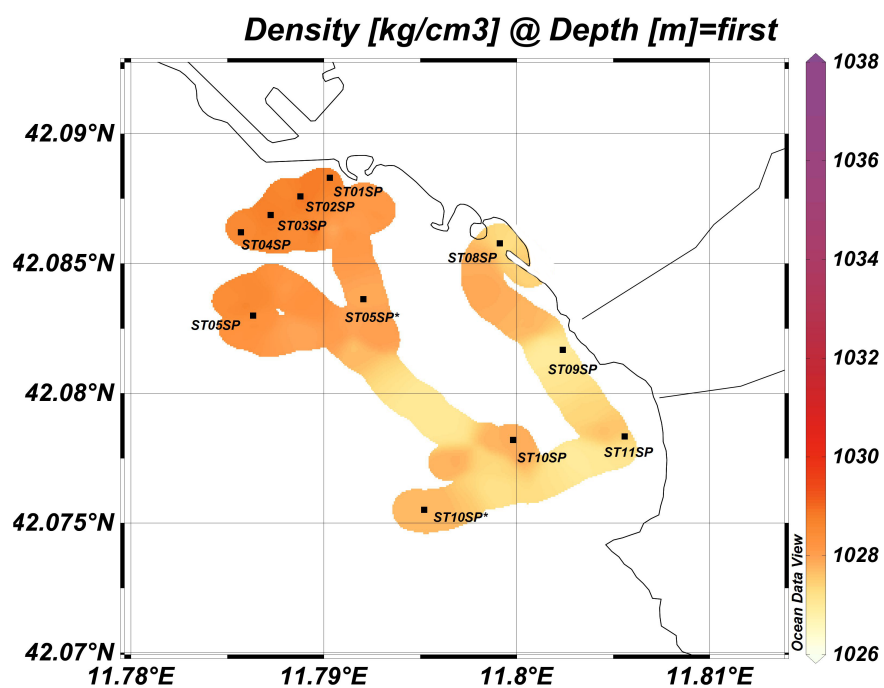


Fig. 6.38. Mappe superficiali di densità (campagna CIV)

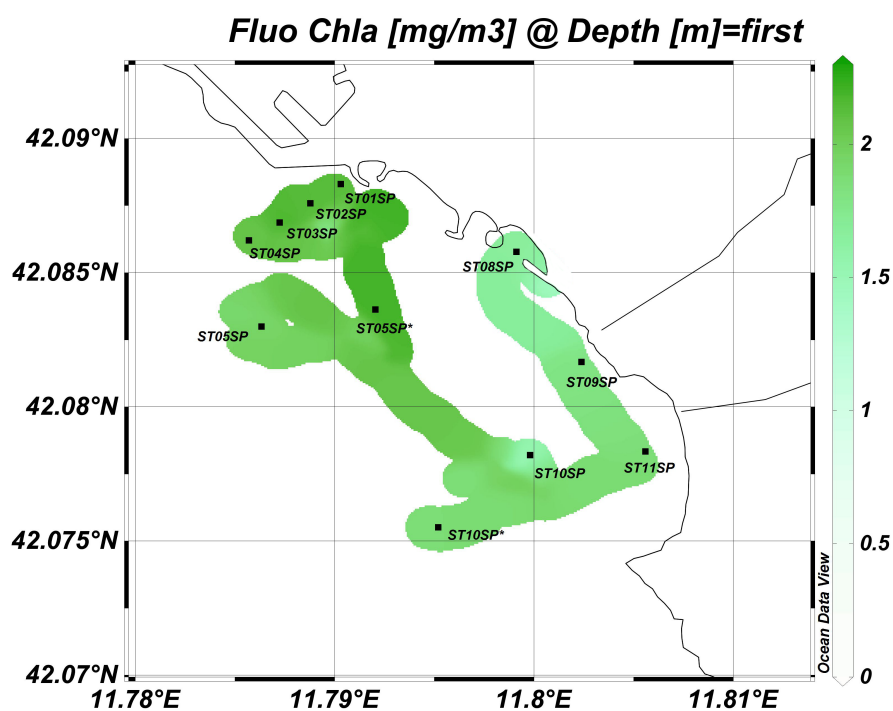


Fig. 6.39. Mappe superficiali di fluorescenza Chl a (campagna CIV)

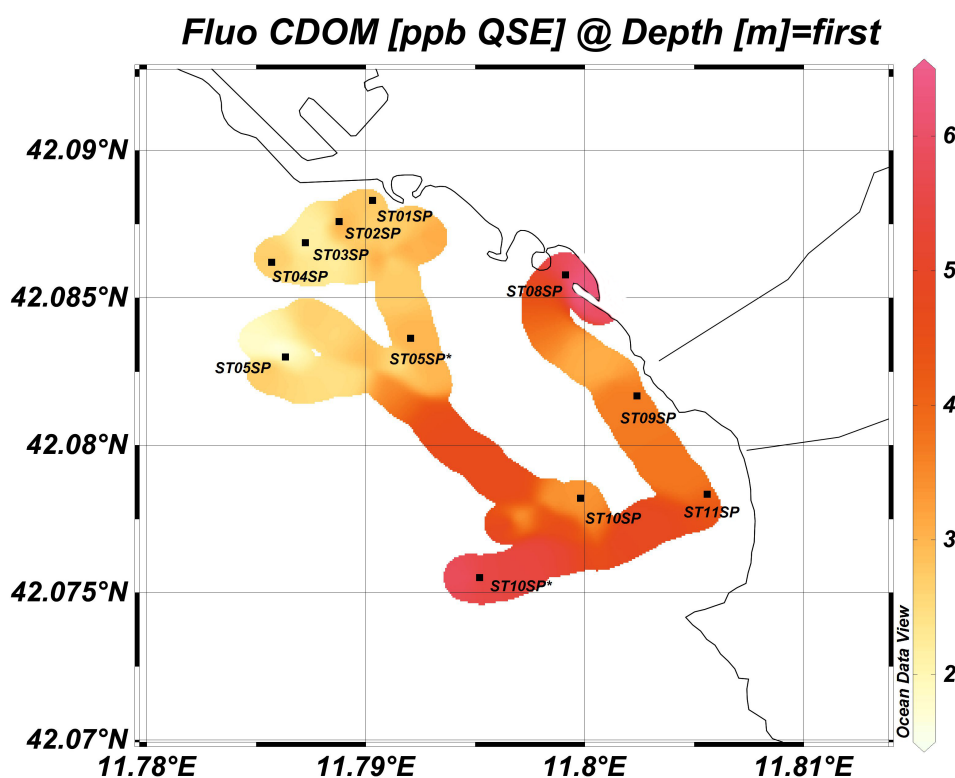


Fig. 6.40. Mappe superficiali di fluorescenza CDOM (campagna CIV)

La biomassa fitoplanctonica misurata dal sensore di fluorescenza del prototipo *Spectra* presenta valori compresi tra 0.85 e 3.5 mg/m<sup>3</sup>. Anche per questa variabile si osserva una distribuzione lungo il gradiente nord-sud. In particolare si osserva una maggiore concentrazione di clorofilla *a* in corrispondenza dell'area a nord, con un picco di concentrazione in corrispondenza della stazione ST01.

Infine la sostanza CDOM presenta valori elevati compresi tra 1.2 e 6 ppb QSE, evidenziando una maggiore presenza di sostanze disciolte in corrispondenza del transetto posto dinanzi il fosso Scarpato. Le analisi del particolato in sospensione effettuate sui campioni prelevati *in situ* mostrano come questi presentino valori elevati in tutta l'area indagata, ad indicare una condizione di particolare torbidità delle masse d'acqua per effetto dell'immissione di un elevato carico di acque continentali e pluviali.

Le post-calibrazioni effettuate correlando i dati acquisiti dai sensori del prototipo e le misure effettuate con la sonda Idronaut ed i valori ottenuti mediante le analisi di laboratorio mostrano un'elevata correlazione statistica (Fig. 6.41).

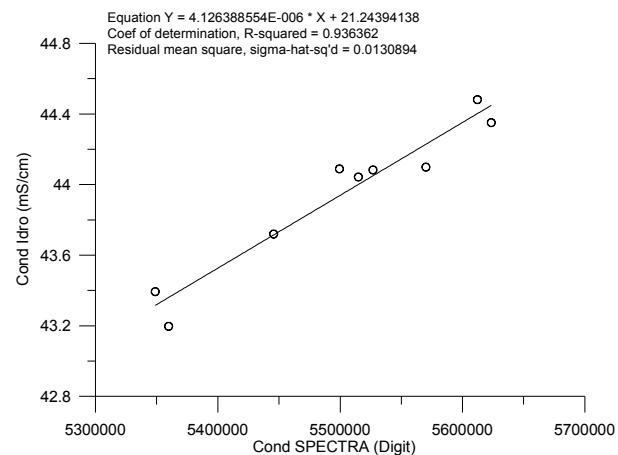
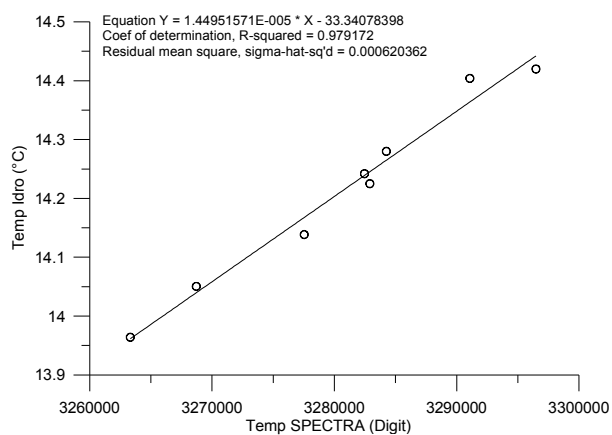
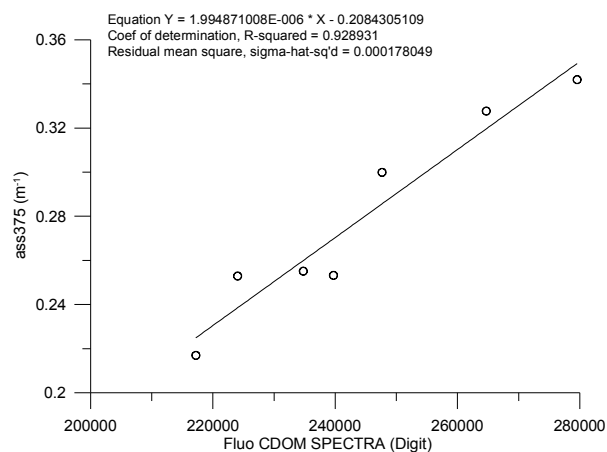
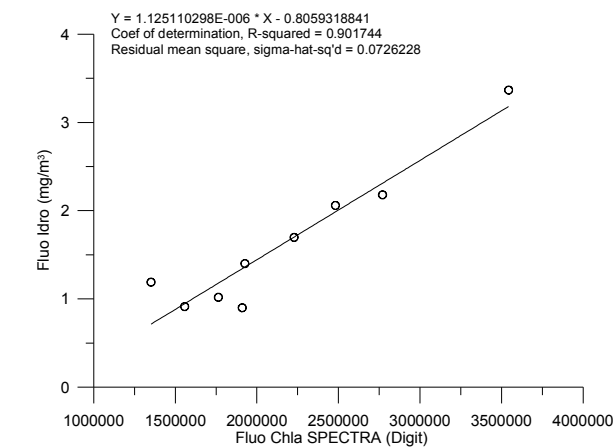


Fig. 6.41. Rette di regressione lineare tra i dati acquisiti dal prototipo *Spectra* e le misure di riferimento

## 7. DISCUSSIONE

Le analisi spettrometriche condotte durante la fase di sviluppo del sensore fluorimetrico CDOM hanno permesso di selezionare i dispositivi ottici di basso costo (LED, lenti, filtri ottici) aventi le caratteristiche spettrali piu' idonee per l'eccitazione ed il rilevamento del segnale di fluorescenza CDOM. I test di laboratorio hanno messo in evidenza l'elevata intensità prodotta dai LED di tipo High Power rispetto ai LED classici, consentendo di aumentare notevolmente il segnale di fluorescenza generato dall'eccitazione delle molecole organiche presenti nel volume d'acqua campionato. La scelta del LED High Power come sorgente di eccitazione UV a 370 nm del sensore di fluorescenza CDOM è scaturita dalle considerazioni di seguito esplicitate. La prima di tipo tecnologico, in quanto i LED UV, di recente commercializzazione, sono caratterizzati da una minore efficienza rispetto ai LED di lunghezza d'onda maggiore. Questa tipologia di LED, infatti, difficile da produrre a causa dell'elevata energia fotonica e della scarsa sensibilità dell'occhio umano alle basse lunghezze d'onda, non ha ancora raggiunto gli standard qualitativi ottenuti con le lunghezze d'onda piu' elevate (Bisegna et al 2011). In aggiunta, la concentrazione della sostanza organica disciolta in acqua di mare è di gran lunga inferiore rispetto a quella di origine terrestre presente nelle acque continentali (Coble, 2007). Questo comporta la necessità di aumentare l'intensità di eccitazione al fine di aumentare l'intensità della fluorescenza emessa da rilevare, in modo tale da ridurre l'incertezza delle misure dovute a segnali prossimi allo zero strumentale. Data la dipendenza diretta tra l'intensità della fluorescenza e quella della radiazione di eccitazione secondo l'equazione (1), aumentando l'intensità della sorgente di eccitazione aumenta anche il segnale di fluorescenza in uscita.

Il filtro ottico selezionato per il modulo di eccitazione della cella fluorimetrica è di tipo *short-pass*, il quale ha rilevato una trasmissione spettrale del 96% per le lunghezze d'onda nel range 320-400 nm ed una regione di cut-off nel range 400-620 nm ( $T\% < 0.2$ ), la quale blocca il passaggio del picco di bassa intensità compreso tra i 500 ed i 700 nm rilevato in tutti i LED testati. Tale requisito è risultato fondamentale per la riduzione della potenziale fonte di rumore che questo picco rappresenta per la misura da rilevare, dal momento che si sovrappone alla banda spettrale caratteristica della fluorescenza CDOM (400-600 nm). Per quanto riguarda il filtro del modulo di ricezione, è stato selezionato il filtro broad-band pass con trasmissione % massima nel range 420-490 nm. Esso, infatti, costituisce il miglior compromesso tra i filtri di tipo *narrow-band* ed i filtri di tipo *IR-cut*, consentendo il passaggio della radiazione di fluorescenza e, nello stesso tempo, bloccando le lunghezze d'onda superiori ai 600 nm, le quali interferiscono con il segnale da misurare.

Il sensore di fluorescenza CDOM sviluppato è stato integrato alla sensoristica T-FLAP per le misure di temperatura, conducibilità e fluorescenza della clorofilla *a* con la realizzazione del prototipo sperimentale *Spectra*, appositamente ideato per la misura *in continuo* sulla superficie del mare da imbarcazioni in movimento. I risultati delle calibrazioni di laboratorio hanno mostrato un'elevata correlazione statistica tra le misure del sensore di fluorescenza CDOM e le concentrazioni note dello standard di riferimento di chinina solfato ( $R^2=0.99$ ) nel range 0-250 ppb QSE. Risultati eccellenti sono stati ottenuti anche per i sensori di temperatura, fluorescenza della clorofilla *a* e conducibilità (Temperatura  $R^2=0.99$ ; Conducibilità  $R^2=0.98$ ; Fluorescenza CDOM  $R^2=0.99$ ; Fluorescenza Chl *a*  $R^2=0.99$ ). La misura della fluorescenza CDOM è risultata particolarmente soggetta alla variazione della temperatura, così come riportato anche da Watras et al., 2014. Le misure di fluorescenza a concentrazione costante al variare della temperatura hanno permesso di calcolare il coefficiente termico specifico con il quale è stato possibile compensare le misure di fluorescenza al variare della temperatura.

L'utilizzo del sensore sviluppato nelle campagne di monitoraggio svolte nell'ambito delle attività di ricerca di questa tesi ha permesso di analizzare la dinamica della sostanza CDOM negli ecosistemi costieri interessati dalla presenza di apporti fluviali e scarichi idrici di origine antropica, in relazione alle caratteristiche chimiche fisiche e biologiche della colonna d'acqua ed alle proprietà ottiche inerenti delle aree indagate. Le misure di fluorescenza CDOM effettuate con il fluorimetro sviluppato sono risultate positivamente correlate con le misure di assorbimento CDOM a 375 nm in tutte le campagne di misura ( $R^2 = 0.96$ ), confermando la bontà delle misure di fluorescenza per la stima dell'assorbimento della sostanza CDOM in acqua di mare riportata da numerosi autori in differenti ambienti acquatici (Ferrari & Tassan, 1991, Hoge et al, 1993, Green & Blough, 1994, Vodacek et al. 1995, Ferrari & Dowell 1998, Ferrari 2000, Chen et al., 2002, Kowalczyk et al, 2003, Del Vecchio & Blough 2004).

I risultati ottenuti attraverso l'applicazione della tecnologia sviluppata nell'ambito della campagna di monitoraggio STIGE hanno permesso di rilevare le masse d'acqua di origine continentale presenti nell'area costiera tra Tarquinia e Civitavecchia individuate mediante telerilevamento da aereo. Il dataset ottenuto ha fornito, così, la verità-mare necessaria per la calibrazione e validazione delle misure multispettrali da aereo (Fig.7.1).

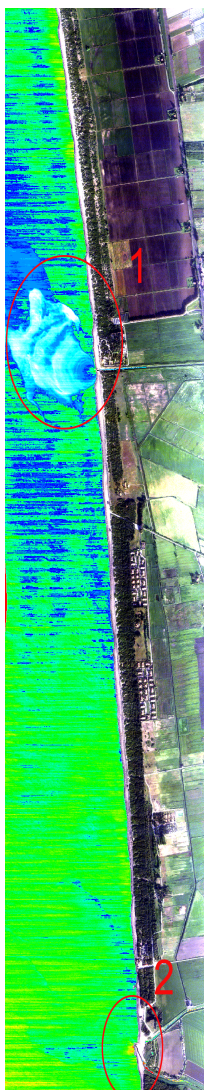


Fig. 7.1. Mappa di temperatura superficiale dai dati telerilevati da aereo durante la campagna STIGE

In particolare è stato osservato che le acque di transizione antistanti le foci dei fiumi Fiora, Marta e Mignone sono risultate caratterizzate dai più bassi valori di salinità e temperatura registrati nell'area di studio e dai massimi valori di fluorescenza CDOM. Questi ultimi dipendono dalla maggior concentrazione di sostanze organiche disciolte presenti nelle acque fluviali, le quali, per effetto del dilavamento dei suoli, accumulano lungo il loro percorso, grandi quantità di materiale organico ed inorganico, disciolto e particolato, dall'intorno territoriale (Kirk, 1994). A conferma di ciò, le concentrazioni del particolato in sospensione (TSM) nel tratto di costa considerato, presentano massimi corrispondenti alle foci dei fiumi Mignone e Fiora, sebbene valori meno elevati siano stati rilevati alla foce del fiume Marta. La mancata corrispondenza dei trend della sostanza CDOM e del TSM alla foce del fiume Marta è in accordo con l'ipotesi di una minor produttività sedimentaria di questo bacino, dimostrata in un precedente studio effettuato dal laboratorio di Oceanologia volto a caratterizzare gli apporti continentali dal punto di vista sedimentologico e

geochimico attraverso l'utilizzo di tecniche geocronologiche (Fig. 7.2). La ragione di questa minor incidenza degli apporti terrigeni è riconducibile alle caratteristiche idrologiche del bacino del Marta dal momento che il fiume è un effluente del Lago di Bolsena. A fronte di un minor trasporto sedimentario, il carico di sostanza organica evidenziata dai valori di CDOM può quindi essere riconducibile ad un maggior impatto degli scarichi urbani (provenienti sia dal lago di Bolsena che dal bacino).

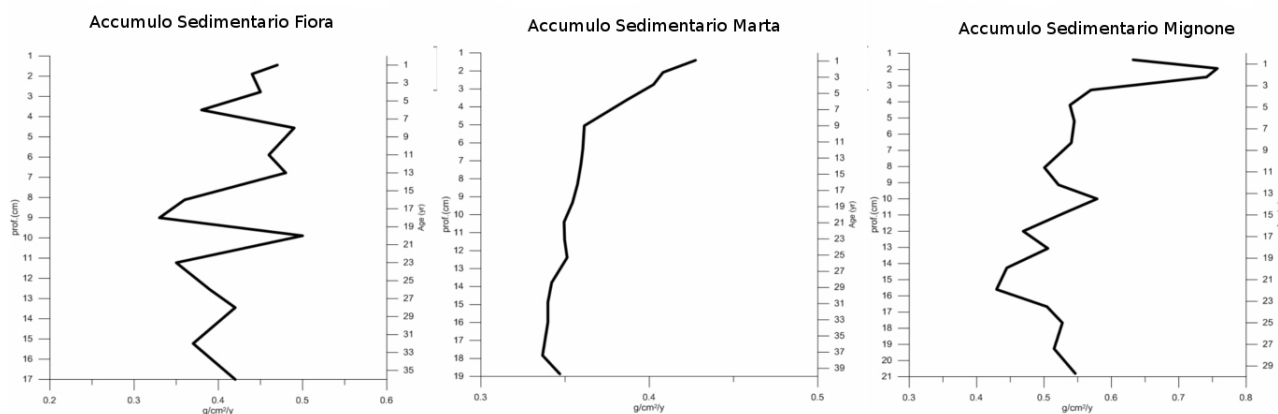


Fig. 7.2. Andamenti dei ratei di accumulo sedimentario in tre carote poste a largo dei fiumi Fiora, Marta e Mignone

Le misure di fluorescenza CDOM effettuate con il prototipo nelle acque costiere antistanti la costa ionica lucana, effettuate durante le campagne IOSMOS, hanno rilevato la presenza di marcati gradienti costa-largo lungo i transetti posti in corrispondenza dei 4 fiumi presenti lungo il tratto di costa oggetto di indagine. Il confronto tra i dati ottenuti nel corso delle campagne di aprile e luglio mostra una maggior concentrazione di sostanze organiche disciolte durante la stagione estiva ( $fCDOM$  media aprile=0.932 ppb QSE;  $fCDOM$  media luglio = 3.037 ppb QSE), da imputare alle abbondanti precipitazioni che hanno preceduto la giornata di misure di luglio.

Lo studio delle proprietà ottiche inerenti ( $a_{ph}$ ,  $a_{NAP}$ ,  $a_{CDOM}$ ) ha messo in evidenza come la sostanza organica disciolta costituisca la componente ottica che maggiormente contribuisce all'assorbimento della radiazione lungo la colonna d'acqua nell'area indagata, variando tra il 40 ed il 60% in aprile e tra il 60 e l'80% in luglio. La pendenza spettrale  $S$  caratteristica dagli spettri di assorbimento CDOM assume valori medi di  $0.024 \text{ nm}^{-1}$ , valore che rientra nell'intervallo di variazione calcolato da Babin et al., 2003 per le acque del Mar Adriatico e del Mar Baltico.

La biomassa fitoplanctonica presenta una concentrazione media superficiale di  $0.42 \text{ mg/m}^3$ , valore inferiore rispetto ai valori generalmente riportati ( $>1 \text{ mg/m}^3$ ) per le acque eutrofiche (Babin et al., 2003). Le misure di assorbimento hanno mostrato come questa componente influisca in modo minore sui fenomeni di assorbimento della luce lungo la colonna d'acqua rispetto alle altre

componenti, con una percentuale di variazione compresa tra il 10 ed il 40% in aprile e tra il 20 ed il 30% a luglio rispetto all'assorbimento totale. Gli elevati livelli di sostanze organiche disciolte, infatti, riducono la disponibilità della luce fotosinteticamente attiva lungo la colonna d'acqua, limitando fortemente la crescita degli organismi fitoplanctonici.

Il particolato in sospensione è caratterizzato da una diminuzione dei valori medi estivi rispetto a quelli primaverili (TSM aprile = 8.85 mg/L; TSM luglio = 5.83 mg/L) alla quale corrisponde un'aumento dei valori di assorbimento CDOM da 0.04 a 0.07 m<sup>-1</sup>. Tale variazione fa supporre una generale condizione di accumulo di particolato in sospensione dovuto alle precipitazioni di fine inverno-inizio primavera ed un aumento dei processi di degradazione batterica della materia organica del periodo estivo. La distribuzione orizzontale del particolato in sospensione (TSM) mostra un marcato picco di massima concentrazione in corrispondenza della foce del fiume Agri ad aprile (16.4 mg/L) e del fiume Basento a luglio (12.8 mg/L). Tali valori sono in accordo con le misure di assorbimento del particolato per le quali si rileva il medesimo trend di valori di *aP440*. Il diagramma triangolare chiarisce la natura detritica di tale particolato, evidenziando come nelle due stazioni considerate l'assorbimento del NAP raggiunga i massimi valori rilevati nel periodo di indagine con un contributo all'assorbimento totale della radiazione incidente rispettivamente del 50 e del 35%.

I risultati ottenuti con il campionamento bio-ottico trovano riscontro nelle caratteristiche idrologiche dei bacini lucani indagati. Tutti i corsi d'acqua della Basilicata hanno un carattere prevalentemente torrentizio. Gli elevati valori di particolato in sospensione ed assorbimento del NAP rilevati sono riconducibili al fatto che il bacino del fiume Agri è il più esteso tra i fiumi indagati (1724 Km<sup>2</sup>), pertanto presenta sorgenti consistenti e portate medie e di magra più elevate rispetto a quelli degli altri bacini. Il fiume Basento, (1534Km<sup>2</sup>), invece, tende a formare ripetuti meandri, con greti larghi, che sono soggetti ad esondazione in occasione dei maggiori eventi di piena e ad impaludamenti nella stagione secca. I massimi valori di particolato in sospensione, assorbimento del NAP e della sostanza organica disciolta in corrispondenza della foce del Basento sono da porre in relazione allo sversamento in mare di acque ricche di detrito. Tale risultato conferma che la condizione estiva di impaludimento a cui vanno incontro i fiumi ed i fossi di minor dimensione può costituire un potenziale rischio per l'ecosistema marino costiero nell'eventualità in cui si verificano abbondanti precipitazioni con relativo sversamento in mare di elevati carichi di nutrienti disciolti e di particolato.

La relazione che intercorre tra i valori di CDOM e Chl viene espressa da un rapporto *CDOM/Chl* di 0.22 m<sup>2</sup>/mg, valore inferiore a quello calcolato da Babin et al. 2003 per le acque di del Mar Adriatico (0.59 m<sup>2</sup>/mg), caratterizzato dalla presenza degli ingenti apporti fluviali del fiume



Po. In particolare, in aprile tale rapporto è più basso (0.09) rispetto a quello rilevato a luglio (0.22), dovuto principalmente alle maggiori concentrazioni di CDOM rilevate durante la stagione estiva. La relazione tra  $a_{CDOM443}/Chl$  mostra come a luglio le due variabili covariano in modo statisticamente più significativo che in aprile (aprile  $R^2=0.01$   $N=25$ ; luglio  $R^2=0.44$   $N=10$ ), ad indicare che nei mesi primaverili il pool di CDOM è costituito prevalentemente dagli apporti di sostanze umiche di origine alloctona, mentre a luglio si rileva una maggiore abbondanza dei prodotti di degradazione metabolica degli organismi fitoplanctonici in decomposizione e dei feopigmenti.

Il rapporto medio TSM/Chl calcolato è di 18.9 g/mg variando da 19.05 in aprile a 18.37 a luglio. Tale valore risulta particolarmente alto se confrontato con quello di altre zone costiere del Mediterraneo (Babin et al. 2003; Massi et al., 2011), ad indicare che l'area è dominata dalla componente particolata sospesa di natura non algale. Tale risultato concorda con la percentuale media di TSM inorganico rilevato in entrambi i mesi di campionamento rispettivamente di 68.7 e 67.1%. A conferma di quanto detto, anche la relazione tra le due variabili (Fig. 6.29b) risulta molto bassa in entrambe le stagioni, sebbene a luglio la correlazione sia più alta di quella calcolata per il mese di aprile, così come per  $a_{CDOM}$  ( aprile  $R^2=0.01$   $N=25$ ; luglio  $R^2=0.30$   $N=10$ ).

I rapporti  $a_{ph443}/Chl$  e  $a_{ph675}/Chl$  mostrano come la concentrazione di clorofilla  $a$  sia strettamente correlata con le misure di assorbimento del fitoplancton in corrispondenza dei due picchi di assorbimento in entrambe le stagioni (aprile  $R^2=0.37$   $N=21$ ; luglio  $R^2=0.87$   $N=9$ ). La generale proporzionalità inversa rilevata tra le concentrazioni di assorbimento specifico  $a_{ph443}^*$  e  $a_{ph675}^*$  e Chl conferma le osservazioni riportate da vari autori (Bricaud et al., 1995; Babin et al., 2003; Massi et al., 2011, Organelli et al., 2011). All'aumentare della concentrazione di Chl aumenta, infatti, il grado di impacchettamento dei pigmenti nelle cellule (*package effect*) con l'aumentare della concentrazione di Chl, con conseguente diminuzione dell'assorbimento specifico. La relazione osservata tra  $a_{ph675}^*$  e Chl risulta meno correlata rispetto a quella osservata tra  $a_{ph443}^*$  e Chl, così come precedentemente osservato da Organelli et al., 2011, i quali ipotizzano che a questa lunghezza d'onda intervengono dei fenomeni lunghezza d'onda dipendenti intrinseci al *package effect*.

Per quanto riguarda l'assorbimento del NAP, come osservato anche per le altre variabili bio-ottiche, si rileva una minor correlazione tra i valori a 443 nm ed i corrispettivi valori di Chl ad aprile rispetto a luglio ( aprile  $R^2=0.08$   $N=25$ ; luglio  $R^2=0.87$   $N=9$ ). Lo stesso andamento viene rilevato nella relazione tra  $a_{NAP}$  e TSM, ad indicare che la condizione primaverile è caratterizzata da una maggior presenza di apporti terrigeni rispetto a quella estiva in cui la concentrazione media di TSM è inferiore (TSM aprile = 8.85 mg/L; TSM luglio = 5.83 mg/L) e maggiormente correlata alle variazioni di Chl.

Gli spettri di riflettanza delle acque costiere lucane presentano la forma tipica delle acque verdi di caso 2, caratterizzate dalla presenza di un picco massimo di riflettanza nel range 500-550 nm. In questa tipologia di acque, infatti, l'assorbimento dei pigmenti fitoplanctonici riveste un'importanza minore rispetto alla presenza di agenti ottici che assorbono le lunghezze d'onda nel blu, determinando una diminuzione della riflettanza a 400 nm e la presenza di un picco massimo nel verde. La relazione tra le modificazioni delle riflettanze spettrali valutate mediante il rapporto blu/verde e la concentrazione di clorofilla *a* conferma la dominanza delle componenti CDOM e NAP nell'assorbimento della luce blu, necessarie per la stima della biomassa fitoplanctonica tramite algoritmi empirici specifici dell'area di studio.

L'elevata correlazione statistica tra i dati acquisiti dai sensori del prototipo *Spectra* e le misure di riferimento (sensori Idronaut ed analisi di laboratorio,  $R^2=0.9$ ) durante la campagna di monitoraggio CIV, hanno confermato la validità dell'applicazione prototipale come sistema di misura *low cost* ed *user friendly* per il monitoraggio e la mappatura superficiale da imbarcazioni in movimento.

I dati ottenuti hanno messo in evidenza la presenza di acque di origine continentale caratterizzate da basse temperature, basse conducibilità ed elevate concentrazioni di sostanza CDOM nell'area più a sud, interessata dalla presenza del fosso Scarpato. Tale condizione è riconducibile agli eventi alluvionali che hanno determinato un aumento della portata dei corsi d'acqua presenti nell'area di studio ed in conseguente sversamento in mare di elevate quantità di materiale disciolto e particellato.

La dinamica di distribuzione della biomassa fitoplanctonica rilevata dal sensore di fluorescenza della clorofilla *a* presenta valori maggiori nell'area nord, nella quale vengono registrate le concentrazioni più basse di solidi sospesi e di fluorescenza CDOM, le quali incidono in maniera minore sull'attenuazione della luce fotosinteticamente attiva disponibile ai processi fotosintetici.

## 8. CONCLUSIONI

Le attività di ricerca svolte nell'ambito di questo studio hanno portato allo sviluppo di un sensore fluorimetrico CDOM a basso costo da integrare alla tecnologia T-FLAP, appositamente ideata per l'impiego da imbarcazioni volontarie (Voluntary Observing Ships). I test di laboratorio hanno dimostrato le elevate accuratezze e sensibilità della sensoristica sviluppata nonché un'ottima correlazione statistica con la strumentazione di riferimento ( $R^2 > 0.9$ ).

Da quanto emerso dalle campagne di misura *in situ* la fluorescenza CDOM costituisce un parametro chiave per la caratterizzazione ottica delle acque di mare, fornendo una stima dell'assorbimento della luce ad opera delle sostanze organiche disciolte. Il monitoraggio di questa variabile risulta di particolare importanza soprattutto in acque costiere interessate dalla presenza di fiumi o di scarichi urbani, che immettono in mare una grande quantità di materia organica di origine continentale, che possono provocare l'instaurarsi di potenziali fenomeni di eutrofizzazione.

L'applicazione *in situ* del prototipo *Spectra* ha confermato la validità del sistema di misura sviluppato per l'acquisizione *in continuo* dei parametri temperatura, conducibilità (salinità-densità), fluorescenza della clorofilla *a* e fluorescenza CDOM sullo strato superficiale del mare, da utilizzare come 'verità mare' per la calibrazione e validazione dei dati telerilevati e dei modelli matematici.

Per quanto attiene alle attività sperimentali future, con lo scopo di ottenere una serie di dati temporali bio-ottici in acque costiere si intende installare il prototipo sviluppato in una stazione fissa di misura in prossimità di un'area portuale (di prossima realizzazione presso il Porto di Riva di Traiano, Civitavecchia).

In conclusione, di grande interesse risulta il proseguimento delle attività sperimentali per l'upgrade della sensoristica sviluppata che porti, infine, all'ingegnerizzazione ed alla commercializzazione di suddetto strumento.

## 9. BIBLIOGRAFIA

AA.VV. (2010). Metodologie di studio del plancton marino ISPRA, Manuali e Linee Guida 56/2010.

Amon, R.M.W., Benner, R. (1996). Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, 41: 41-51.

Babin, M., Morel, A., Fell, F., Stramski D. (2003). Light scattering properties of marine particles in coastal and open ocean waters as related to the particle mass concentration. *Limnol. Oceanogr.*, 48(2): 843–859.

Barber, R.T. (1968). Dissolved organic carbon from deep water resists microbial oxidation. *Nature*, 220: 274-275.

Barlow, R. G., Cummings, D. G., and Gibb, S. W. (1997). Improved resolution of mono- and divinyl chlorophylls a and b and zeaxanthin and lutein in phytoplankton extracts using reverse-phase C-8 HPLC. *Mar. Eco. Pro. Ser.*, 161: 303-307.

Bauer, J.E., Williams, P.M. Druffel, E.R.M. (1992). <sup>14</sup>C activity of dissolved organic carbon fractions in the north-central Pacific and Sargasso Sea. *Nature*, 357: 667-670.

Belzile, C., Roesler, C.S., Christensen, J.P., Shakhova, N. and Semiletov, I. (2006). Fluorescence measured using the WETStar DOM fluorometer as a proxy for dissolved matter absorption. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 67: 441–449.

Benner, R., Pakulski, J.D., McCarthy, M., Hedges, J.I., Hatcher, P.G. (1992). Bulk chemical characteristics of dissolved organic matter in the ocean. *Science*, 255: 1561-1564.

Bidigare, R. R., B. B. Prézelin and R. C. Smith. 1992. Bio-optical models and the problems of scaling. In: *Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea* (P. G. Falkowski and A. D. Woodhead, Eds.), Plenum Press, New York, pp. 175-212.

- Billen, G., Fontigny, A. (1987). Dynamics of a *Phaeocystis*-dominated spring bloom in Belgian coastal waters. II. Bacterioplankton dynamics. Mar. Ecol. Prog. Ser., 37:249-257.
- Bisegna, F., Gugliermetti, F., Barbalace, M., Monti, L. (2010). Stato dell'arte dei LED. Report RDS/2010-138. ENEA-Ministero dello Sviluppo Economico.
- Bricaud, A., Morel, A., Prieur, L. (1981). Absorption by dissolved organic matter in the sea (yellow substance) in the UV and visible domains. Limnol. Oceanogr., 26: 43-53.
- Bricaud, A., D. Stramski. (1990). Spectral absorption coefficients of living phytoplankton and non-algal biogenous matter: a comparison between the Peru upwelling area and Sargasso Sea. Limnology and Oceanography, 35: 562-582.
- Bricaud A., Babin M., Morel A., Claustre H. (1995). Variability in the chlorophyll-specific absorption coefficients of natural phytoplankton: analysis and parameterization. J. Geophys. Res., 100: 13321-13332.
- Bruzzi, D., Marcelli, M. (1990). Sviluppo di una metodologia strumentale automatica per il monitoraggio dei fondali marini. VI Colloquio AIOM (Atti del Convegno): 79-84.
- Caron, D.A., Lim, E.L., Miceli, G., Waterbury, J.B., Valois, F.W. (1991). Grazing and utilization of chroococcoid cyanobacteria and heterotrophic bacteria by protozoa in laboratory cultures and a coastal plankton community. Mar. Ecol. Prog. Ser., 76: 205-217.
- Chen, J., Gu, B.H., LeBoeuf, E.J., Pan, H.J., Dai, S. (2002). Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. Chemosphere, 48: 59-68.
- Coble P.G. (2007). Marine Optical Biogeochemistry: The Chemistry of Ocean Color. Chem. Rev., 107: 402-418.
- Cole, J.J., Findlay, S., Pace, M.L. (1988). Bacterial production in fresh and salt water ecosystems: across-system overview. Mar. Ecol. Prog. Ser., 43:1-10.

Del Castillo, C.E. (2005). Remote Sensing of Organic Matter in Coastal Waters. Remote Sensing of Coastal Aquatic Environments; Miller, R.L., Del Castillo, C.E., McKee, B.A., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2005.

Del Vecchio, R., Blough, N.V. (2004a). Spatial and seasonal distribution of chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in the Middle Atlantic Bight. *Marine Chemistry*, 89: 169-187.

Del Vecchio, R., Blough, N.V. (2004b). On the Origin of the Optical Properties of Humic Substances. *Environmental Science & Technology*, 38(14): 3885-3891.

Dickey, T.D. 1991. The emergence of concurrent high-resolution physical and bio-optical measurements in the upper ocean. *Reviews of Geophysics* 29, 383-413.

Dickey, T.D., Bidigare, R.R. (2005). Interdisciplinary oceanographic observations: the wave of the future. *Scientia Marina*, 69(1): 23-42.

Fasham, M.J.E, Balino, B., Bowles, M., et al. (2001). Ocean Biogeochemistry and Climate Change: JGOFS Achievements 1988-2000. *Ambio* (Stockholm), 10: 4-31.

Ferrari, G., Dowell, M.D. (1998). CDOM absorption characteristics with relation to fluorescence and salinity in coastal areas of southern Baltic Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 47 (1): 91-105.

Ferrari, G., Tassan, S. (1991). On the accuracy of determining light absorption by “yellow substance” through measurement of induced fluorescence. *Limnol. Oceanogr.*, 36 (4): 777-786.

Ferrari, G.M. (2000). The relationship between chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in the European Atlantic coastal area and in the west Mediterranean Sea (Gulf of Lions). *Marine Chemistry*, 70: 339-357.

Fuhrman, J.A., Ferguson, R.L. (1986). Nanomolar concentrations and rapid turnover of dissolved free aminoacids in sea water: agreement between chemical and microbiological measurements. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 33: 237-242.

- Gieskes W.W.C., Kraay G.W. (1983). Dominance of Cryptophyceae during the phytoplankton spring bloom in the central North Sea detected by HPLC analysis of pigments. *Mar. Biol.*, 75: 179-185.
- Green, S.A., Blough, N.V. (1994). Optical absorption and fluorescence properties of chromophoric dissolved organic matter in natural waters. *Limnol. Oceanogr.*, 39 (8): 1903-1916.
- Gregg, W.W., Casey, N.W. (2004). Global and regional evaluation of the SeaWiFS chlorophyll data set. *Remote Sens. Environ.*, 93: 463–479.
- Guilbault, G. G. (1990). Practical fluorescence. CRC Press; 2 edition.
- Hansell, D.A., Carlson, C.A. (1998). Net community production of dissolved organic carbon. *Global Biogeochemical Cycles*, 12(3): 443-453.
- Hedges, J.I. (1992): Global biogeochemical cycles: progress and problems. *Mar. Chem.*, 39: 67-93.
- Hedges, J.I. (2002): Why dissolved organics matter? *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*, Academic Press, San Diego: 1–33.
- Herndl G.J., Muller-Niklas G., Frick J. (1993). Major role of ultraviolet-B in controlling bacterioplankton growth in the surface layer of the ocean. *Nature* 361:717–19.
- Hoge, F.E., Vodacek, A., Blough, N.V. (1993). Inherent optical properties of the ocean: retrieval of absorption coefficient of chromophoric dissolved organic matter from fluorescence measurements. *Limnol. Oceanogr.*, 38 (7): 1394-1402.
- Hu, C., Muller-Karger, F.E., Swarzenski, P.W. (2006). Hurricanes, submarine groundwater discharge and Florida's red tides. *Geophys. Res. Lett.* 33, L11601.
- Jeffrey S.W., Humphrey G.F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen.*, 167: 191-194.

- Jumars, P. A., Penry, D. L., Baross, J. A., Perry, M. J., Frost, B. W. (1989). Closing the microbial loop: dissolved carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and absorption in animals. *Deep-sea Res.*, 36: 483-495.
- Kalle, K. (1949). Fluoreszenz und Gelbstoff im Bottnischen und Finnischen Meerbusen. *Dtsch. Hydrogr. Z.*, 2: 117-124.
- Keil R.G., Kirchman D.L. (1999). Utilization of dissolved protein and amino acids in the northern Sargasso Sea. *Aquatic Microbial Ecology*, 18: 293-300.
- Kieber, D.J., McDaniel, J., Mopper, K. (1989). Photochemical source of biological substrates in sea water: implications for carbon cycling. *Nature*, 341: 637-639.
- Kirk, J.T.O. (1994). *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*, Second Edition, Cambridge Univ. Press.
- Kishino, M., Takahashi, M., Okami, N. and Ichimura, S. (1985). Estimation of the spectral absorption coefficients of phytoplankton in the sea. *Bull. Mar. Sci.*, 37: 634-642.
- Kowalczyk, P., Cooper, W. J., Whitehead, R. F., Durako, M. J., Sheldon, W. (2003). Characterization of CDOM in an organic-rich river and surrounding coastal ocean in the South Atlantic Bight. *Aquat. Sci.*, 65: 384-401.
- Laane, R.W.P.M., Koole, L. (1982). The relation between fluorescence and dissolved organic carbon in the Ems-Dollert estuary and the western Wadden Sea. *Neth. J. Sea Res.*, 15: 217-22.
- Lazzara L. (1995). Phytoplankton pigments: photoadaptation, in vivo optical properties and primary production estimates. *Gio. Bot. Ital.*, 129: 1244-1255.
- Lazzara L., Bianchi F., Massi L., Ribera D'Alcalà M. (2010). Pigmenti clorofilliani per la stima della biomassa fototrofa. *Manuali e Linee guida ISPRA 56/2010. Metodologie di studio del plancton marino*. ISBN 978-88-448-0427-5. pp.365-377.



- Lee, Z.P., Hu, C. (2006). Global distribution of Case-1 waters: An analysis from SeaWiFS measurements. *Remote Sens. Environ.*, 101, 270–276, 2006.
- Lessard E.J., Foy M.S., Garrison D.L., and Gowing M.M. (1995). Grazing on phytoplankton blooms in the Ross Sea polynya: November and December 1994. *Antarct. J. US* 30, 214-215.
- Manahan D.T., Richardson K. (1983). Competition studies on the uptake of dissolved organic nutrients by bivalve larvae (*Mytilus edulis*) and marine bacteria. *Mar Biol.* 75, 241-247.
- Lorenzen C.J. (1967). Determination of chlorophyll and phaeopigments spectro-photometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, 12: 343-346.
- Lorenzen C.J., Jeffrey S.W. (1980). Determination of chlorophyll in sea water. UNESCO Tech. Pap. Mar. Sci., 35: 1-20.
- MacKenzie, F.T. (1981). Global carbon cycle: Some minor sinks for CO<sub>2</sub>. In "Flux of Organic Carbon by Rivers to the Ocean (G.E. Likens, F.T. MacKenzie, J.E. Richey, J.R. Sedell and K.K. Turekian, Ed.): 360-384. U.S. Dept. of Energy, Washington, DC.
- Mantoura R.F.C., Llewellyn C.A. (1983). The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse phase HPLC. *Anal. Chem. Acta*, 151: 297-314.
- Marcelli, M., Di Maio, A., Donis, D., Mainardi, U., Manzella G. (2007). Development of a new expendable probe for the study of the pelagic ecosystems from Voluntary Observing Ships. *Ocean Science*, 3(2): 311-320.
- Marcelli, M., Fresi, E. (1997). The Sarago Project. *Sea Technology*. Issue: 62-67.
- Marcelli, M., Piermattei, V., Petri, A., Madonia, A., Pannocchi, A., Mainardi, U. (2010). New Low Cost Technological Developments for Sea Monitoring: Satellite“Sea Truth” and Model Validation”. *Proceedings “Oceans From Space” Venice 2010, JRC Scientific and Technical Reports JRC Publication n. 57986: 155-156.*

- Marcelli, M., Zappalà, G., Piermattei, V. (2010). A small boat-towed profiling vehicle for coastal water quality assessment. Proceedings of the 5th EuroGOOS Conference “Coastal to Global Operational Oceanography: Achievements and Challenges”. EuroGOOS Publication n. 28: 153-157.
- Marchant, H.J., Scott, F.J. (1993). Up take of sub-micrometre particle sand dissolved organic material by Antarctic choanoflagellates. Mar. Ecol. Prog. Ser., 92: 59-64.
- Massi, L., Biondi, N., Innamorati, M., Lazzara, L. (1997). L'assorbimento della luce da parte del fitoplancton e del detrito. Biol. Mar. Med., 4: 66-73.
- Massi L., Lazzara L. (2010). Misure spettrali di assorbimento e fluorescenza in vivo del fitoplancton. Manuali e Linee guida ISPRA 56/2010. Metodologie di studio del plancton marino. ISBN 978-88-448-0427-5. pp.389-404.
- Massi L., Santini C., Pieri M., Nuccio C., Maselli F. (2011). Use of MODIS imagery for the optical characterization of Western Mediterranean waters. Italian Journal of Remote Sensing, 43 (3): 19-27.
- Mitchell B. G., Kahru M., Wieland J., Stramska M. (2003). Determination of spectral absorption coefficients of particles, dissolved material and phytoplankton for discrete water samples. NASA/TM-2003-211621/Rev4-Vol.IV.
- Moisan T.A., Mitchell B.G. (2001). UV absorption by mycosporine-like amino acids in *Phaeocystis antarctica* Karsten induced by photosynthetically available radiation. Mar. Biol. 138:217–27.
- Moran, M.A., Zepp, R.G. (1997). Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. Limnol. Oceanogr., 42: 1307-1316.
- Morel, A., Gentili, B. (2009). Yellow substance and the shades of blue in the Mediterranean Sea. Biogeosciences, 6: 2625-2636.
- Mopper, K., Zhou, X., Kieber, R.J., Kieber, D.J., Sikorski, R.J., Jones, R.D. (1991). Photochemical degradation of dissolved organic carbon and its impact of the oceanic carbon cycle. Nature, 353: 60-62.

- Nelson, N.B., Siegel, D.A., Michaels, A.R. (1998). Seasonal dynamics of colored dissolved material in the Sargasso Sea. *Deep-Sea Res.*, 145: 931-957.
- Nelson N. B., Siegel D.A. (2013). Global distribution and dynamics of chromophoric dissolved organic matter. *Annu. Rev. Mar. Sci.* 2013. 5:447–76.
- Organelli E., Nuccio C., Melillo C., Massi L. (2011). Relationships between phytoplankton light absorption, pigment composition and size structure in offshore areas of the Mediterranean Sea. *Advances in Oceanography and Limnology*, 2(2):107-123.
- Piermattei, V, Bortoluzzi, G, Cozzi, S., Di Maio A., Marcelli, M. (2006). Analysis of mesoscale productivity processes in the Adriatic sea: comparison between data acquired by SARAGO, a towed undulating vehicle, and by CTD casts. *Chemistry and Ecology*, 22: 275-292.
- Pinardi, N., Allen, I., Demirov E., De Mey P., Korres G., Lascaratos A., Le Traon, P.Y., Maillard, C., Manzella, G., Tziavos, C. (2003). The Mediterranean ocean Forecasting System: first phase of implementation (1998-2001). *Annales Geophysicae*, 21: 3–20.
- Prieur, L., Sathyendranath S. (1981). An optical classification of coastal and oceanic waters based on the specific spectral absorption curves of phytoplankton pigments, dissolved organic matter, and other particulate materials. *Limnol. Oceanogr.*, 26(4): 671-689.
- Rich, J., Gosseln, M., Sherr, E., Sherr, B., Kirchman, D.L. (1997). High bacterial production, uptake and concentrations of dissolved organic matter in the Central Arctic Ocean. *Deep Sea Res.*, 7/44: 1645-1663.
- Roesler, C. S., Perry M. J. (1989). Modeling in situ phytoplankton absorption from total absorption spectra in productive inland marine waters. *Limnol. Oceanogr.*, 34(8):1510-1523.
- Santinelli, C. (2008). Il ruolo centrale della sostanza organica disciolta in mare nel ciclo globale del Carbonio. *Acqua e territorio*, Anno IV, numero 19.
- Sherr, E., Sherr, B. (1988). Roles of microbes in pelagic food webs: a revised concept. *Limnol. Oceanogr.*, 33: 1225-1257.

- Skoog, A., Benner, R. (1997). Aldoses in various size fractions of marine organic matter: implications for carbon cycling. *Limnol. Oceanogr.*, 42: 1803-1813.
- Skoog, A., Biddanda, B., Benner R. (1999). Bacterial utilization of dissolved glucose in the upper water column of the Gulf of Mexico. *Limnol. Oceanogr.*, 44(7): 1625–1633.
- Smith R.C., Prezelin B.B., Baker K.S., Bidigare R.R., Boucher N.P., et al. 1992. Ozone depletion: ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters. *Science* 255:952–59.
- Stedmon C.A., Markeager S., Kaas H. (2000). Optical properties and signature of chromophoric dissolved organic Matter (CDOM) in Danish coastal waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 51: 267-278. doi: <http://dx.doi.org/10.1006/ecss.2000.0645>.
- Steinberg D.K., Carlson C.A., Bates N.R., Johnson R.J., Michaels A.F., Knap A.F. (2001). Overview of the U.S. JGOFS Bermuda Atlantic Time-series Study (BATS): a decade-scale look at ocean biology and biogeochemistry. *Deep-Sea Res. II* 48:1405–47.
- Strickland, J.D.H., T.R. Parsons. (1972). A practical handbook of seawater analysis. Fish. Res. Board Can. Bull. 167, 2nd ed.
- Takahashi, T., Olafsson, J., Goddard, J.G., Chipman, D.W., Sutherland S.C. (1993). Seasonal variation of CO<sub>2</sub> and nutrients in the high-latitude surface oceans: a comparative study. *Global Biogeochem. Cycles*, 7(4): 843–878.
- Tassan, S., Ferrari, G.M. (1995). An alternative approach to absorption measurements of aquatic particles retained on filters. *Limnol. Oceanogr.*, 40: 1358-1368.
- Tassan, S., Ferrari, G.M. (2002). A sensitivity analysis of the “Transmittance-Reflectance” method for measuring light absorption by aquatic particles. *Journal of Plankton Research*, 24 (8): 757-774.
- Thorpe, S. A. (2009). *Encyclopaedia of Ocean Science: Measurement Techniques, Sensors and Platforms*, Elsevier Academic Press, ISBN: 978-0-08-096487-4.

- Tranvik, L.J. (1993). Microbial transformation of labile dissolved organic matter into humic-like matter in sea water. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 12: 177-183.
- Twardowski, M.S., Sullivan, J.M., Donaghay, P.L., Zaneveld, J.R.V. (1999). Microscale quantification of the absorption by dissolved and particulate material in coastal waters with an ac-9. *J. Atmos. Ocean Tech.*, 16: 691-707.
- Twardowski M.S., Boss E., Sullivan J.M., Donaghay P.L. (2004). Modelling the spectral shape of absorption by chromophoric dissolved organic matter. *Mar. Chem.*, 89: 69-88. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marchem.2004.02.008>.
- Vernet M. & Whitehead K. (1996). Release of ultraviolet-absorbing compounds by the red-tide dinoflagellate *Lingulodinium polyedra*. *Mar. Biol.* 127:35–44.
- Vidussi F., Claustre H., Bustillos-Guzman J., Cailliau C., Marty J.-C. (1996). Determination of chlorophylls and carotenoids of marine phytoplankton: separation of chlorophyll a from divinyl-chlorophyll a and zeaxanthin from lutein. *J. Plankton Res.*, 18: 2377-2382.
- Vodacek, A, Hoge, F.E., Swift, R.N., Yungel, J.K., Peltzer, E.T., Blough, N.V. (1995). The use of *in situ* airborne fluorescence measurements to determine UV absorption coefficients and DOC concentrations in surface waters. *Limnol. Oceanogr.* 40: 411-415.
- Watras, C.J., Morrison, K.A., Mather, J., Milewski, P., Hanson P.C. (2014). Correcting CDOM fluorescence measurements for temperature effects under field conditions in freshwaters. *Limnol. Oceanogr. Methods* 12: 23–24.
- Williams, P.M., Druffel, E.R.M. (1987). Radiocarbon in dissolved organic matter in the central North Pacific Ocean. *Nature*, 330: 246-248.