

## **Caratterizzazione ambientale delle acque del Golfo dell'Asinara (Sardegna) attraverso l'uso di spettrofluorimetria laser e immagini telerilevate**

Ileana Iocola (\*), Daniele Pittalis (\*\*), Massimo Iannetta (\*\*\*), Antonella Lugliè (\*\*\*\*), Bachisio Padedda (\*\*\*\*), Silvia Pulina (\*\*\*\*), Nicola Sechi (\*\*\*\*), Luca Fiorani (\*\*\*\*), Ivano Menicucci (\*\*\*\*), Antonio Palucci (\*\*\*\*)

(\*) InTReGA srl, Piazza Ruiu 2, 07100 Sassari, Italia, Tel./Fax +39 0794920127, info@intrega.it

(\*\*) Dipartimento di Ingegneria del Territorio, Sezione Geopedologia e Geologia Applicata, Università di Sassari  
Viale Italia 39, 07100 Sassari, Italia

(\*\*\*) UTAGRI, ENEA, Via Anguillarese 301, 00123 Santa Maria di Galeria (Roma), Italia

(\*\*\*\*) Dipartimento di Scienze Botaniche, Ecologiche e Geologiche, Università di Sassari  
Via Piandanna 4, 07100 Sassari, Italia

(\*\*\*\*\*) UTAPRAD-DIM, ENEA, Via Enrico Fermi 45, 00044 Frascati, Italia

### **Abstract**

Obiettivo principale di questo studio (finanziato dalla L.R. 7 “Promozione della ricerca scientifica e dell’innovazione tecnologica” della Regione Autonoma della Sardegna per il periodo Maggio 2010 - Maggio 2012) è rappresentato dalla calibrazione di algoritmi bio-ottici per una stima più accurata di Clorofilla-a (Chl-a) nelle acque del Golfo dell’Asinara (Nord Sardegna, Italia) utilizzando dati telerilevati e misure *in situ*.

Le misure *in situ* sono state effettuate con lo spettrofluorimetro laser portatile CASPER (Compact e Advanced Laser Spectrometer - Brevetto ENEA) che ha permesso non solo di quantificare le concentrazioni di Chl-a ma anche di individuare la presenza di altri pigmenti algali (ficoeritrina, ficocianina), di sostanze organiche disciolte (CDOM) e sospese (tirosina, triptofano) e di rilevare l’esistenza di inquinanti dispersi (oli grezzi o raffinati).

Al momento i valori di Chl-a raccolti *in situ* sono stati semplicemente confrontati con i dati ottenuti dall’algoritmo MODIS OC3. Al fine di ottenere migliori risultati l’algoritmo verrà ricalibrato per l’area di studio utilizzando le misure di Chl-a che saranno raccolte durante il prossimo anno di attività di ricerca.

The general objective of this research (financed by L.R. 7 of the Autonomous Region of Sardinia for the period May 2010 –May 2012) is to calibrate bio-optical algorithm for more accurate estimates of phytoplanktonic Chl-a in the Asinara Gulf (Northern Sardinia, Italy) using remote sensing data and *in situ* measurements.

The “sea truth” values of Chl-a were obtained with the new laser spectrofluorometric apparatus CASPER (Compact and Advanced laser SPECTrometeR – Patent ENEA). CASPER permitted not only to quantify values of Chl-a but also to detect other algal pigments (phycoerythrin, phycocyanin), chromophoric dissolved organic matter (CDOM), proteins-like components (tyrosine, tryptophan), and qualitative data on the presence of hydrocarbons and oil pollution

At the moment “sea truth” data of Chl-a were just compared to standard chlorophyll products of MODIS OC3 algorithm. In order to reach better results, the bio-optical algorithm is going to be recalibrated according to the measurements of CASPER during the next year, thus providing new estimates of phytoplanktonic Chl-a in the Asinara Gulf

## Introduzione

Il fitoplancton è considerato uno dei principali costituenti dell'ecosistema marino in grado di svolgere un ruolo importante nella regolazione del clima dell'intero pianeta (Cloern & Jassby 2009). La biomassa fitoplanctonica può essere stimata mediante misure di concentrazione di Chl-a (Morel, Berthon, 1989). L'obiettivo principale di questo studio è rappresentato dalla calibrazione dell' algoritmo bio-ottico MODIS OC3 per la stima delle concentrazioni di Chl-a da satellite nelle acque del Golfo dell'Asinara al fine di ottenere delle nuove e più precise equazioni specifiche per l'area di studio. Le differenze tra i diversi algoritmi bio-ottici empirici esistenti a scala globale risiedono principalmente nella scelta delle riflettanze per i rapporti di banda e dei diversi coefficienti. Per migliorare le prestazioni di questi algoritmi nel Mar Mediterraneo sono stati sviluppati nuovi algoritmi regionali che comunque presentano ancora una forte sovrastima o sottostima della Chl-a rispetto ai dati *in situ* se si applicano a scala locale (Colella, 2007). Lo sviluppo di nuove equazioni bio-ottiche previste dal progetto per la definizione di più idonei coefficienti da utilizzare nell'area di studio, permetterà una maggiore accuratezza nella stima da satellite della Chl-a e di conseguenza della biomassa fitoplanctonica.

## Metodologia

I dati *in situ* sono stati raccolti in base allo schema di campionamento riportato in Figura 1, stabilito in modo da ottenere informazioni da luoghi con diverso grado di inquinamento (dalla zona industriale di Porto Torres all'area marina protetta del Parco dell'Asinara) e da ricoprire la zona costiera, le aree di mare aperto e la zona eufotica con prelievi a diverse profondità. Sono stati individuati 6 transetti (BL-Balai, RM-Rio Mannu, FS-Fiume Santo, IN-Intermedio presso le Saline, ST-Stintino e CR-Cala Reale) con 3 stazioni a 500m, 1500m e 3000 m di distanza dalla costa e in ogni stazione i campioni di acqua sono stati prelevati a 0 e 10 m di profondità utilizzando una bottiglia Niskin. Attualmente sono stati effettuati 5 campionamenti: il 3/08/2010, il 16/12/2010, il 9/02/2011, il 29/04/2011 e l'8/07/2011. Nell'ultimo campionamento lo schema è stato ampliato per incrementare il numero delle "verità a terra" da confrontare con i dati satellitari.

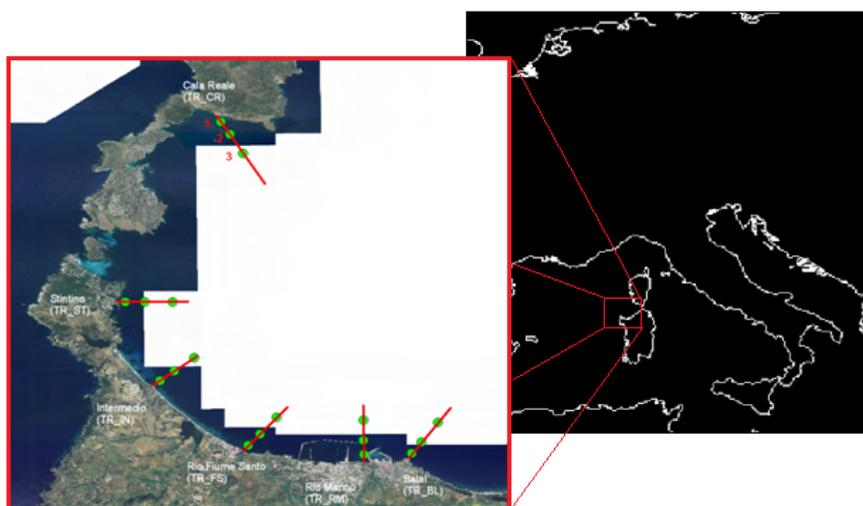


Figura 1— Schema di campionamento.

I campioni di acqua sono stati analizzati in tutte le stazioni con lo spettrofluorimetro CASPER (Brevetto ENEA N° RM2005A000269) realizzato nei laboratori dell'Unità Tecnica Sviluppo di applicazioni delle radiazioni (UTAPRAD) dell'ENEA di Frascati. CASPER (Figura 2) impiega due

sorgenti laser per ottenere una eccitazione selettiva (nell'ultravioletto a 266 nm e nel visibile a 405 nm) ed effettua una doppia filtrazione (il campione viene analizzato tal quale e con filtrazione a 0,22  $\mu\text{m}$ ) al fine di ottenere una doppia analisi dello stesso campione per aumentare la discriminazione degli analiti. Per ogni prelievo si ottengono quindi 4 diverse firme spettrali: due firme con eccitazione a 266 nm e 405 nm relative al campione analizzato tal quale e due firme ottenute sempre con le stesse sorgenti di eccitazione ma con campione filtrato.

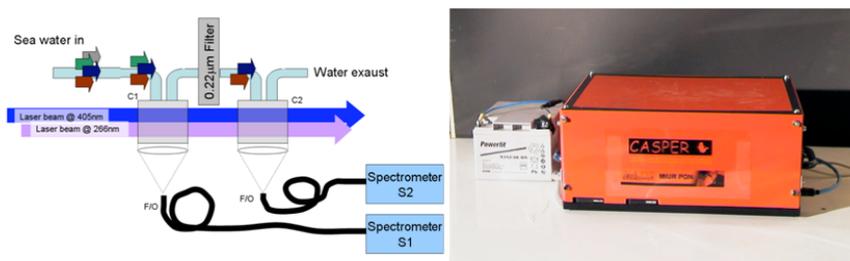


Figura 2 – Apparato Casper: schema a blocchi (a sinistra) e foto del sistema completo (a destra).

Gli spettri raccolti presentano una complessità di contributi dati da ogni singola sostanza presente nel campione che è stato necessario individuare con tecniche di deconvoluzione dopo una prima sottrazione del fondo spettrale. Si è integrato poi il contributo di ogni singola componente spettrale per un intervallo definito di  $\Delta\lambda = 10$  nm, in modo da compensare gli effetti dovuti allo spostamento del centro banda, e a rilasciare i dati normalizzati al relativo contributo di emissione dovuto allo scattering Raman dell'acqua (concentrazione in unità Raman). La normalizzazione con il segnale Raman dell'acqua permette di avere uno standard interno che tiene conto dei fattori sperimentali e consente di confrontare dati acquisiti da altri strumenti che utilizzano la stessa tecnica (Barbini *et al.* 1999; Colao *et al.*, 2007).

Nei campionamenti di Agosto 2010, Dicembre 2010 e Aprile 2011, nelle stazioni a 500 m dalla costa, grazie alla collaborazione con il Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale dell'Università di Sassari, è stata utilizzata una sonda multiparametrica (Idronaut/YSI 6600V2) per ottenere profili verticali di temperatura, salinità, ossigeno disciolto, pH e fChl-a. La trasparenza è stata invece misurata con disco Secchi. Sempre nelle medesime stazioni, in superficie sono stati inoltre prelevati:

- 5 litri di acqua per misure standard di Chl-a in laboratorio con spettrofotometria dopo estrazione del pigmento in acetone a 90% (UNESCO, 1997);
- 2 x 500 ml di acqua fissati uno con soluzione Lugol e l'altro con formaldeide per le analisi del fitoplancton (densità, biomassa e composizione in specie; Utermöhl H., 1958).

## Risultati

### Spettrofluorimetria laser

In Tabella 1 sono riportati i picchi di emissione spettrale (ognuno associato ad un determinato analita) per il momento individuati ed analizzati con CASPER e restituiti in intensità rapportate alla banda Raman.

Tabella 1 – Lunghezze d'onda analizzate con lo spettrofluorimetro CASPER.

Lunghezze d'onda	□ <sub>exc</sub> [nm]	□ <sub>em</sub> [nm]
Laser	266	266
Raman		291
Tirosina		305
Triptopano		345
CDOM		450
Laser	405	405
Raman		468
Ficoeritrina		575
Ficocianina		645
Clorofilla a		680

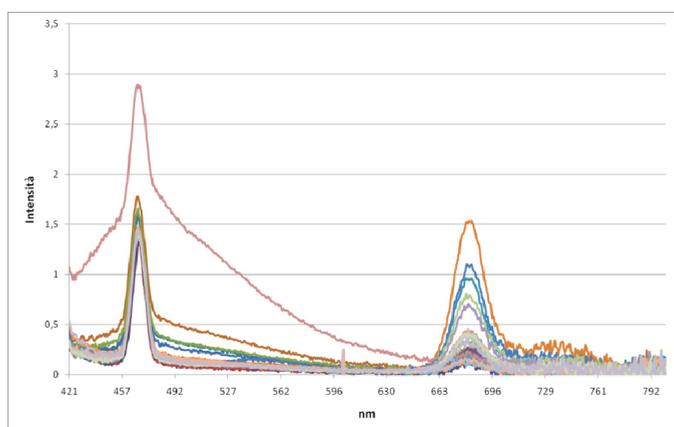


Figura 3 – Esempi di spettri ottenuti con eccitazione a 405 nm e nessuna filtrazione in cui sono evidenti i picchi di Chl-a a 680 nm e la banda del Raman a 468 nm.

L'affidabilità di CASPER per la determinazione dei valori di Chl-a è stata valutata confrontando i risultati di fluorescenza del picco a 680 nm in unità Raman con misure standard di laboratorio ottenute con tecniche spettrofotometriche (Figura 4)

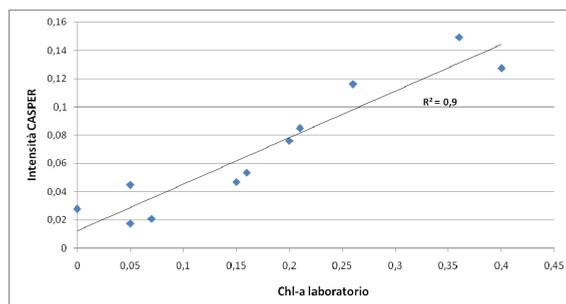


Figura 4 – Correlazione fra le intensità ottenute con CASPER e i valori di laboratorio di Chl-a.

La buona correlazione fra i dati ( $R^2 = 0.9$ ) ha permesso la costruzione di una curva di calibrazione (analisi quantitativa) capace di trasformare i dati di fluorescenza in concentrazioni assolute. In Tabella 2 è stata riportata una sintesi dei valori di Chl-a superficiali rinvenuti nei diversi campionamenti. Il campionamento di Luglio 2011 è stato omesso in quanto la modifica dello schema con l'inserimento di maggiori punti off-shore e l'eliminazione dei prelievi a 500 m dalla costa, non avrebbe permesso un confronto omogeneo con gli altri dati. I valori più alti di Chl-a sono stati riscontrati nelle stazioni più occidentali (Rio Mannu e Balai) e nei mesi invernali.

Tabella 2 – Valori di Chl-a superficiali (ug/l) ottenuti nei diversi campionamenti.

	Media	Dev.Standard	Valore Massimo	Valore Minimo
Agosto 2010	0.23	0.41	RM 1500 m = 1.54	ST 500 m = 0
Dicembre 2010	0.37	0.19	RM 1500 m = 1.79	ST 3000 m = 0.07
Febbraio 2011	0.83	0.93	BL 1500 m = 3.19	IN 1500 m = 0.07
Aprile 2011	0.22	0.11	RM 1500 m = 0.44	CR 1500 m = 0.08

Lo spettrofluorimetro CASPER si è dimostrato un valido strumento anche per l'individuazione di idrocarburi disciolti o sospesi nell'acqua di mare. Dopo il versamento di circa 45 mila litri di olio combustibile (di tipo Orimulsion) avvenuto l'11 Gennaio 2011 nelle acque del Golfo dell'Asinara a causa di un incidente occorso al molo della centrale elettrica E.on di Fiume Santo durante le operazioni di carico, è stato raccolto del bitume rinvenuto presso la spiaggia.

L'olio combustibile grezzo, eccitato a 266 nm, ha evidenziato una firma spettrale simile a quella ottenuta da acque con presenza di sostanza organica disciolta (CDOM) con picco di emissione a circa 450 nm o a valori maggiori a seconda degli idrocarburi presenti. I due segnali possono però essere differenziati grazie alla filtrazione a 0.22  $\mu\text{m}$  che permette il passaggio della sola CDOM (Figura 5).

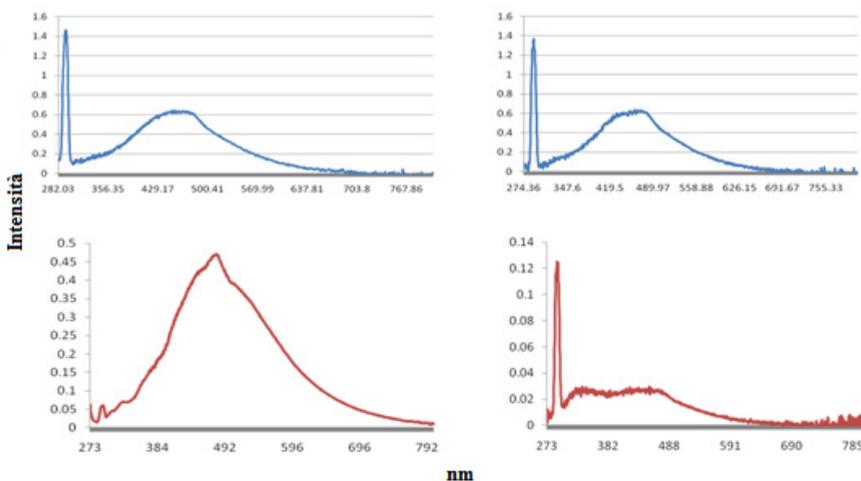


Figura 5 – Firme spettrali di acqua con presenza di CDOM (in alto) e olio grezzo in acqua Milli-Q (in basso) prima (sinistra) e dopo la filtrazione (destra).

Anche gli oli raffinati (tipo diesel o gasolio) si sono dimostrati capaci di emettere fluorescenza con picchi a circa 340-360 nm e possono essere tranquillamente rilevati con la spettrofluorimetria tramite eccitazione in UV. Anche in questo caso le sostanze oleose raffinate non passano dopo filtrazione a 0.22 µm.

In Figura 6 sono riportati gli spettri di emissione (prima e dopo la filtrazione) dei campioni eccitati a 266 nm prelevati a febbraio 2011 ad un mese di distanza dal versamento di olio combustibile. In alcune stazioni si può constatare la presenza di idrocarburi.

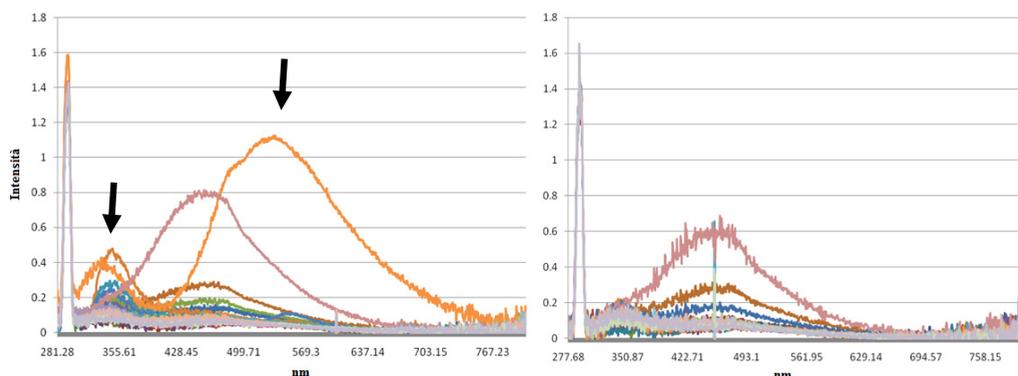


Figura 6 – Spettri con eccitazione a 266 nm prima (sinistra) e dopo la filtrazione (destra) ottenuti durante il campionamento di febbraio 2011.

### Analisi del fitoplancton

L'andamento temporale e spaziale della composizione in classi del fitoplancton, relativa ai valori di densità, è riportato in Figura 7. Le Bacillariophyceae, le Dinophyceae e le Cryptophyceae sono state le classi più importanti fra quelle riscontrate nei campionamenti di Agosto e Dicembre 2010, mentre in Aprile 2011 è stata notata una maggiore rilevanza delle Bacillariophyceae e delle Cyanophyceae. Il valore massimo di densità fitoplanctonica ( $160 \times 10^3 \text{ cell l}^{-1}$ ) è stato osservato nella stazione di Balai nel mese di Dicembre 2010.

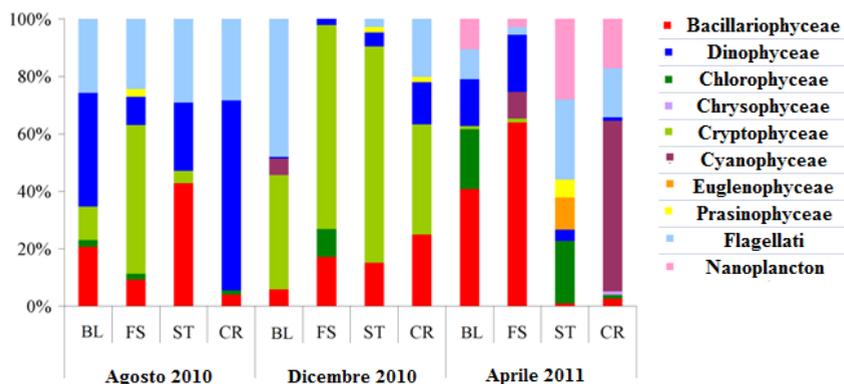


Figura 7 – Andamento temporale e spaziale della composizione in classi del fitoplancton.

### Confronto con algoritmo OC3 MODIS

Al momento i valori di Chl-a superficiali raccolti *in situ* sono stati semplicemente confrontati con i dati ottenuti dall'algoritmo MODIS OC3 (Ocean Chlorophyll 3 band). Dal sito [oceancolor.gsfc.nasa.gov](http://oceancolor.gsfc.nasa.gov) sono state scaricate le immagini MODIS (disponibili in hdf) di livello 2 con risoluzione di 1 km corrispondenti ai giorni in cui sono stati eseguiti i campionamenti e sono state scartate quelle non sgombre da copertura nuvolosa. Solo le immagini relative ai campionamenti di Agosto 2010, Aprile 2011 e Luglio 2011 hanno presentato le condizioni ideali per procedere con l'elaborazione per ottenere i dati di Chl-a dell'algoritmo bio-ottico (Figura 8). In Figura 9 sono riportati i valori di R2 e RMSE (Root Mean Square Error) ottenuti dal confronto nei 3 mesi campionati. Al fine di ottenere migliori risultati l'algoritmo verrà ricalibrato per l'area di studio utilizzando le misure di Chl-a che saranno raccolte durante il prossimo anno di attività di ricerca.

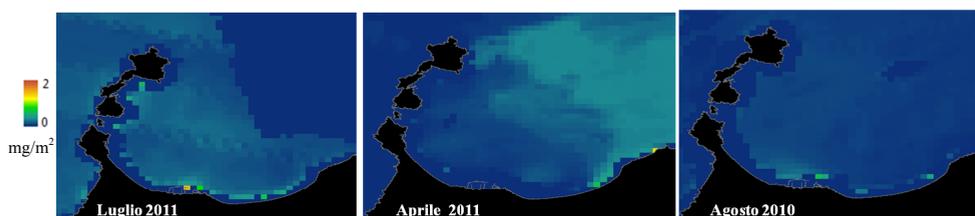


Figura 8 – Mappe di Chl-a ottenute con l'algoritmo bio-ottico MODIS OC3 relative ai diversi mesi di campionamento.

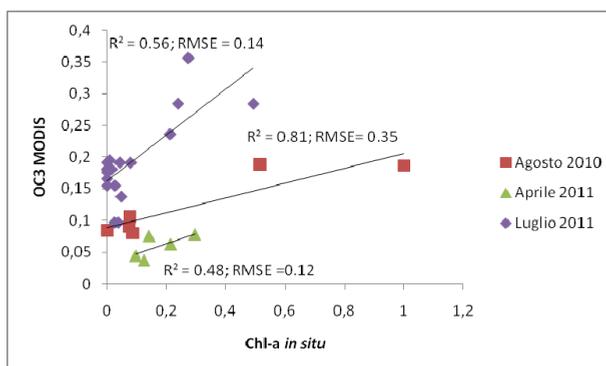


Figura 9 – Confronto dei dati di Chl-a *in situ* con i dati dell'algoritmo MODIS OC3 nei diversi mesi di campionamento.

### Conclusioni

Le misure effettuate nel Golfo dell'Asinara attraverso lo spettrofluorimetro CASPER stanno consentendo non solo la determinazione su larga scala della clorofilla ma anche l'individuazione e la quantificazione di altre sostanze organiche o inquinanti dispersi nelle acque. L'acquisizione di nuove informazioni sulle modalità di fluorescenza di ogni sostanza organica individuata sta permettendo quindi la realizzazione di una libreria spettrale che potrà essere utilizzata in qualsiasi altro studio per l'individuazione rapida delle sostanze incognite.

La calibrazione dell'algoritmo bio-ottico MODIS richiede invece l'integrazione di ulteriori rilevamenti di "verità a terra" che saranno ottenuti grazie ai campionamenti previsti nel prossimo

anno di attività. Infatti una calibrazione più affidabile e robusta potrà essere raggiunta solo attraverso l'uso di un numero cospicuo di misure puntuali che considerino anche la variabilità intra-annuale a cui è soggetto il fitoplancton.

### **Bibliografia**

- Barbini R., Colao F., Fantoni R., Palucci A., S. Ribezzo (1999), "Shipborne laser remote sensing of the Venice lagoon". *International Journal of Remote Sensing*, 20: 2405-2421
- Cloern J.E. and Jassby A.D. (2009), "Patterns and scales of phytoplankton variability in estuarine-coastal ecosystems", *Estuaries and Coasts* DOI: 10.1007/s12237-009-9195-3
- Colao F., Demetrio E., Drozdowska V., Fiorani L., Lazic V., Okladnikov I.G., Palucci A. (2007), "Seawater dual fluorescence analysis during the arctic summer 2006 polish oceanographic campaign". *EARSeL Workshop Remote Sensing of the Coastal Zone. 7-9 June 2007*, Bolzano, Italy
- Colella S. (2007), "La produzione primaria nel Mar Mediterraneo da satellite: sviluppo di un modello regionale e sua applicazione ai dati SeaWiFS, MODIS e MERIS". Tesi di Dottorato. Università "Federico II" di Napoli, Italia.
- Morel A., Berthon J.F. (1989), "Surface pigments, algal biomass profiles, and potential production of the euphotic layer: relationship reinvestigated in view of remotesensing applications". *Limnology and oceanography*, 34(8): 1545-1562.
- UNESCO (1997), "Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods" Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Wright S.W., (eds.), UNESCO, Monographs on Oceanographic Methodology, 10, Paris, 661pp.
- Utermöhl H. (1958), "Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik". *Mitteilungen Internationale Vereins Theoretisch Angewiesen Limnologie*, 9: 1-38.
- Smayda T. J. (1978) From phytoplankton to biomass. UNESCO Phytoplankton Manual, pp. 273-279.