

Rapporti tecnici

INGV

Determinazione della composizione isotopica dell'ossigeno su campioni acquosi a diversa salinità tramite spettroscopia ad assorbimento laser e tecnica IRMS

295



Direttore Responsabile

Stefano Gresta

Editorial Board

Andrea Tertulliani - Editor in Chief (INGV - RM1)

Luigi Cucci (INGV - RM1)

Nicola Pagliuca (INGV - RM1)

Umberto Sciacca (INGV - RM2)

Alessandro Settimi (INGV - RM2)

Aldo Winkler (INGV - RM2)

Salvatore Stramondo (INGV - CNT)

Milena Moretti (INGV - CNT)

Gaetano Zonno (INGV - MI)

Viviana Castelli (INGV - BO)

Antonio Guarnieri (INGV - BO)

Mario Castellano (INGV - NA)

Mauro Di Vito (INGV - NA)

Raffaele Azzaro (INGV - CT)

Rosa Anna Corsaro (INGV - CT)

Mario Mattia (INGV - CT)

Marcello Liotta (INGV - PA)

Segreteria di Redazione

Francesca Di Stefano - Referente

Rossella Celi

Barbara Angioni

Tel. +39 06 51860068

Fax +39 06 36915617

redazionecen@ingv.it

Rapporti tecnici INGV

**DETERMINAZIONE DELLA COMPOSIZIONE
ISOTOPICA DELL'OSSIGENO SU CAMPIONI ACQUOSI
A DIVERSA SALINITÀ TRAMITE SPETTROSCOPIA AD
ASSORBIMENTO LASER E TECNICA IRMS**

Ygor Oliveri

INGV (Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia, Sezione di Palermo)

295

Indice

Introduzione	7
1. Descrizione del metodo	9
2. Strumentazioni utilizzate	9
2.1 Spettroscopio laser	9
2.2 IRMS	10
2.3 Bilancia Tecnica	11
2.4 Conduttimetro	11
3. Preparazione delle soluzioni saline	11
3.1 Soluzioni di laboratorio	11
3.2 Soluzioni marine	12
4. Preparazione dei campioni per l'analisi	13
5. Risultati e discussioni	14
5.1 Soluzioni di laboratorio	14
5.2 Soluzioni marine	16
5.3 Campioni naturali	18
6. Conclusioni	19
Appendice A	20
Bibliografia	21

Introduzione

Negli ultimi 50 anni si è sempre più consolidato, negli studi di tipo idrogeologico e non solo, l'uso degli isotopi stabili dell'acqua (ossigeno e idrogeno) come traccianti naturali per ottenere informazioni difficilmente conseguibili con altre metodologie di indagine. A differenza di molti traccianti chimici, quelli isotopici possono essere considerati, in alcuni casi, più efficaci per la determinazione delle caratteristiche idrogeologiche dell'acquifero. Infatti le interazioni a seguito di processi organici ed inorganici che l'acqua subisce durante i movimenti sotterranei e/o superficiali hanno spesso un effetto trascurabile sulla composizione isotopica dell'acqua stessa. Questa tematica interessa in maniera particolare le acque oceaniche, ma si riflette anche sulle acque che evaporano dall'oceano e precipitano sui continenti andando a costituire i vari corsi d'acqua continentali.

Poiché esistono in natura due isotopi stabili dell'idrogeno, ^1H , ^2H , e tre isotopi dell'ossigeno, ^{16}O , ^{17}O , ^{18}O è possibile l'esistenza di 9 molecole di acqua isotopicamente differenti. Dato però che le abbondanze relative degli isotopi sono diverse, in pratica i due rapporti isotopici facilmente determinabili nelle molecole di acqua sono $^2\text{H}/^1\text{H}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, rispettivamente per l'idrogeno e per l'ossigeno.

La presenza di due molecole differenti contenenti ^{16}O e ^{18}O ha enorme importanza nella marcatura naturale delle acque dato che, a causa della massa differente, le due molecole si comportano diversamente nei processi di evaporazione, condensazione e formazione di ghiaccio. Fisicamente le molecole più leggere tendono a evaporare più facilmente delle molecole più pesanti, a causa della differente pressione di vapore tra $^1\text{H}_2^{18}\text{O}$ e $^1\text{H}_2^{16}\text{O}$. In un processo evaporativo si ha il frazionamento delle molecole pesanti che restano preferenzialmente allo stato liquido, a discapito delle molecole leggere che passano più facilmente allo stato di vapore. Per evaporazioni successive si ha un progressivo impoverimento della frazione leggera nella fase liquida. Per questo motivo le piogge continentali (piogge successive) e di conseguenza l'acqua dei fiumi e le acque sotterranee, hanno una composizione isotopica differente rispetto alla massa d'acqua di partenza. Il valore di composizione isotopica delle piogge varia successivamente a seconda delle regioni, in dipendenza dalla distanza dall'oceano, dai sistemi di circolazione atmosferica e dalla presenza di catene montuose. In tal modo l'acqua di bacini differenti si può diversificare anche notevolmente, tanto da poter essere nettamente distinta (ciò serve anche a delimitare i bacini di alimentazione delle acque sotterranee e la variabilità di questi nel tempo).

Per composizione isotopica si intende la determinazione del rapporto isotopico. Per convenzione, il rapporto isotopico si indica sempre ponendo a numeratore l'isotopo raro e a denominatore l'isotopo più abbondante. I risultati vengono espressi rispetto ad uno standard internazionale di riferimento in termini di notazione $\delta\text{‰}$ secondo la formula seguente:

$$\delta\text{‰} = (R_{\text{campione}}/R_{\text{standard}} - 1) * 1000$$

dove:

R_{standard} è il rapporto $^2\text{H}/^1\text{H}$ o $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ dello standard internazionale SMOW (Standard Mean Oceanic Water)

R_{campione} è il rapporto $^2\text{H}/^1\text{H}$ o $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ nel nostro campione

Le analisi isotopiche sono alquanto complesse, vengono eseguite dopo opportuni trattamenti, con tecniche spettroscopiche di massa o IRMS (Isotope-ratio mass spectrometry). La spettrometria di massa (IRMS) trova largo impiego in campo agro-alimentare per la caratterizzazione di prodotti alimentari, in campo archeologico per valutazioni sullo stato di conservazione di reperti antichi, in chimica ambientale per il monitoraggio degli inquinanti, in farmacologia per il controllo sullo stato qualitativo dei farmaci e in molti altri settori scientifici. Tale tecnica pur avendo un'elevata precisione è contraddistinta da lunghi tempi di preparazione del campione, richiede un gas standard di riferimento con una composizione molto simile a quella del campione e non consente un'analisi in continuo.

Per sopperire a tale carenze analitiche negli ultimi vent'anni è stata sviluppata una variante denominata CF-IRMS cioè spettroscopia di massa a rapporto isotopico e a flusso continuo. Questa tecnica utilizza il flusso continuo di un gas carrier (He) permettendo l'analisi in continuo di campioni in tempi più

brevi. Ciò nonostante l'uso degli spettrometri CF-IRMS è stato limitato negli anni a poche utenze sia per gli elevati costi iniziali e di esercizio che per la necessità di particolari competenze operative specialistiche.

Negli ultimi anni sono stati introdotti in commercio nuovi strumenti per la determinazione della composizione isotopica in campioni acquosi o gassosi basati sulla convenzionale tecnica LAS (Laser Absorption Spectrometry). La Laser Absorption Spectrometry si basa sulla legge di Lambert-Beer dove un fascio di luce a lunghezza d'onda costante passa attraverso il campione gassoso per poi essere focalizzato al rivelatore che genera un segnale in funzione della concentrazione di analita presente. La bassa sensibilità analitica della strumentazione LAS rende impossibile la determinazione della composizione isotopica delle molecole gassose. Questa lacuna nel corso degli anni è stata migliorata attraverso l'utilizzo di lenti che hanno implementato la sensibilità di quasi 1000 volte semplicemente aumentando il cammino ottico del campione. Questa nuova tecnologia prende il nome di CEAS (Cavity-Enhanced Laser Absorption Spectrometry). La tecnica CEAS viene impiegata in molti campi scientifici (idrogeologia, climatologia, studi ambientali, ecc.), in campo medico e vinicolo dove viene impiegata per la determinazione dell'autenticità del vino. Tra i numerosi vantaggi abbiamo bassi costi di installazione e di esercizio, brevi tempi analitici e facilità di utilizzo.

Alcuni ricercatori [Aggarwal et al., 2006; Lis et al., 2008] hanno studiato l'accuratezza e l'affidabilità di questi strumenti spettroscopici ad assorbimento laser per analisi su composizione isotopica, $\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$ su campioni acquosi, sottolineandone i buoni risultati e i principali vantaggi. Tuttavia questi primi lavori sono stati focalizzati sulle prestazioni delle singole macchine e i dati ottenuti non vengono comparati con altre metodologie.

Penna et al. [2010] approfondiscono questo aspetto comparando la tecnica ad assorbimento laser con una tecnica più consolidata come quella CF-IRMS. È stato analizzato un set di 35 campioni sia tramite tecnica ad assorbimento laser che tramite spettrometria di massa. I campioni utilizzati sono acque naturali a bassa salinità, per lo più acque meteoriche e acque dolci, caratterizzate da un vasto range isotopico da -425 ‰ a -11 ‰ per il $\delta^2\text{H}$ e -55‰ a -1 ‰ per $\delta^{18}\text{O}$. I risultati analitici a cui arrivano Penna et al. [2010] dimostrano un certo grado di variabilità inter-macchina ed alcuni errori distribuiti in modo casuale. Tuttavia concludono ritenendo questi strumenti un'ottima risorsa per le applicazioni ambientali. Lo strumento utilizzato da Penna et al. [2010] è LGR DLT-100.

Nel seguente lavoro è stata testata l'affidabilità di uno strumento ad assorbimento laser per la determinazione del $\delta^{18}\text{O}$ su campioni acquosi a diversa salinità sia di soluzioni di laboratorio che di campioni naturali. Gli stessi campioni sono stati analizzati attraverso la classica tecnica CF-IRMS che sfrutta l'equilibrio isotopico tra la CO_2 e H_2O . Questo tipo di tecnica analitica basata sul frazionamento isotopico tra l'ossigeno della $\text{CO}_{2(g)}$ e l'ossigeno $\text{H}_2\text{O}_{(l)}$ è indipendente dalla salinità come dimostrato da Horita et al. [1995] e Bourg et al. [2010].

I risultati ottenuti fra le due tecniche analitiche sono stati comparati al fine di verificare i limiti strumentali dei nuovi strumenti ad assorbimento laser su campioni a elevata salinità. Lo spettrofotometro ad assorbimento laser e lo spettrometro di massa utilizzati sono rispettivamente il DLT-100 prodotto dalla Los Gatos Research e il Delta V della Thermo Scientific entrambi disponibili nei laboratori della sezione di Palermo dell'Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia.

Cenni sulla salinità

La salinità è un parametro che esprime il contenuto in sali di un corpo idrico e viene solitamente definita come la quantità di sali (misurati in grammi) contenuti in un kg di acqua di mare. La salinità nei corpi idrici naturali dipende dagli apporti di acque provenienti dai fiumi, dalle acque sotterranee, dalle acque piovane e dall'intensità dei processi evaporativi. L'evaporazione è un fenomeno fisico che rigenera esclusivamente l'acqua, mentre tutte le sostanze disciolte e/o sospese rimangono in soluzione. La salinità oltre ad essere un importante fattore nella determinazione della potabilità dell'acqua e in grado di influenzare la vita degli organismi che vivono in un corpo idrico. Il contenuto salino dipende dalla presenza di sali disciolti che danno origine a ioni liberi, ovvero atomi dotati di cariche elettriche, positive o negative, chiamati rispettivamente cationi ed anioni. I principali cationi nelle acque naturali sono Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} mentre i principali anioni sono Cl^- , SO_4^{2-} e HCO_3^- . La salinità media dei mari è del 3.5%, ovvero 35 g di sale per 1 kg d'acqua e può variare da zona a zona. Nel Mar Rosso, dove il clima è arido e l'apporto di acque fluviali è scarso la salinità media è del 4.2% mentre nel Mar Nero dove vi è un notevole apporto di acque fluviali la salinità decresce vicino a valori del 1.7%.

Possiamo classificare almeno 4 diversi ambienti acquosi in natura che si differenziano in base alla salinità (vedi Tabella 1).

	Salinità in %	Salinità in ppm	Conducibilità in mS
Acqua Dolce	< 0.05	< 450	< 5
Acqua Salmastra	0.05 - 3	500 - 30 000	5 - 56
Acqua Salata o Marina	3 - 5	30 000 - 50 000	56 - 100
Acqua Ipersalina	> 5	> 50 000	> 100

Tabella 1. Classificazione delle acque in funzione della conducibilità (mS) e della salinità (% o ppm).

La determinazione diretta della salinità di un'acqua naturale, effettuata attraverso la misura della concentrazione di tutti i sali in essa disciolti, è estremamente complessa e quindi non può essere considerata come metodo analitico pratico. Si ricorre pertanto ad un metodo indiretto, Salinità Pratica, basato sulla misura della conducibilità elettrica dell'acqua e sul rapporto tra questa e la conducibilità di una soluzione di riferimento nelle medesime condizioni di temperatura e pressione.

1. Descrizione del Metodo

Al fine di verificare l'effetto della salinità sulle misure effettuate con lo spettrofotometro ad assorbimento laser DLT-100 per la determinazione del $\delta^{18}\text{O}$, sono stati confrontati i risultati analitici di una serie di soluzioni e campioni a diversa salinità ottenuti sia con l'HLT-100 che con il CF-IRMS Delta V.

Sono state preparate ed analizzate delle soluzioni di laboratorio a salinità fino al 5.2%, partendo da un'acqua ultrapura mediante aggiunte di NaCl. Successivamente sono state preparate ed analizzate, partendo da un campione marino, delle soluzioni a salinità crescente fino a 7.6 % mediante aggiunte di NaCl.

Infine sono stati analizzati alcuni campioni naturali di diversa matrice provenienti da differenti siti.

2. Strumentazioni utilizzate

2.1 Spettrofotometro laser

Lo spettrofotometro ad assorbimento laser utilizzato è il DLT-100 della Los Gatos Research (Figura 1). Il principio di funzionamento del DLT-100 è quello di un classico spettrofotometro a doppio raggio, dove il campione gassoso, nel nostro caso vapor d'acqua, viene attraversato da un fascio laser a lunghezza d'onda costante di 1390 μm . Il doppio raggio consente di individuare l'analita di interesse, poiché confronta la luce che passa attraverso un bianco, nel nostro caso aria secca, contro la luce che attraversa il campione d'acqua vaporizzato. La presenza di vapor d'acqua rispetto al bianco darà un assorbimento della luce che consentirà sia l'identificazione che la quantificazione delle tre molecole dell'acqua $^2\text{H}^1\text{H}^{16}\text{O}$, H_2^{18}O e H_2^{16}O , da cui poi verranno calcolati i rapporti isotopi $^2\text{H}/^1\text{H}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$.

Per la determinazione della composizione isotopica è presente, all'interno della cella di lunghezza di 25 cm, un sistema di specchi semi-riflettenti che produce un cammino ottico di circa 2500 m. Questo sistema ottico prende il nome di Off-Axis ICOS (Off-Axis Integrated Cavity Output Spettroscopy) ed è una variante rispetto alla classica tecnologica CEAS. Il sistema Off-Axis ICOS è di fondamentale importanza perché grazie al suo allineamento fuori asse rispetto alla cella minimizza le interferenze ed aumenta l'intensità di assorbimento, permettendo la misura sulla composizione isotopica sulle tre masse dell'acqua con notevole precisione.

Lo strumento è dotato di un vaporizzatore, di una pompa da vuoto a secco ed è interfacciato ad un auto-campionatore CTC PAL-LC dotato di siringa Hamilton da 1.2 μl .



Figura 1. DLT-100.

2.2 IRMS

Lo spettrometro di massa utilizzato è un Thermo Scientific Delta V a flusso continuo di He (vedi Figura 2). Lo strumento è di ultima generazione dotato di una altissima sensibilità e precisione nella determinazione degli isotopi del carbonio, ossigeno, idrogeno, zolfo ed azoto. Il Delta V è uno strumento che produce ioni e li separa in fase gassosa in base al loro rapporto massa/carica (m/z). Un'analisi al Delta V può essere rappresentata dai seguenti passaggi:

- Introduzione del campione
- Ionizzazione
- Analisi della massa
- Rivelazione degli ioni/analisi dei dati

Nella camera di ionizzazione le molecole del campione da analizzare, in fase gassosa, interagiscono con un filamento incandescente di tungsteno generando un fascio di ioni, accelerato attraverso un campo elettrico regolabile dall'operatore. Gli ioni, una volta accelerati, verranno deviati da un campo magnetico in base al proprio rapporto massa/carica (m/z) e saranno poi quantificati dai detector come impulsi elettrici.

Lo strumento è interfacciato ad un auto-campionatore CTC-PAL LC e ad una periferica Gas Bench II. Il Gas Bench II permette la determinazione dei rapporti molecolari dei campioni nello spazio di testa della provetta, tramite un equilibrio acqua-gas tra il campione acquoso ed una miscela gassosa di CO_2 al 0.5% in He.



Figura 2. Spettrometro Delta V interfacciato al Gas Bench II.

2.3 Bilancia tecnica

Tutte le pesate effettuate in questo lavoro sono state svolte tramite bilancia tecnica Gibertini, modello Europe (1700 g +/- 0.01 g).

2.4 Conduttimetro

La determinazione della conducibilità in tutte le soluzioni e in tutti i campioni naturali è stata effettuata in laboratorio a temperatura costante di 25 °C mediante il conduttimetro Thermo Scientific modello Orion 4-Star.

3. Preparazione delle soluzioni saline

3.1 Soluzioni di laboratorio

Le soluzioni di laboratorio sono state preparate partendo da una stessa aliquota di acqua Milli-Q divisa in due aliquote: una da usare tal quale e una da sottoporre ad evaporazione. Essendo un'acqua ultrapura, con una concentrazione salina prossima allo zero, il processo di evaporazione sulla seconda aliquota non cambia chimicamente il campione ma solo isotopicamente. Nel processo di evaporazione abbiamo un frazionamento isotopico delle molecole d'acqua più leggere rispetto alle molecole d'acqua più pesanti, in quanto gli isotopi più leggeri andranno più facilmente nella fase vapore arricchendo la fase liquida degli isotopi più pesanti, mentre la concentrazione salina rimarrà quasi del tutto inalterata. In sostanza al termine del processo evaporativo otteniamo due acque Milli-Q con le stesse caratteristiche chimiche ma con un diverso rapporto isotopico. In dettaglio, le soluzioni sono state preparate secondo questa procedura: due litri di acqua Milli-Q erogati da un distillatore Milli-Q Plus sono stati versati in un contenitore in polipropilene, PP, da 2 litri chiuso ermeticamente. Successivamente il campione di acqua erogato è stato agitato vigorosamente, diviso in due aliquote da un litro (S_x e SL_x) e conservato in due contenitori da egual volume. Della prima aliquota S_x sono state prelevate, per pesata, sei aliquote di campione da circa 50 g ciascuno e conservati in boccette da 50 ml in PP. La seconda aliquota SL_x è stata travasata in un beker da 3 litri, pulito precedentemente e ben asciutto, e fatta evaporare per circa 6 ore attraverso una piastra riscaldante elettrica mantenuta alla temperatura costante di 90° C. Successivamente l'acqua evaporata è stata divisa per pesata in sei aliquote come prima descritto per le soluzioni S_x . Alle sei aliquote di acqua Milli-Q tal quale (S_x) e evaporata (SL_x) sono state aggiunte concentrazioni crescenti di NaCl puro prodotto da Merkel (cod. prodotto 1.06404.1000),

al fine di ottenere delle soluzioni saline da 0 al 5.2 % che ricadono nel range di concentrazioni che va dalle acque dolci alle acque ipersaline. Per evitare un possibile frazionamento le soluzioni una volta preparate sono state conservate in frigo ad una temperatura di 4 °C.

Tutti i dati delle soluzioni di laboratorio così preparate sono riportati in Tabella 2a e 2b.

Sol. S _x	Milli-Q (gr)	NaCl (gr)	Salinità (%)	Conducibilità (mS)
S ₀	50.0	0.0	0.0	0
S ₁	50.1	0.5	1.0	15
S ₂	52.0	1.0	1.8	27
S ₃	49.3	1.5	3.0	43
S ₄	51.0	2.1	4.0	53
S ₅	50.0	2.6	5.2	72

Tabella 2a. Soluzioni S_x preparate dall'acqua Milli-Q tal quale.

Sol. SL _x	Milli-Q (gr)	NaCl (gr)	Salinità (%)	Conducibilità (mS)
SL ₀	26.1	0.0	0.0	0
SL ₁	48.0	0.5	1.1	15
SL ₂	47.1	1.0	2.1	25
SL ₃	49.2	1.4	2.9	41
SL ₄	52.0	2.2	4.2	47
SL ₅	50.1	1.3	5.2	69

Tabella 2b. Soluzioni SL_x preparate dall'acqua Milli-Q evaporata.

3.2 Soluzioni marine

Un contenitore da un litro in PP è stato riempito con un campione di acqua di mare prelevato lungo la zona costiera di Mondello, (Palermo). Arrivato in laboratorio un'aliquota di circa 300g del campione marino è stata divisa per pesata in cinque parti da 50g, circa, conservate in contenitori da 50 ml in PP. Sulla prima aliquota di campione (W₀) è stata misurata la conducibilità mentre sulle restanti quattro è stato aggiunto NaCl in diverse proporzioni come riportato in Tabella 3. Come sulla prima aliquota W₀, anche nelle restanti quattro, dopo l'aggiunta di NaCl, sono state svolte le misure di conducibilità.

Acq Marina W _x	Ac. Marina (gr)	NaCl (gr)	Salinità _{tot} (%)	Conducibilità (in mS)
W ₀	50	0.0	3.7	50
W ₁	50	0.6	4.9	62
W ₂	50	1.0	5.7	72
W ₃	50	1.4	6.5	78
W ₄	51	1.9	7.6	87

Tabella 3. Soluzioni preparate dall'acqua marina.

La salinità è stata calcolata empiricamente come $Salinità_{tot}$ utilizzando la seguente formula:

$$Salinità_{tot} = [(gr\ NaCl / gr\ Acq.\ Marina) * 100] + 3.7\% \quad (1)$$

dove:

- $Salinità_{tot}$, è la salinità totale espressa in %
- gr NaCl, sono i grammi di NaCl aggiunti in ogni soluzione
- gr Acq. Marina, sono i grammi di acqua Marina tal quale pesati
- 3.7, è la salinità media nel Mar Mediterraneo espressa in percentuale

La $Salinità_{tot}$ non è altro che la somma della salinità iniziale della nostra matrice più l'incremento di salinità dovuto alle aggiunte di NaCl. Come salinità iniziale è stata presa come riferimento la salinità media nel Mar Mediterraneo del 3.7%. Il cloruro di sodio impiegato nei campioni marini è lo stesso utilizzato per le soluzioni di laboratorio. Una volta preparate, le soluzioni sono state conservate in frigo a una temperatura di 4 °C.

4. Preparazione dei campioni per l'analisi

DLT-100

Il trattamento dei campioni e la preparazione della sequenza analitica viene fatta seguendo le linee guida nel manuale IAEA, [2009b].

Per la tecnica laser, sia per i campioni di laboratorio che per i campioni marini, non è stato necessario nessun particolare pre-trattamento. Circa un 1ml di campione è stato pipettato in vials da 2ml con tappo a vite e setto PTFE a perfetta tenuta, posizionato in uno dei quattro "tray" di riferimento secondo un ordine crescente. Una volta posizionati tutti i campioni, generalmente cinque o sei per ogni sequenza analitica, è stata avviata l'analisi. La sequenza inizia con due standard isotopici di $\delta^{18}O$ noto rispettivamente di +4.2 e -11.4 e finisce con uno standard di controllo. L'auto-campionatore inietta 1 μ l di standard o di campione nel vaporizzatore a temperatura costante di 80 °C. Il campione iniettato nel vaporizzatore passerà subito allo stato di vapore e viaggerà tramite un tubicino in teflon direttamente alla cella dove verrà effettuata l'analisi. Le sequenze analitiche così brevi, di cinque o sei campioni, sono state eseguite per evitare effetti deriva sullo strumento ma soprattutto per evitare che il sale dei campioni si accumuli nel vaporizzatore. Dopo ogni gruppo di analisi il vaporizzatore è stato pulito accuratamente con acqua distillata ed asciugato in stufa a temperatura di 105 °C. Ogni campione e ogni standard vengono iniettati venti volte al fine di avere un calcolo statistico significativo su un numero abbastanza elevato di introduzioni ed eliminare ogni effetto memoria. Di routine, prima dell'analisi, si controllano le intensità dei picchi di assorbanza delle tre masse dell'acqua su un campione di acqua distillata.

Nelle analisi i campioni sono stati introdotti all'interno della sequenza seguendo un ordine di salinità crescente. A fine analisi i dati ottenuti vengono rielaborati con un software di calcolo apposito, *Post Analysis*, fornito in dotazione con lo strumento.

Delta V Thermo Scientific

I campioni sono stati preparati secondo quanto consigliato da Andreas and Hairigh, [2008]. Una quantità pari a 0.5 ml di campione o di standard viene pipettata in vials da 12 ml dotati di tappo a vite, con setti in gomma a perfetta tenuta di gas, posizionati in un bath termostato a 24 °C. Una volta posizionati tutti i campioni, questi ultimi vengono flussati con una miscela ultrapura di CO₂ al 0.5% in He, tramite un auto campionatore dotato di un ago multiuso utilizzato sia per il flussaggio che per l'analisi. Il flussaggio viene condotto ad un flusso di 100 ml/min per 5 minuti. L'analisi è stata eseguita dopo un tempo morto di 24 ore dal flussaggio dell'ultimo campione. Questo lasso di tempo è fondamentale per raggiungere un completo equilibrio isotopico tra l'ossigeno della CO₂ e l'ossigeno dell'acqua. La sequenza analitica viene impostata inserendo due standard di laboratorio all'inizio e a fine sequenza, ed uno standard di controllo ogni tre campioni incogniti. Gli standard di laboratorio utilizzati per la costruzione della retta di calibrazione sono gli

stessi utilizzati per l'analisi al DLT-100. Al fine di avere un dato statistico certo i campioni e gli standard vengono preparati in doppio e per ogni singola analisi vengono svolte 5 iniezioni. I dati ottenuti vengono estratti e rielaborati tramite foglio Excel per la costruzione della retta di calibrazione.

5. Risultati e Discussioni

5.1 Soluzioni di laboratorio

I risultati analitici delle determinazioni del $\delta^{18}\text{O}$ ‰ nelle soluzioni di laboratorio al DLT-100 e al Delta V sono riportati in Tabella 4a e 4b. In tutte e due le tabelle sono anche riportate le misure di conducibilità in laboratorio espresse in mS, la salinità calcolata empiricamente per ogni soluzione e l'errore analitico espresso come deviazione standard σ_x su ogni singola misura. Dai dati in tabella si può vedere come le analisi ottenute al DLT-100 sembrano non risentire di nessun effetto salinità indipendentemente dalla composizione isotopica delle soluzioni. I ‰ dell'ossigeno delle soluzioni saline analizzati al DLT-100 variano all'interno dell'errore di misura delle soluzioni a salinità zero (S_0 ed SL_0). Quanto esposto è chiaramente visibile nelle Figura 3 e 4, dove si nota come quasi tutte le analisi svolte sui due set di campioni a salinità maggiore di zero da S_1 a S_5 e da SL_1 a SL_5 ricadano all'interno dell'errore di misura (area evidenziata in giallo) dei campioni a salinità zero (S_0 ed SL_0).

Sol S_x	Cond (mS)	Salinità (‰)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{DLT-100}}$ (‰)	$\sigma_{\delta^{18}\text{O DLT-100}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{Delta V}}$ (‰)	$\sigma_{\delta^{18}\text{O Delta V}}$
S_0	0	0.0	-6.25	0.14	-6.25	0.04
S_1	15	1.0	-6.30	0.13	-6.21	0.02
S_2	27	1.8	-6.19	0.13	-6.21	0.04
S_3	43	3.0	-6.36	0.20	-6.24	0.06
S_4	53	4.0	-6.21	0.12	-6.24	0.03
S_5	72	5.2	-6.41	0.10	-6.09	0.04

Tabella 4a. Risultati analitici $\delta^{18}\text{O}$ nelle soluzioni di laboratorio tal quali analizzati al DLT-100 e Delta V.

Sol SL_x	Cond (mS)	Salinità (‰)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{DLT-100}}$ (‰)	$\sigma_{\delta^{18}\text{O DLT-100}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{Delta V}}$ (‰)	$\sigma_{\delta^{18}\text{O Delta V}}$
SL_0	0	0.0	0.15	0.18	0.42	0.05
SL_1	15	1.1	0.49	0.19	0.40	0.04
SL_2	25	2.1	0.20	0.16	0.43	0.04
SL_3	41	2.9	0.20	0.17	0.30	0.04
SL_4	47	4.2	0.29	0.15	0.38	0.07
SL_5	69	5.2	0.37	0.09	0.23	0.05

Tabella 4b. Risultati analitici $\delta^{18}\text{O}$ nelle soluzioni di laboratorio evaporate analizzati al DLT-100 e Delta V.

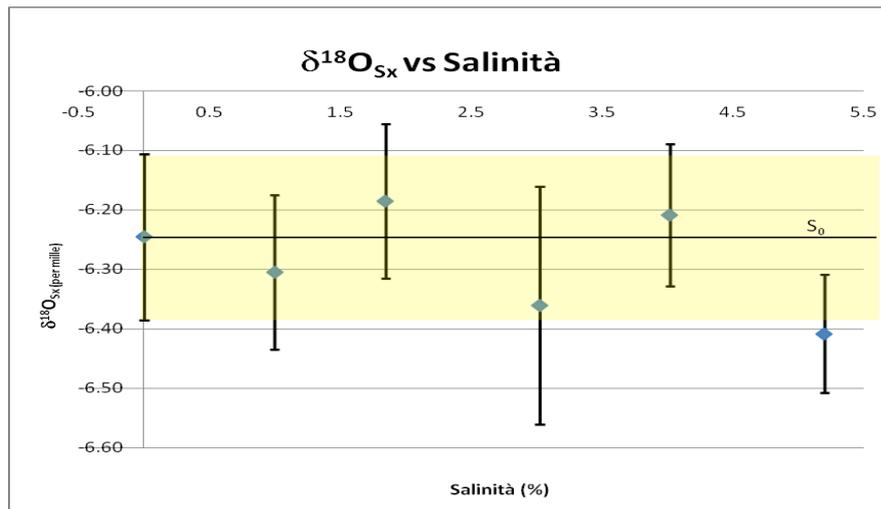


Figura 3. Confronto tra la composizione isotopica con la salinità delle soluzioni tal quali analizzate ad DLT-100. Per ogni punto è riportata la barra di errore.

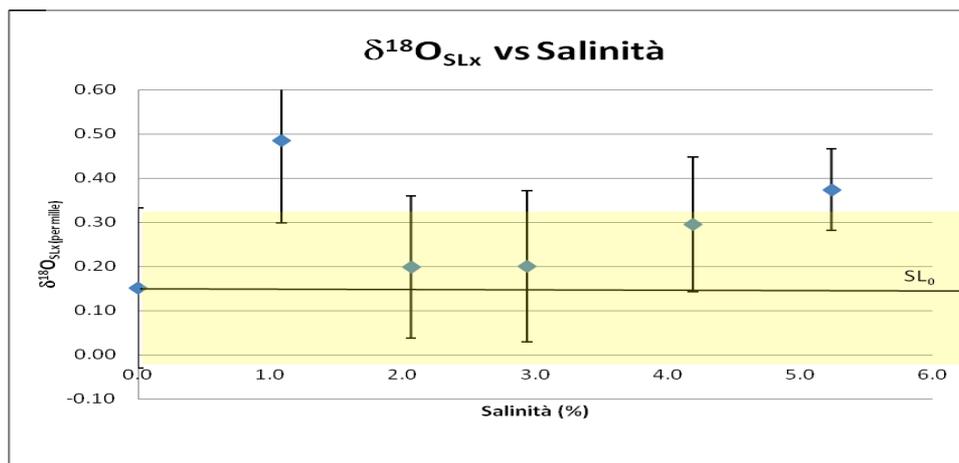


Figura 4. Confronto tra la composizione isotopica con la salinità delle soluzioni evaporate. Per ogni punto è riportata la barra di errore.

I valori di $\delta^{18}\text{O}_{\text{DLT-100}}$ per le soluzioni tal quali cadono in un intervallo compreso fra -6.19 e -6.41‰ mentre per le soluzioni evaporate cadono in un intervallo compreso fra 0.49 a 0.15‰. Per il Delta V le misure di $\delta^{18}\text{O}$ cadono in intervalli di misura meno ampi evidenziando una maggiore precisione, -6.09 e -6.25‰ per le soluzioni tal quali e 0.42 e 0.23‰ per le soluzioni evaporate. Queste differenze sono legate agli errori strumentali e non all'effetto salinità. Infatti, malgrado il numero elevato di repliche per ogni singola analisi al DLT-100, i dati dimostrano come la dispersione dei valori sia molto più alta al DLT-100 rispetto al Delta V. Quanto esposto vale sia per le soluzioni a salinità maggiore di zero che per quelle a salinità zero indipendentemente dalla composizione isotopica.

Per stabilire se i risultati ottenuti attraverso la tecnica ad assorbimento laser sono significativamente diversi rispetto alla tecnica di spettrometria di massa è stato eseguito un test t student sulle singole differenze fra i risultati per ciascun campione.

Il t student è uno strumento statistico usato molto frequentemente per esprimere gli intervalli di fiducia e confrontare i risultati ottenuti da esperimenti diversi. Il t student viene applicato secondo l'equazione 2, in cui il $t_{\text{calcolato}}$ deve essere inferiore al t_{tabulato} per un livello di fiducia al 95% e per 5 gradi di libertà.

$$t_{\text{calcolato}} < t_{\text{tabulato}} \quad (2)$$

dove

$$t_{\text{calcolato}} = \frac{\underline{d}}{S_d} \sqrt{n} \quad (2.1)$$

in cui

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum (d_i - \underline{d})^2}{(n-1)}} \quad (2.2)$$

- $t_{\text{calcolato}}$ è il t student calcolato
- t_{tabulato} è il valore di t student al 95% per 5 gradi di libertà riportato in Appendice A
- \underline{d} è la differenza media tra i risultati ottenuti tra i due metodi
- S_d è la varianza sulle differenze delle misure fra i risultati al DLT-100 e al Delta V
- n è il numero delle coppie di dati

Risolvendo le equazioni 2.1 e 2.2 si ricava il $t_{\text{calcolato}}$ rispettivamente per le soluzioni saline tal quali e per quelle evaporate. In Tabella 5 i valori di $t_{\text{calcolato}}$ sono confrontati con i valori di t_{tabulato}

Soluzioni	$t_{\text{calcolato}}$	t_{tabulato}
S_x	0.45	2.57
SL_x	0.46	2.57

Tabella 5. Confronto tra il t student calcolato e tabulato nelle soluzioni di laboratorio.

Dai dati riportati in Tabella 5 si nota come il $t_{\text{calcolato}}$ è sempre inferiore al t_{tabulato} in tutte e due le serie di dati. Ne risulta che i due metodi analitici non sono significativamente diversi sia per le soluzioni saline tal quali sia per quelle evaporate.

5.2 Soluzioni marine

I risultati analitici per la determinazione del $\delta^{18}\text{O}$ ‰ nelle soluzioni marine al DLT-100 e al Delta V sono riportati in Tabella 6 con le rispettive deviazioni standard σ . Nella Tabella 6 vengono riportati inoltre i dati di conducibilità espressa in mS e la salinità totale in percentuale.

Sol W_x	Cond (mS)	Salinità _{tot}	$\delta^{18}\text{O}_{\text{DLT-100}}$ (‰)	$\sigma_{\delta^{18}\text{O DLT-100}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{Delta V}}$ (‰)	$\sigma_{\delta^{18}\text{O Delta V}}$
W_0	50	3.7	1.08	0.14	1.11	0.06
W_1	62	4.9	1.12	0.14	1.01	0.07
W_2	72	5.7	1.12	0.12	1.11	0.05
W_3	78	6.2	1.19	0.14	1.08	0.06
W_4	87	7.6	1.24	0.11	1.08	0.08

Tabella 6. Risultati analitici $\delta^{18}\text{O}$ nelle soluzioni marine analizzati al DLT-100 e Delta V.

Come per le soluzioni di laboratorio anche per le soluzioni marine è stata riscontrata una precisione maggiore al Delta V rispetto al DLT-100. Riportando i dati $\delta^{18}\text{O}_{\text{DLT-100}}$ (‰) contro Salinità_{tot} si ottiene l'andamento riportato in Figura 5.

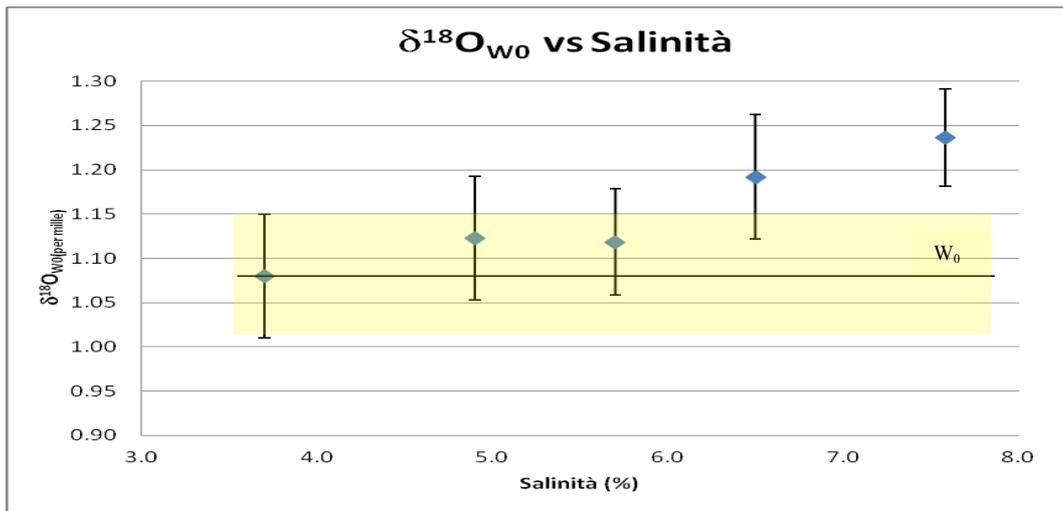


Figura 5. Confronto tra la composizione isotopica $\delta^{18}\text{O}_{\text{DLT-100}}$ (‰) con la salinità nelle soluzioni saline. Per ogni punto è riportata la barra di errore (σ).

Ad una prima visione sembrerebbe comparire una relazione tra il $\delta^{18}\text{O}$ e la salinità, ma da una visione più attenta si nota come tutti i valori isotopici ricadono all'interno dell'errore di misura strumentale (area evidenziata in giallo). L'andamento mostrato potrebbe essere legato più ad una deriva strumentale che ad un effetto salino che comunque non influenza il dato isotopico.

Questo blando effetto risulta essere del tutto inesistente nel grafico in Figura 6 dove riportiamo i dati $\delta^{18}\text{O}_{\text{Delta V}}$ (‰) contro Salinità_{tot}.

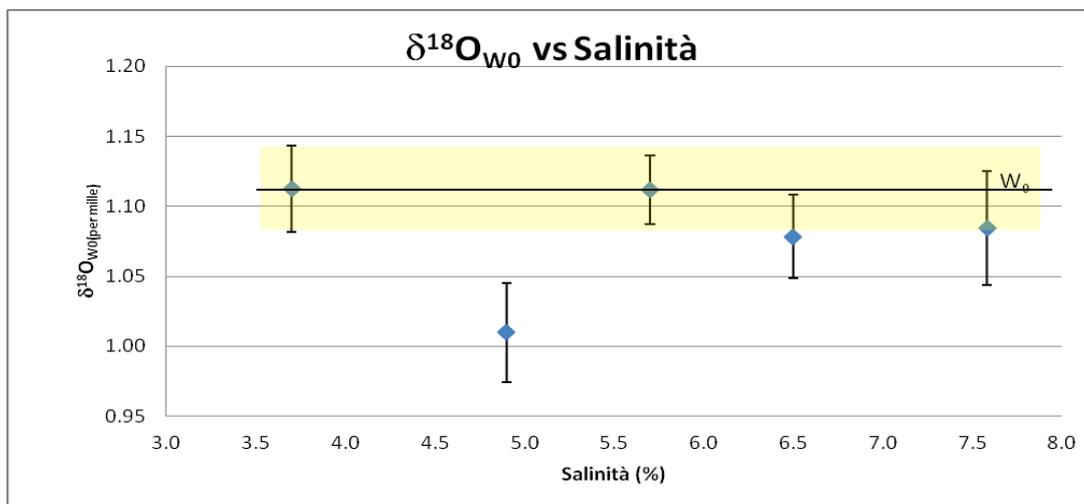


Figura 6. Confronto tra la composizione isotopica $\delta^{18}\text{O}_{\text{DELTA V}}$ (‰) con la salinità nelle soluzioni saline. Per ogni punto è riportata la barra di errore (σ).

Alla stessa maniera delle soluzioni sintetiche anche nelle soluzioni marine è stato applicato il t student al livello di fiducia del 95% e per 4 gradi di libertà. I risultati sono riportati in Tabella 7.

Soluzioni	$t_{\text{calcolato}}$	t_{tabulato}
W_x	0.45	2.78

Tabella 7. Confronto tra il t student calcolato e tabulato nelle soluzioni marine.

Dalla Tabella 7 si ricava che $t_{\text{calcolato}}$ (0.45) è inferiore a t_{tabulato} (2.78) dimostrando che i risultati ottenuti fra le due tecniche analitiche non sono significativamente differenti.

5.3 Campioni naturali

Sono stati selezionati una decina di campioni acquosi provenienti da vari siti, tra cui acque vulcaniche, acque termali, acque meteoriche e acque a diversa componente marina. I campioni sono stati selezionati in base alla conducibilità e alla concentrazione degli ioni liberi in soluzione Na^+ , K^+ , Li^+ , Mg^{++} e Ca^{++} per i cationi e Cl^- , F^- , Br^- , HCO_3^- , SO_4^{--} e NO_3^- per gli anioni. Su ogni campione è stata calcolata la salinità fittizia espressa in % come somma di tutti gli ioni liberi in soluzione. I campioni sono stati analizzati sia al DLT-100 che al Delta V. I risultati sono riportati per salinità crescente in Tabelle 8.

Campione	Salinità _{fit} (%)	Cond (mS)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{DLT-100}}$ (‰)	$\sigma_{\delta^{18}\text{O DLT-100}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{Delta V}}$ (‰)	$\sigma_{\delta^{18}\text{O Delta V}}$
Acq Meteorica	0.0	0	-5.06	0.12	-5.08	0.05
Acq Vulcanica	0.2	2	-5.79	0.17	-5.95	0.03
Acq Termale	0.5	5	-1.46	0.11	-1.48	0.05
Acq Vulcanica	0.5	4	-6.09	0.15	-6.27	0.03
Acq Termale	0.8	7	0.48	0.07	0.57	0.03
Acq Marina	1.6	8	-2.69	0.19	-2.73	0.04
Acq Termale	1.6	23	-4.24	0.07	-4.23	0.04
Acq Termale	3.2	21	-1.20	0.17	-1.29	0.04
Acq Marina	3.9	33	0.66	0.05	0.62	0.04
Acq Marina	4.0	49	0.83	0.06	0.87	0.05

Tabella 8. Valori di salinità, conducibilità e il $\delta^{18}\text{O}$ determinato al DLT-100 e al Delta V per ogni campione.

Nella Figura 7 vengono riportati i valori di $\delta^{18}\text{O}_{\text{Delta V}}$ contro $\delta^{18}\text{O}_{\text{DLT-100}}$ riportati in Tabella 8. Su questa serie di valori è stata calcolata l'equazione della retta di regressione lineare con il metodo dei minimi quadrati ed è stato calcolato il coefficiente di Pearson che esprime l'intensità di una relazione lineare tra due variabili.

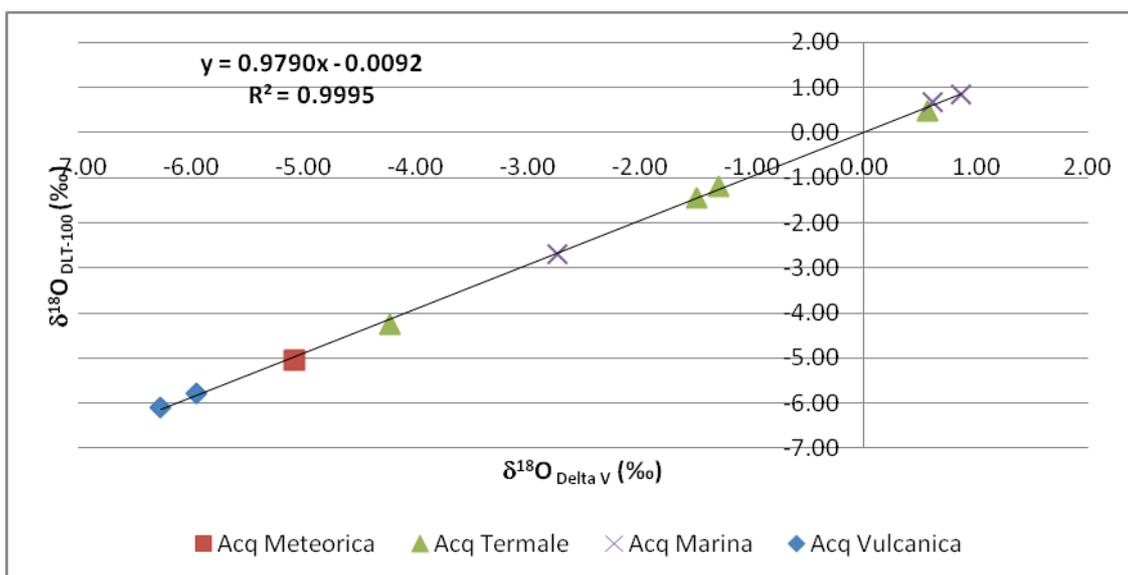


Figura 7. Relazione grafica tra il $\delta^{18}\text{O}_{\text{DLT-100}}$ (‰) contro il $\delta^{18}\text{O}_{\text{Delta V}}$ (‰).

Come è possibile vedere dall'equazione della retta il coefficiente angolare prossimo ad uno (0.9790) indica una proporzionalità fra i due set di analisi, mentre l'intercetta vicino allo zero esclude ogni tipo di errore sistematico fra le due tecniche. Il coefficiente di correlazione di Pearson (R^2) vicino a 1 conferma la perfetta relazione tra i punti, e quindi tra i valori analitici ottenuti. In definitiva i campioni naturali provenienti da diversi siti a diversa salinità, indipendentemente dal tipo e dalla quantità di sali disciolti, danno gli stessi risultati analitici sia essi misurati con il DLT-100 che con il DeltaV.

6. Conclusioni

Nel seguente lavoro sono stati confrontati i valori di $\delta^{18}\text{O}$ ‰ su campioni a diversa salinità ottenuti attraverso la più innovativa tecnica ad assorbimento laser contro la classica tecnica di spettrometria di massa. Sono state preparate soluzioni di laboratorio a composizione isotopica crescente con salinità fino al 5.2% e soluzioni marine a salinità crescente comprese in un intervallo di salinità tra 3.7 e 7.6%. In più sono stati analizzati alcuni campioni provenienti da sistemi naturali diversi come acque termali, acque vulcaniche, acque meteoriche e acque marine. Sebbene i test statistici applicati non confermino nessuna variazione significativa fra le due tecniche, nei campioni ipersalini analizzati al DLT-100 sembra essere presente una blanda dipendenza tra il $\delta^{18}\text{O}$ e la salinità, compresa all'interno dell'errore di misura, che non influenza il dato finale. L'errore analitico legato ad ogni singola analisi risulta essere sempre più basso per la tecnica CF-IRMS rispetto alla tecnica ad assorbimento.

In definitiva possiamo affermare che il DLT-100 è uno strumento idoneo allo svolgimento di analisi di routine su campioni salini, dove è richiesta una minore precisione (intorno a 0.15σ). Per studi che richiedono maggiore attenzione e una maggiore precisione ($< 0.1\sigma$) la tecnica di spettrometria di massa risulta essere ancora un punto di riferimento.

APPENDICE A

Valori di t Student in funzione dei livelli di fiducia e dei gradi di libertà.

Gradi di libertà	Livello di fiducia (%)				
	50	80	90	95	99
1	1,000	3,078	6,314	12,706	63,657
2	0,816	1,886	2,920	4,303	9,925
3	0,765	1,638	2,353	3,182	5,841
4	0,741	1,533	2,132	2,776	4,604
5	0,727	1,476	2,015	2,571	4,032
6	0,718	1,440	1,943	2,447	3,707
7	0,711	1,415	1,895	2,365	3,500
8	0,706	1,397	1,860	2,306	3,355
9	0,703	1,383	1,833	2,262	3,250
10	0,700	1,372	1,812	2,228	3,169
15	0,691	1,341	1,753	2,131	2,947
20	0,687	1,325	1,725	2,086	2,845
∞	0,674	1,282	1,645	1,960	2,576

Bibliografia

- Horita, J., Cole, D.R. and Wesolowoski, D.J., (1995). *The activity composition relationship of oxygen and hydrogen isotopes in aqueous salt solutions: III Vapor-liquid water equilibration on NaCl solutions to 350°C*. *Geochim Cosmochim Acta*, 59 (6), 1.139-1, 151.
- Bourg, C., Stievenard, M., and Jouzel, J., (2001). *Hydrogen and oxygen isotopic composition of aqueous salt solution by gas-water equilibration method*. *Chemical Geology*, pp. 331-337(7).
- Arggawal, P.K., Ahmad, T., Groening, M., Gupta, M., Owano, and T., Baer, D., (2006). *Laser spectroscopic analysis of stable isotopes in natural water: a low-cost, robust technique for the use of environmental isotopes in hydrological and climate studies*. *Eos Trans AGU*, 87(52).
- Andreas, W.H. and Hairigh A., (2008). *¹⁸O-Equilibration on Water, Fruit Juice and Wine Using Thermo Scientific GasBench II*. Thermo Fisher Scientific, Brema.
- Gutpa, M. and Berman E., (2013). *Applications of Cavity-Enhanced Absorption Spectrometry for Water Isotope Monitoring in Hydrology, Medical Diagnostics, and Wine Authentication*. Gases&Instrumentation.
- Lis, G., Wassenaar, L.I., and Hendry M.J., (2008). *High precision laser spectroscopy D/H and 18O/16O measurement of microliter natural samples*. *Analytical Chemistry* 80, 287–293.
- IAEA, (2009b). *Laser Spectroscopy Analysis of Liquid Water Samples for Stable Hydrogen and Oxygen Isotopes. Performance Testing and Procedures for Installing and Operating the LGR DT-100 Liquid Water Isotope Analyzer*, International Atomic Energy Agency, Vienna, ISSN 1018-5518.
- Penna, D., Stenni, B., Sanda, M., Wrede, S., Bogaard, T.A., Gobbi, A., Borga, M., Fischer, B.M.C., Bonazza, B., and Chàrovà, Z., (2010). *On the reproducibility and repeatability of laser absorption spectroscopy measurements for δ^2H and $\delta^{18}O$ isotopic analysis*. *Hydrology and Earth System Sciences*, 14, 1551–1566.

Quaderni di Geofisica

ISSN 1590-2595

<http://istituto.ingv.it/l-ingv/produzione-scientifica/quaderni-di-geofisica/>

I Quaderni di Geofisica coprono tutti i campi disciplinari sviluppati all'interno dell'INGV, dando particolare risalto alla pubblicazione di dati, misure, osservazioni e loro elaborazioni anche preliminari, che per tipologia e dettaglio necessitano di una rapida diffusione nella comunità scientifica nazionale ed internazionale. La pubblicazione on-line fornisce accesso immediato a tutti i possibili utenti. L'Editorial Board multidisciplinare garantisce i requisiti di qualità per la pubblicazione dei contributi.

Rapporti tecnici INGV

ISSN 2039-7941

<http://istituto.ingv.it/l-ingv/produzione-scientifica/rapporti-tecnici-ingv/>

I Rapporti Tecnici INGV pubblicano contributi, sia in italiano che in inglese, di tipo tecnologico e di rilevante interesse tecnico-scientifico per gli ambiti disciplinari propri dell'INGV. La collana Rapporti Tecnici INGV pubblica esclusivamente on-line per garantire agli autori rapidità di diffusione e agli utenti accesso immediato ai dati pubblicati. L'Editorial Board multidisciplinare garantisce i requisiti di qualità per la pubblicazione dei contributi.

Miscellanea INGV

ISSN 2039-6651

<http://istituto.ingv.it/l-ingv/produzione-scientifica/miscellanea-ingv/>

La collana Miscellanea INGV nasce con l'intento di favorire la pubblicazione di contributi scientifici riguardanti le attività svolte dall'INGV (sismologia, vulcanologia, geologia, geomagnetismo, geochimica, aeronomia e innovazione tecnologica). In particolare, la collana Miscellanea INGV raccoglie reports di progetti scientifici, proceedings di convegni, manuali, monografie di rilevante interesse, raccolte di articoli ecc..

Coordinamento editoriale e impaginazione

Centro Editoriale Nazionale | INGV

Progetto grafico e redazionale

Daniela Riposati | Laboratorio Grafica e Immagini | INGV

© 2015 INGV Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia

Via di Vigna Murata, 605

00143 Roma

Tel. +39 06518601 Fax +39 065041181

<http://www.ingv.it>



Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia