

9. Metodi rapidi per le analisi chimiche dell'acqua irrigua e del substrato di coltivazione

Rita Maggini, Luca Incrocci

Introduzione

L'adozione su sempre più larga scala delle tecniche colturali fuori suolo, sia a ciclo aperto che chiuso, richiede, per una corretta gestione della fertirrigazione, il monitoraggio dei substrati di coltura utilizzati e della soluzione nutritiva che viene fatta circolare attraverso il sistema, con la necessità di eseguire frequenti misure di pH, conducibilità elettrica e contenuto di elementi nutritivi. I metodi tradizionalmente usati per le determinazioni dei vari parametri sono le analisi di laboratorio, sia chimiche che strumentali, che forniscono dati altamente affidabili, ma allo stesso tempo prevedono costi elevati e tempi tecnici spesso lunghi per ottenere il risultato. I metodi di diagnostica rapida consentono di ovviare a entrambi questi inconvenienti, poiché sono poco costosi, veloci, di facile impiego, e consentono di eseguire l'analisi, direttamente sul luogo di produzione. Per questi motivi essi sono stati sviluppati e sempre più largamente adottati. Le attrezzature impiegate sono caratterizzate da brevissimi tempi di risposta e permettono la determinazione di un numero estremamente elevato di parametri, garantendo la possibilità, quando necessario, di intervenire in maniera tempestiva sul sistema colturale.

I test rapidi possono essere eseguiti, direttamente in campo o in serra, tramite i cosiddetti "kit", piccole attrezzature consistenti nei reagenti pronti per l'uso, eventualmente corredati dalla vetreria opportuna (ad esempio, una provetta graduata) e dallo strumento portatile di misura. Tutto l'occorrente si trova generalmente incluso in una valigetta per il trasporto. Attraverso i test rapidi le varie sostanze possono essere determinate in completa autonomia dal laboratorio chimico, anche da personale privo di una formazione scientifica speci-

fica, in modo semplice, veloce e con risultati affidabili.

L'analisi della soluzione nutritiva e quella dei substrati presentano essenzialmente le stesse problematiche; infatti per il controllo rapido dei substrati è previsto uno stadio preliminare consistente nella preparazione di un estratto acquoso del mezzo di coltura. Si ottiene quindi anche in questo caso una fase liquida, su cui si vanno a eseguire, con modalità identiche, le stesse determinazioni necessarie per la soluzione nutritiva. Questo tipo di pretrattamento del substrato richiede pochi minuti e può essere eseguito direttamente sul luogo di prelievo del campione. Un protocollo di estrazione per l'analisi rapida dei substrati e la semplice attrezzatura necessaria sono riportati nel Capitolo 17.

Il tipo di materiale per la diagnostica rapida presente sul mercato è estremamente vario e permette di eseguire analisi qualitative (rivelazione della presenza o assenza della sostanza cercata), semiquantitative (indicazione della quantità di sostanza presente, entro un intervallo di concentrazioni piuttosto ampio) o quantitative (determinazione della concentrazione), mentre i costi variano da pochi euro per i test più semplici a 1000-2000 euro per la strumentazione portatile (fotometro, pHmetro, conducimetro).

Dalla loro comparsa sul mercato, i kit sono stati notevolmente migliorati nel tempo per semplificare in misura sempre maggiore l'esecuzione delle analisi di routine. A ogni kit è allegato un foglietto illustrativo in cui sono riassunte le informazioni relative a modalità di impiego, principio della reazione utilizzata, interferenza di altri componenti della soluzione, campo di applicazione e accuratezza del risultato. L'etichetta riporta, come per tutti i prodotti chimici, le indicazioni di pericolo e i consigli per la sicurezza d'uso.

Tab. 1 - Principali test rapidi utilizzabili nelle analisi on-line

| <i>Tipo di test</i> | <i>Procedura</i> | <i>Risultato</i> | <i>Determinazioni</i> |
|-------------------------------------|---|---|--|
| TEST COLORIMETRICI | | | |
| Strisce reattive | • Immergere la striscia nella soluzione | • Confronto del colore del campione con scala cromatica di riferimento • Lettura con riflettometro | Concentrazione di ioni (ad esempio, Na ⁺ , K ⁺ , Mg ⁺⁺ , Ca ⁺⁺ , NO ₃ ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , Cl ⁻) |
| Reattivi predosati | • Aggiungere il campione | lettura con fotometro | Concentrazione di ioni (ad esempio, Na ⁺ , K ⁺ , Mg ⁺⁺ , Ca ⁺⁺ , NO ₃ ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , Cl ⁻) |
| Set di reagenti | • Mescolare i reagenti come da istruzioni | • Confronto del colore del campione con scala cromatica di riferimento • Lettura con fotometro | Concentrazione di ioni (ad esempio, Na ⁺ , K ⁺ , Mg ⁺⁺ , Ca ⁺⁺ , NO ₃ ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , Cl ⁻) |
| TEST TITRIMETRICI | | | |
| Con contagocce / flacone contagocce | • Aggiungere reagenti come da istruzioni • Aggiungere il titolante con contagocce o flacone contagocce | • Calcolo concentrazione da n. gocce come da istruzioni | Concentrazione di ioni (ad esempio, Ca ⁺⁺ , Mg ⁺⁺) |
| Con siringa dosatrice | • Aggiungere i reagenti come da istruzioni • Aggiungere il titolante con siringa dosatrice | • Lettura concentrazione su siringa | Concentrazione di ioni (ad esempio, Ca ⁺⁺ , Mg ⁺⁺) |
| USO DI STRUMENTI PORTATILI | | | |
| Misure fotometriche | • Inserire striscia/cella/provetta nell'apposito alloggiamento | • Lettura concentrazione su display | Concentrazione di ioni (ad esempio, Na ⁺ , K ⁺ , Mg ⁺⁺ , Ca ⁺⁺ , NO ₃ ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , Cl ⁻) |
| Misure elettrochimiche | • Immergere il sensore nella soluzione | • Lettura concentrazione su display | pH, EC, ioni (ad esempio, Na ⁺ , F ⁻ , K ⁺ , NO ₃ ⁻ , Ca ⁺⁺ , Cl ⁻), gas (ad esempio, O ₂ , CO ₂ , NH ₃), potenziale redox |

Tab. 2 - Nomi e indirizzi di alcune ditte produttrici e/o distributrici di strumenti e kit per analisi chimiche rapide

| |
|---|
| 1. MERCK, Darmstadt, Germany; www.merck.de |
| 2. BRACCO, Divisione Chimica, Milano; www.bracco.com |
| 3. HACH Europe, Namur, Belgium; www.hach.com |
| 4. MACHEREY-NAGEL, Düren, Germany; www.macherey-nagel.com |
| 5. HANNA Italia, Sarreola di Rubano (PD); www.hanna.it |
| 6. VELP Scientifica, Usmate (MI); www.velp.it |

I dispositivi per la diagnostica rapida possono essere raggruppati nel modo seguente:

- Kit test colorimetrici:
 - strisce reattive (strip-test);
 - reagenti predosati in provetta;
 - set di reagenti.
- Kit test titrimetrici:
 - con contagocce di precisione o flacone contagocce;
 - con siringa titolatrice.
- Strumentazione portatile:

- per misure fotometriche;
- per misure elettrochimiche.

Uno schema riassuntivo dei vari tipi di test rapidi è riportato in *tab. 1*.

L'assortimento dei test kit presenti sul mercato rispecchia le esigenze pratiche degli utilizzatori e viene costantemente ampliato. Praticamente tutte le maggiori case produttrici di reagenti e strumentazione da laboratorio commercializzano anche test kit di vario tipo. Alcune ditte produttrici o distributrici di dispositivi per analisi rapide sono

elencate in *tab. 2*. Il Research Institute dell'AoAC (*Association of Analytical Communities*) dispone di un archivio aggiornato dei test kit presenti in commercio sia per l'analisi di acque che di altri tipi di campioni. I produttori sono incoraggiati a segnalare i nuovi kit immessi sul mercato per poterli inserire nel database.

Molte ditte forniscono dei veri e propri "laboratori portatili" per il monitoraggio completo dei vari parametri, comprendenti in una sola valigetta trasportabile diversi strumenti (ad esempio, pHmetro, conducimetro, fotometro), reagenti, vetreria e accessori, manuale con le metodiche analitiche eseguibili con l'attrezzatura contenuta nella confezione. Ulteriori kit possono essere aggiunti anche in un secondo tempo, acquistando di volta in volta il set di reagenti necessario.

Esistono infine analizzatori on-line automatici in grado di eseguire il monitoraggio della soluzione nutritiva, correggendone eventualmente la composizione. A seconda dei valori di concentrazione riscontrati nella soluzione ricircolante, questa viene, infatti, automaticamente arricchita con la quantità opportuna dei soli nutrienti che è necessario aggiungere. I requisiti fondamentali di queste apparecchiature sono la elevata stabilità derivante dall'automazione delle operazioni, il risparmio economico che si realizza tramite l'ottimizzazione del consumo di energia e di sostanze chimiche, la sicurezza nella gestione dell'impianto di fertirrigazione dovuta al monitoraggio continuo dei parametri fondamentali.

Test colorimetrici

La grande maggioranza dei test rapidi è basata su metodi colorimetrici. Al campione si aggiungono uno o più reagenti che a contatto con la sostanza da analizzare determinano la formazione di un composto colorato; il colore sviluppato indica la quantità di sostanza presente. La determinazione può essere effettuata per confronto visivo con una scala cromatica di riferimento presente nella confezione, oppure attraverso una lettura strumentale, che viene eseguita sul campo con uno strumento portatile.

Strisce reattive

I test rapidi più semplici prevedono l'uso di strisce reattive. Le più note sono quelle per la determinazione del pH. Le strisce vengono utilizzate immergendole per qualche secondo nella soluzione nutritiva o nell'estratto acquoso da analizzare; sono impregnate di un opportuno reagente,

che in presenza della sostanza in questione assume una particolare colorazione, ed hanno le necessarie caratteristiche di rapidità, convenienza, specificità e alta conservabilità; possono infatti essere mantenute tre anni a temperatura ambiente (sulla confezione è riportata la data di scadenza).

Sono disponibili in commercio cartine indicatrici con le quali si possono eseguire test qualitativi, rivelando la presenza della sostanza da individuare al di sopra di una certa concentrazione. Per una determinazione semiquantitativa si usano strisce analitiche, con le quali la colorazione che si osserva ha una diversa gradazione in funzione della concentrazione di sostanza presente. Dopo un



Riflettometro per analisi chimiche rapide. In basso le strisce reattive utilizzate per il saggio colorimetrico (nitrati, in questo caso). Lo strumento prevede una particolare procedura di calibrazione (v. striscia con codice a barre in alto)



Kit test con comparatore visuale

tempo prestabilito, di solito inferiore a un minuto, il colore sviluppato sulla striscia viene confrontato visivamente con la scala cromatica di riferimento. Per determinazioni quantitative lo sviluppo del colore sulla striscia viene misurato tramite un riflettometro dedicato. Il riflettometro è provvisto di codice a barre allegato a ogni confezione di strisce, che serve per la rapida calibrazione dello strumento; infatti i dati riferiti a ogni specifico lotto di strisce sono determinati durante la fase di produzione e vengono impressi direttamente sul codice a barre. Si ottengono risultati quantitativi che si leggono direttamente sul display senza bisogno di una ulteriore elaborazione e che possono essere memorizzati.

Reagenti in provetta

I reattivi predosati sono già contenuti nella provetta che sarà utilizzata per la misura. Questa deve essere effettuata con un fotometro portatile dedicato, fornito dalla stessa casa produttrice. Il test si esegue semplicemente aggiungendo il campione di soluzione da saggiare nella provetta, che viene inserita nell'apposito alloggiamento del fotometro. Lo strumento spesso mostra direttamente sul display il valore della concentrazione della specie in esame. Una confezione di reattivi predosati è costituita da qualche decina di provette contenenti i reagenti, ognuna delle quali è utilizzata per una singola analisi. I reagenti possono anche trovarsi predosati allo stato solido, sotto forma di pastiglia. Il saggio in provetta viene eseguito aggiungendo una pastiglia a un volume di campione fissato ed eseguendo la lettura strumentale dopo completa dissoluzione, a un tempo prestabilito.

Set di reagenti

I reattivi pronti all'uso si trovano in contenitori separati, corredati dal protocollo che illustra il metodo analitico da seguire. Miscelando le dosi dei vari reattivi secondo le istruzioni riportate sulla confezione si ottiene la soluzione da analizzare. Nelle confezioni che non prevedono lettura strumentale, il kit è generalmente dotato di due provette, una per il bianco e una per il campione, che vengono riempite con un volume prefissato di soluzione da analizzare. In una soltanto delle due provette vengono aggiunti i reagenti necessari per la reazione di formazione della sostanza colorata. In alcuni kit è a disposizione un apposito comparatore con scala cromatica. Spostando le due provette di reazione contenenti il campione e il bianco lungo la scala cromatica si individua il corrispondente valore di concentrazione.

La soluzione può anche essere analizzata con un fotometro portatile. Le confezioni di reagenti pronti all'uso permettono generalmente di eseguire diverse centinaia di analisi.

Test titrimetrici

L'analisi titrimetrica o volumetrica si basa sulla reazione tra la sostanza da determinare e un reagente (titolante) a concentrazione nota. La reazione avviene in presenza di un indicatore visuale, una sostanza per la quale si verifica una variazione di colore (viraggio) quando la reazione è giunta a completezza. La concentrazione della sostanza incognita si calcola in base alla quantità di titolante aggiunto; non è quindi prevista una lettura strumentale. I kit per analisi volumetrica, il più noto dei quali è quello per la determinazione della durezza delle acque (somma delle concentrazioni degli ioni calcio e magnesio presenti, espressa di solito in gradi francesi), prevedono diversi sistemi di dosaggio.

Contagocce di precisione o flaconi contagocce

Si impiegano per determinazioni rapide a consumo ridotto di reagente. Utilizzando contagocce di precisione e flaconi contagocce si conta il numero delle gocce dosate e si ottiene una indicazione della concentrazione della sostanza ricercata.

Siringa titolatrice

Si utilizza quando le esigenze di sensibilità e precisione sono più elevate. Si aspira la soluzione titolante finché il pistone della siringa non va a coincidere con lo zero della scala graduata, si aggiunge il titolante al campione fino al viraggio dell'indicatore e si legge il risultato direttamente come concentrazione sulla scala graduata della siringa.

Strumentazione portatile

Il mercato offre una vastissima gamma di strumenti di misura tascabili e portatili di basso costo e di facile utilizzazione, comprendente non solo vari tipi di fotometri (che possono essere impiegati in associazione ai test rapidi), ma anche strumenti per misure elettrochimiche. La strumentazione portatile può essere alimentata a batteria o a batterie ricaricabili, oppure può funzionare ad alimentazione mista (batteria e corrente di rete). In questo caso è possibile l'uso sia come strumenti portatili che come strumenti da banco da usare in laboratorio.

Strumentazione per misure colorimetriche

Queste misure devono essere eseguite a una lunghezza d'onda fissa, diversa a seconda della sostanza da determinare. Alcuni fotometri sono predisposti per lavorare a una lunghezza d'onda singola, oppure consentono la scelta di pochi valori di lunghezza d'onda. Questi strumenti, analogamente ai riflettometri, permettono di determinare la concentrazione di una sola o di poche sostanze e forniscono il risultato direttamente come concentrazione di quella in esame. Vi sono anche strumenti portatili dotati di maggiore flessibilità, permettendo la selezione della lunghezza d'onda di lavoro da parte dell'operatore e la determinazione di più componenti.

Strumentazione per misure elettrochimiche

I progressi della miniaturizzazione in elettronica si sono avuti soprattutto in questo campo e attualmente vengono commercializzati strumenti portatili per misure on-line, che permettono di determinare i seguenti parametri:

- pH
- conducibilità elettrica (EC)
- potenziale redox
- gas disciolti (ad esempio, O₂, CO₂, NH₃)
- concentrazione di ioni (ad esempio, Na⁺, F⁻, K⁺, NO₃⁻, Ca⁺⁺, Cl⁻).

Gli strumenti sono costituiti da una unità di controllo (microprocessore) e da un sensore, di solito collegato a essa tramite un cavo. Alcuni combinano più di una funzione, ad esempio pH e conducibilità elettrica.

Oltre ai sensori più comunemente usati, come l'elettrodo a vetro combinato per la misura del pH, si trovano in commercio molti tipi di sensori elet-

trochimici per la misura di molecole neutre (ad esempio, anidride carbonica e ammoniaca) e di ioni specifici. In quest'ultimo caso i sensori vengono chiamati elettrodi ionoselettivi (*ISE*) e il loro costo medio è intorno ai 500 euro. Quando è possibile utilizzare questa metodica analitica, la determinazione dei componenti tramite elettrodi ionoselettivi è molto spesso conveniente, poiché non è soggetta a interferenze come la presenza di solidi sospesi nel campione, non richiede particolari pretrattamenti come la filtrazione e si presta quindi alle esigenze delle misure on-line.

Manutenzione degli strumenti

È sempre buona norma leggere il manuale a corredo degli strumenti e attenersi alle istruzioni riportate. In generale occorre adottare i seguenti accorgimenti:

- evitare l'uso improprio degli strumenti e porre attenzione a evitare urti e/o versamenti di liquidi su di essi;
- dopo l'uso (ed eventualmente tra una misura e la successiva) pulire con acqua distillata o con carta imbevuta tutte le parti che vengono a contatto con il campione;
- controllare periodicamente (almeno una volta ogni 15 giorni) la calibrazione con le apposite soluzioni standard presenti in commercio;
- alcuni elettrodi (ad esempio, quello per il pH) devono essere conservati con l'apposito cappuccio protettivo contenente una soluzione di mantenimento, differente a seconda del tipo di elettrodo;
- attenersi alle istruzioni di conservazione per lo stoccaggio dei vari reagenti utilizzati.

Bibliografia

1. LABORATORIO 2000 (1998). *Guida alla scelta - Strumenti e kit per analisi sul campo*. Agosto-Settembre 1999, 34-40.
2. CATALOGHI MERCK: a) *Merckoquant® Tests. Ion-specific test strips for the semi-quantitative determination of important secondary constituents*. E. Merck, Darmstadt, Germany; b) *Tests rapidi per analisi ambientali. Guida completa all'assortimento di analitica rapida*. MERCK, 1999, Bracco S.p.A, Divisione Chimica, Linea Reagenti, Milano.
3. CATALOGO BRACCO. *Test rapidi Merck per l'analisi dell'acqua*, Bracco Industria Chimica S.p.A., Divisione Chimica, Milano.
4. CATALOGO HACH. *Guida dei prodotti HACH*. Hach Europe S.A., Namur, Belgium.
5. CATALOGO RIEDEL-DE HAËN, AQUANAL®-PLUS. *Test sets per l'analisi rapida dell'acqua*. Istituto Behring SpA, Linea reagenti per la ricerca, Milano.
6. CATALOGHI VELP SCIENTIFICA, REAGENTI NANOCOLOR®, MACHEREY-NAGEL, DÜREN, GERMANY: a) *Analisi semplificate delle acque*; b) *Analisi delle acque. Sistemi rapidi per analisi fotometriche delle acque*; c) *Sistemi rapidi per analisi delle acque*. VELP Scientifica srl, Usmate (MI).
7. AOAC - *Association of Analytical Communities*. www.aoac.org/testkits/Tkdata1.html