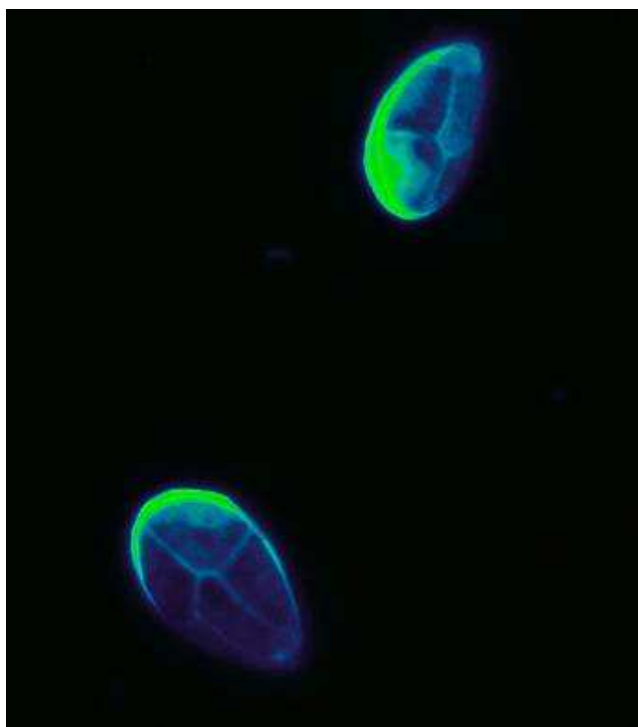


ST2.3 – Monitoraggi Ambientali – Ambiente Idrico

Piano di monitoraggio ambientale 2012 dei dinoflagellati bentonici (*Ostreopsis spp*, *Prorocentrum lima*, *Coolia monotis* e *Amphidinium sp.*) lungo le coste siciliane.



Dott.ssa Paola Aiello

Dott.ssa Anna Abita

Il responsabile ST2
Ing. Antonino Granata

Nell'ambito della programmazione delle attività connesse al monitoraggio delle acque marino costiere, come indicato all'art. 15 del DA del 6/3/2012, è previsto il Piano di monitoraggio quali-quantitativo dei dinoflagellati bentonici (*Ostreopsis spp*, *Prorocentrum lima*, *Coolia monotis* e *Amphidinium sp.*) potenzialmente tossici. Il Piano tiene conto delle risultanze delle precedenti attività di monitoraggio e delle indicazioni provenienti dai tavoli tecnici nazionali.

Il monitoraggio, per quanto attiene alle modalità di campionamento e analisi dei dinoflagellati bentonici, deve seguire i protocolli operativi trasmessi da ISPRA con nota prot. 20605 del 11/6/2010 (prot ARPA Sicilia 9687 del 18/6/2010), di cui sarà trasmessa copia via e-mail ai responsabili delle UU.OO. Monitoraggio delle ST. Per il campionamento dovrà essere seguito il metodo classico senza effettuare le tre repliche previste nel sopraccitato Protocollo ISPRA. A tale proposito si ricorda che i dettagli della metodologia di analisi da adottare sono descritti nei paragrafi 2.4, 2.5 e 2.6 del documento "Monitoraggio di *Ostreopsis ovata* e *Ostreopsis spp.*: Proposta di Protocollo operativo anno 2011", redatto dalla ST3 e trasmesso con nota prot. 36775 del 14/06/2011.

Il campionamento sarà effettuato da giugno a settembre, con la frequenza sotto riportata, da continuare con una seconda campagna di settembre, quando la densità monitorata nella prima quindicina di settembre risulta maggiore e/o costante di quella registrata nell'ultima di agosto, ed analogamente, se si evidenzia un andamento di crescita e/o di mantenimento a settembre, andrà effettuato un campionamento anche nel mese di ottobre.

giugno: 1 campionamento
luglio: 2 campionamenti
agosto: 2 campionamenti
settembre: 1(-2) campionamento
(ottobre: 1 campionamento)

Nel caso di presenza di macroalghe dovrà essere effettuato un prelievo delle stesse per determinare il numero di cellule di *Ostreopsis* per grammo di peso fresco (numero cell/gr peso fresco).

In caso di presenza di schiume, si dovrà prelevare un ulteriore campione d'acqua in prossimità della superficie, avendo cura di convogliare all'interno della bottiglia la maggior quantità di schiuma possibile, per verificare la correlazione di causa ed effetto tra schiuma e microalga, valutando la presenza/assenza dei dinoflagellati bentonici.

Se si rileva una densità cellulare di *Ostreopsis ovata* superiore alle 10.000 cell/L, i campionamenti vanno ripetuti, nel minor tempo possibile e non oltre 7 giorni dall'analisi, fino all'evidenza della diminuzione della densità ad un valore inferiore a tale limite, tenendo conto dell'incertezza di misura. Tale valutazione potrà essere effettuata per ogni specifica metodologia di misura in collaborazione con la struttura ST3. Quando la densità cellulare di *Ostreopsis* supera le 50.000 cell/L, dovrà essere consegnato una parte del campione analizzato (circa 500 ml), fissato in Lugol, alla UO ST2.3, che provvederà ad inviarlo per l'analisi molecolare al laboratorio della Dott.ssa Penna dell'Università di Urbino.

Le analisi dei campioni ripetuti dovranno comprendere tutti i parametri, sotto indicati, previsti *in situ* ed in laboratorio.

Tutti i campioni d'acqua devono essere refrigerati, conservati al buio e consegnati il più presto possibile ai laboratori per le analisi.

In attesa dell'emanazione delle Linee guida di ISPRA sulla conferma dell'identificazione della specie *Ostreopsis ovata*, tutte le ST procederanno alla identificazione della specie attraverso la misura delle dimensioni degli individui (diametro dorsoventrale $DV = 47-55 \mu m$, transdiametro $W = 27-35 \mu m$), indicate nella Guida al riconoscimento del plancton dei mari italiani del 2006 dell'ICRAM –MATTM, scaricabile all'indirizzo:

http://www.minambiente.it/export/sites/default/archivio/biblioteca/protezione_natura/dpn_fitoplancton_volume1.pdf.

Si precisa che il risultato dovrà essere espresso distintamente per *Ostreopsis ovata* e per l'eventuale altra *Ostreopsis* come *Ostreopsis* sp.

Inoltre sarà effettuata dal laboratorio della sede centrale l'identificazione della specie al microscopio in epifluorescenza con il metodo del Calcofluor, secondo quanto previsto dalla letteratura tecnica (Metodologie di studio del plancton marino. – ISPRA, Manuali e linee guida 56/2010). A tale scopo saranno inviati al laboratorio della sede centrale dalle ST un campione, prelevato alla prima campagna in cui si palesa la presenza di *Ostreopsis*, ed un altro, prelevato nel periodo di massima fioritura (luglio – agosto).

Qualora durante la stagione di monitoraggio si riscontri la presenza di una differente morfospécie (*Ostreopsis* sp.), sarà necessario l'invio di un altro campione alla sede centrale per un'ulteriore conferma all'epifluorescenza.

I risultati di tali analisi verranno trasmessi dal laboratorio della sede centrale all'UO Monitoraggio della ST che ha effettuato il campionamento.

Per l'identificazione di *Prorocentrum lima*, *Coolia monotis* e *Amphidinium* sp si rimanda alla Guida al riconoscimento del plancton dei mari italiani del 2006 dell'ICRAM –MATTM, sopra citata.

In accordo con i protocolli nazionali in uso, contestualmente al campionamento per la determinazione delle microalghe, sarà effettuato il prelievo di campioni di acqua per l'analisi dei macronutrienti, della clorofilla *a* e della torbidità. La torbidità verrà determinata nei laboratori delle ST che effettuano i campionamenti, secondo il metodo 2110 dell'APAT. Macronutrienti e clorofilla *a* saranno determinati nel laboratorio della sede centrale, pertanto i campioni prelevati per tali determinazioni verranno congelati e settimanalmente inviati dalle ST, secondo il seguente calendario. Si precisa che il campione per la determinazione della clorofilla *a* deve essere filtrato entro 8 ore dal campionamento e il filtro riposto in una provetta contenente 5 ml di acetone e quindi congelato a – 20°C, come previsto dal metodo ISPRA del Manuale 56/2010. Si allega comunque un Addendum, redatto dalla ST3, che specifica ulteriori dettagli sulle tecniche di campionamento e pretrattamento sui parametri che verranno determinati dal laboratorio della ST3.

N° Stazioni	Laboratorio che svolge il monitoraggio	Giugno	Luglio	Agosto	Settembre	Ottobre
5 TP	ST Trapani	III settimana (18-22)	I settimana (2-6)	I settimana (6-10)	I settimana (3-7)	I settimana (1-5)
			III settimana (16-20)	III settimana (20-24)	III settimana (17-21)	
10 PA	ST Palermo	III settimana (18-22)	I settimana (2-6)	I settimana (6-10)	I settimana (3-7)	I settimana (1-5)
			III settimana (16-20)	III settimana (20-24)	III settimana (17-21)	
3 ME	ST Messina	III settimana (18-22)	I settimana (2-6)	I settimana (6-10)	I settimana (3-7)	I settimana (1-5)
			III settimana (16-20)	III settimana (20-24)	III settimana (17-21)	
2 CT	ST Catania	IV settimana (25-29)	II settimana (9-13)	II settimana (13-17)	II settimana (10-14)	II settimana (8-12)
			IV settimana (23-27)	IV settimana (27-31)	IV settimana (24-28)	
6 SR +3 RG	ST Siracusa	IV settimana (25-29)	II settimana (9-13)	II settimana (13-17)	II settimana (10-14)	II settimana (8-12)
			IV settimana (23-27)	IV settimana (27-31)	IV settimana (24-28)	
3 RG	ST Caltanissetta	IV settimana (25-29)	II settimana (9-13)	II settimana (13-17)	II settimana (10-14)	II settimana (8-12)
			IV settimana (23-27)	IV settimana (27-31)	IV settimana (24-28)	
3	ST Agrigento	IV settimana (25-29)	II settimana (9-13)	II settimana (13-17)	II settimana (10-14)	II settimana (8-12)
			IV settimana (23-27)	IV settimana (27-31)	IV settimana (24-28)	

Resta confermata e obbligatoria, la registrazione dei principali parametri fisico-chimici *in situ* (sotto riportati) e delle indicazioni sulle condizioni meteorologiche (temperatura dell'aria, vento, moto ondoso, nuvolosità) nonché le caratteristiche della stazione (eventuale colorazione anomala, presenza di schiuma, alterazione delle comunità) al momento del campionamento, così come specificato nella scheda di campionamento allegata. La descrizione del profilo geomorfologico del sito dovrà essere effettuata al momento del primo campionamento, corredata da documentazione fotografica.

In attesa della messa a regime del sistema LIMS, i dati dovranno essere trasmessi entro 15 giorni dal campionamento alla ST2. U.O. 2.3_Ambiente Idrico (e-mail: agranata@arpa.sicilia.it; paiello@arpa.sicilia.it;

abita@arpa.sicilia.it), secondo il format del file Excel allegato (le celle evidenziate in arancio dovranno essere compilate dalla ST che ha effettuato il campionamento), insieme alla copia della scheda di campionamento. Il file in Excel compilato dalle ST verrà successivamente completato con i dati chimici (celle bianche) forniti dal laboratorio della sede centrale entro un mese dalla data di consegna del campione.

Qualora venissero rilevate concentrazioni di *Ostreopsis ovata* superiori a 10.000 cell/L, sarà cura delle Strutture territoriali competenti che hanno effettuato il campionamento, dare le comunicazioni previste dalla circolare interassessoriale 6 luglio 2007 n. 1216 e cioè trasmettere i risultati, oltre che alla UO ST2.3, alla Capitaneria di Porto territorialmente competente, al Sindaco del comune interessato, al Responsabile dell'UO distrettuale di Igiene Pubblica territorialmente competente, al Laboratorio di Sanità Pubblica (LSP) dell'AUSL competente e all'Ispettorato Regionale Sanitario Servizio 1 – Igiene Pubblica.

Misure *in situ* e prelievi per le analisi di laboratorio effettuate per ciascun punto di campionamento:

- a) Misure *in situ* e campionamento** (entro la profondità massima di 1,5m)
- Condizioni meteorologiche
 - Misure dei principali parametri chimico-fisici (Temperatura, pH, salinità, ossigeno disciolto)
 - Prelievo di campioni d'acqua per la conta di *Ostreopsis ovata*, di altre specie afferenti allo stesso genere e degli altri dinoflagellati potenzialmente tossici (*Coolia monotis*, *Prorocentrum lima*, *Amphidinium* sp.);
 - Prelievo di campioni d'acqua per la conferma della specie *Ostreopsis ovata*;
 - Prelievo di macroalghe quando presenti (si ricorda che, quando possibile, l'alga dovrà essere la stessa per tutta la stagione di monitoraggio);
 - Prelievo di campioni d'acqua per analisi di clorofilla *a*, torbidità e nutrienti (N, NH₄, NO₂, NO₃, SiO₂, P, PO₄)
- b) analisi di laboratorio**
- analisi di clorofilla *a*, torbidità e nutrienti (N, NH₄, NO₂, NO₃, SiO₂, P, PO₄)
 - analisi quali-quantitativa di *Ostreopsis ovata* e degli altri dinoflagellati potenzialmente tossici (*Coolia monotis*, *Prorocentrum lima*, *Amphidinium* sp.);
 - conferma identificazione della specie *Ostreopsis ovata*;
 - analisi quali-quantitativa di *Ostreopsis ovata* e degli altri dinoflagellati potenzialmente tossici (*Coolia monotis*, *Prorocentrum lima*, *Amphidinium* sp.) su macroalghe;
 - identificazione della macroalga

Si riportano di seguito le Stazioni di monitoraggio e il percorso di scelta nella definizione delle stesse.

Per le province di Agrigento, Catania, e Trapani, le stazioni da monitorare restano le stesse della campagna di monitoraggio del 2011.

Rispetto al monitoraggio 2011 per Palermo viene esclusa la stazione del corpo idrico 21 – Pollina (PA), perché scarsamente significativa; analogamente nel territorio della provincia Siracusa, viene esclusa la stazione di Priolo (corpo idrico 43).

Il monitoraggio di indagine effettuato per la fascia costiera messinese, ha confermato l'assenza, o comunque una presenza non rilevante, di *Ostreopsis ovata* sul versante tirrenico della provincia. Solamente nel corpo idrico 36, nel versante ionico, sono risultate densità che suggeriscono la prosecuzione del monitoraggio. Pertanto saranno monitorate le stazioni Taormina – Mazzarò, Taormina – Isola Bella, Taormina – Villagonia.

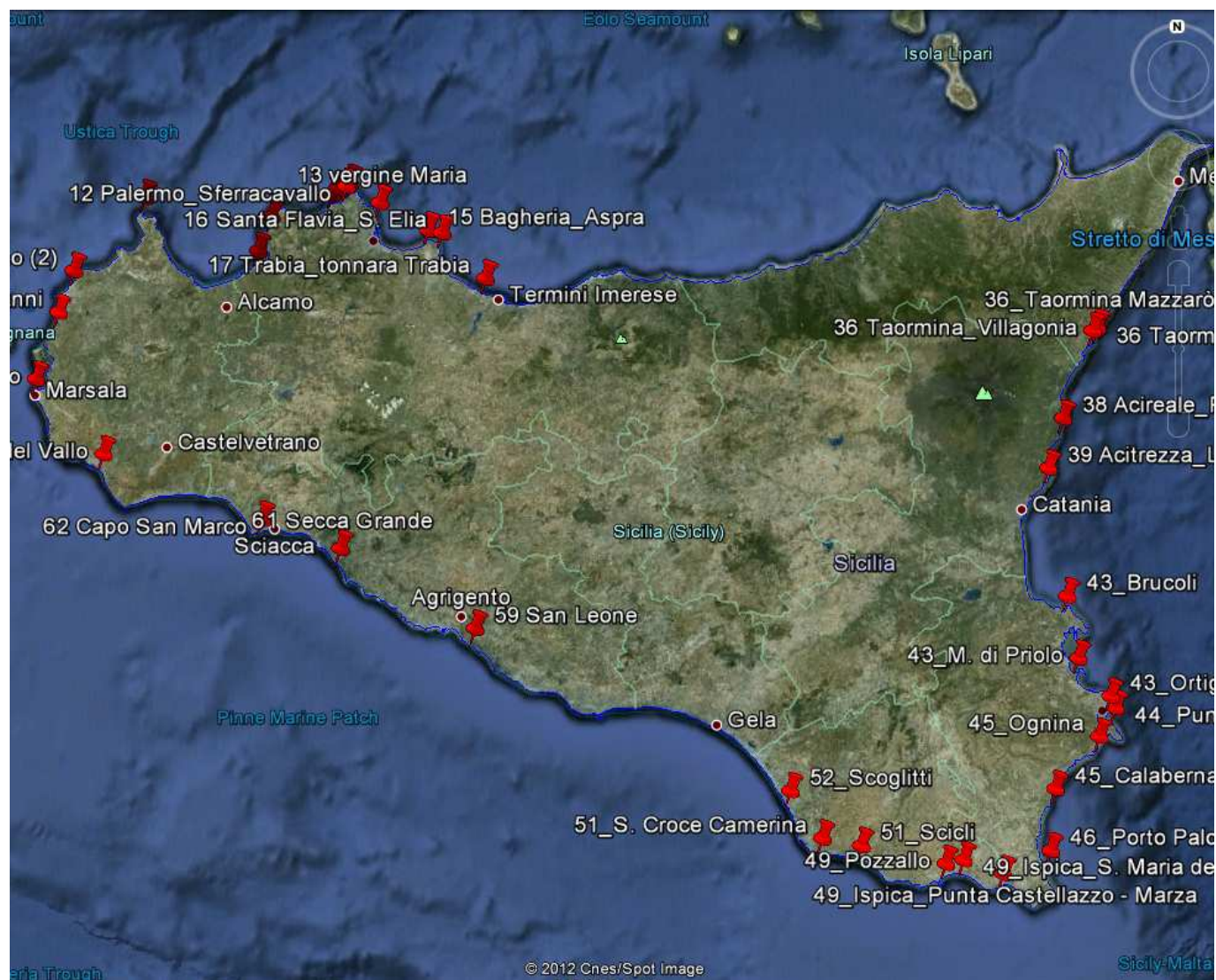
In seguito alle attività della ST di Caltanissetta per ridefinire la mappa dei siti di campionamento sul proprio territorio e su parte di quello di Ragusa, si ritiene di escludere dal monitoraggio 2012 le stazioni nissene e proseguire sulla costa ragusana un monitoraggio di indagine.

La tabella seguente riporta tutte le stazioni di campionamento e le ST deputate alle analisi.

Si raccomanda, per evitare equivoci o difficili interpretazioni, di indicare nella scheda di campionamento e nei rapporti di prova la stazione con la denominazione della località prevista in tabella, il codice del corpo idrico, il comune di appartenenza e le coordinate geografiche.

Il Piano viene inviato a tutte le strutture competenti.

Corpo Idrico	Prov.	Comune	Località	LATITUDINE (N)	LONGITUDINE (E)	Laboratorio che svolge il monitoraggio
2	TP	Marsala	Capo Lilibeo	37°48'8,4"	12°25'29,6"	ST Trapani
3	TP	Marausa	S. Giovanni	37°56'41,6"	12°29'19,2"	ST Trapani
5	TP	Valderice	S. Giuliano (2)	38°2'34"	12°32'28"	ST Trapani
6	TP	S. Vito Lo Capo	Capo S. Vito (Grotta Cavalli)	38°11'5,9"	12°43'22,4"	ST Trapani
9	PA	Trappeto	Trappeto	38°4'13,8"	13°2'7"	ST Palermo
10	PA	Terrasini	Calarossa	38°8'31,63"	13°4'20,49"	ST Palermo
11	PA	Isola delle Femmine	Isola delle Femmine - Capaci	38°11'17,8"	13°14'20,8"	ST Palermo
11	PA	Isola delle Femmine	Scogliera Azzurra	38°11'56,11"	13°15'11,45"	ST Palermo
12	PA	Palermo	Sferracavallo	38°12'11,89'	13°16'41,31"	ST Palermo
12	PA	Palermo	Barcarello	38°12'39,73"	13°17'15,63"	ST Palermo
13	PA	Palermo	Vergine Maria	38°10'4,534"	13°22'10,448"	ST Palermo
15	PA	Bagheria	Aspra	Da riposizionare a cura della ST PA		ST Palermo
16	PA	S. Flavia	S. Elia	38°5'59,84"	13°32'9,48"	ST Palermo
17	PA	Trabia	Tonnara Trabia	37°59'52,85"	13°39'6,15"	ST Palermo
36	ME	Taormina	Mazzarò	37°51'17,99"	15°18'4'96"	ST Messina
36	ME	Taormina	Isola Bella	37°51'7,87"	15°17'59,49"	ST Messina
36	ME	Taormina	Villagonia	37°50'52,62"	15°17'12,44"	ST Messina
38	CT	Acireale	Pozzillo	37°39'47,853"	15°11'49,48"	ST Catania
39	CT	Acicastello	Lungomare Scardamiano	37°33'28,74"	15°09'05,46"	ST Catania
43	SR	Augusta	Brucoli	37°17'00,68"	15°11'19,23"	ST Siracusa
43	SR	Siracusa	Ortigia	37°03'56,55"	15°17'44,60"	ST Siracusa
44	SR	Siracusa	Punta della Mola	37°02'24,73"	15°18'26,94"	ST Siracusa
45	SR	Siracusa	Ognina	36°58'50,20"	15°15'39,60"	ST Siracusa
45	SR	Avola	Calabernardo	36°52'21,5"	15°08'16,4"	ST Siracusa
46	SR	Porto Palo di C. Passero	Porto Pidocchio	36°44'26,1"	15°07'10"	ST Siracusa
49	RG	Pozzallo	Raganzino	36°43'203"	14°50'151"	ST Siracusa
49	RG	Ispica	S. Maria del Focallo	36°43'440"	14°53'264"	ST Siracusa
49	RG	Ispica	Punta Castellazzo - Marza	36°41'441"	14°59'255"	ST Siracusa
52	RG	Vittoria	Scoglitti	36°53'237"	14°25'454"	ST Caltanissetta
51	RG	S. C. Camerina	Scavi di Caucana	36°47'119"	14°30'379"	ST Caltanissetta
51	RG	Scicli	Plaia Grande	36°46'038"	14°36'493"	ST Caltanissetta
59	AG	Agrigento	S. Leone	37°15'15,48"	13°36'00,8"	ST Agrigento
61	AG	Ribera	Secca grande (PdP 35)	37°25'52"	13°14'40"	ST Agrigento
62	AG	Sciacca	capo S. Marco	37°29'45"	13°02'6,7"	ST Agrigento
64	TP	Mazara del Vallo	Mazara del Vallo	37°38'26,3"	12°36'26,2"	ST Trapani



Verbale N°

Anno		Mese		Giorno	
1	2				

Località		Comune	
Data		___/___/2012	
Ora inizio		Ora fine	

CONDIZIONI METEO-MARINE	
Copertura cielo (0-8/8)*	Temperatura aria (°C)
Stato Mare (scala Douglas)**	Direzione onde
Vento***	Direzione vento
Irraggiamento (MJ/m ²) (estrarre il dato dal sito http://www.sias.regione.sicilia.it/)	

Numero corpo idrico			
Coordinate Geografiche	Longitudine	Latitudine	
<input type="checkbox"/> WGS 84			
<input type="checkbox"/> ED 50			
Morfologia:	<input type="checkbox"/> sedimenti	<input type="checkbox"/> opere di difesa	
Distanza dalla Costa (m)	Tipo di Substrato:	<input type="checkbox"/> Mobile	<input type="checkbox"/> Roccioso
Profondità batimetrica (m)		Profondità campionamento (m)	
Parametri chimico-fisici rilevati in campo in acqua			
<input type="checkbox"/> O ₂ (mg/L)	<input type="checkbox"/> O ₂ (%)	<input type="checkbox"/> pH	
<input type="checkbox"/> T(°C)	<input type="checkbox"/> Salinità		
Osservazioni Macroscopiche			
Schiume, flocculi ecc.	si	no	
Scogli rivestiti di una pellicola gelatinosa marrone rossastra	si	no	
Scomparsa e/o rarefazione delle patelle sugli scogli (impronte)	si	no	
Conchiglie di patelle sul fondo	si	no	
Mitili, patelle, ricci o alghe ricoperti da una pellicola marrone-rossastra	si	no	
Banchi di mitili morti o oscillanti alla corrente	si	no	
Ammassi di valve di mitili sul fondo alla base degli scogli	si	no	
Ricci morti anneriti	si	no	
Ricci vivi ma totalmente o parzialmente privi di aculei	si	no	
Scomparsa o forte rarefazione delle alghe sommerse	si	no	
Chiazze nere smuovendo la sabbia alla base degli scogli?	si	no	
Scarsa reattività degli organismi marini	si	no	
Altro	si	no	

Campioni d'acqua prelevati per l'analisi biologica		Tipologia contenitore	
<input type="checkbox"/>	dinoflagellati bentonici in acqua	Bottiglia 1 L scura con 6 ml di Lugol	
<input type="checkbox"/>	Macroalga per dinoflagellati bentonici	20 gr in 1 Bottiglie PE scuro da 500 ml	
<input type="checkbox"/>	Macroalga: (genere, specie)		
<input type="checkbox"/>	Schiuma	Bottiglia 1 L scura con 6 ml di Lugol	
Campioni d'acqua prelevati per l'analisi chimica		Tipologia contenitore	
<input type="checkbox"/>	analisi chimica dei nutrienti (NH ₄ , NO ₂ , NO ₃ , SiO ₂ , PO ₄) (sul filtrato a 0,7µm in fibra di vetro)	1 bottiglia scura da 1000 ml	
<input type="checkbox"/>	analisi clorofilla (sul filtro a 0,7µm in fibra di vetro)		
<input type="checkbox"/>	analisi chimica N e P Tot.	2 barattoli con controtappo da 100 ml	
<input type="checkbox"/>	torbidità	1 bottiglia da 100 ml	

NOTE

OPERATORI	
Nome e Cognome	Firma

* COPERTO: copertura nuvolosa del cielo pari a 8/8; MOLTO NUVOLOSO: copertura nuvolosa del cielo pari a 6 o 7 /8; NUVOLOSO: copertura nuvolosa di 3, 4 o 5/8; POCO NUVOLOSO: copertura nuvolosa del cielo di 1 o 2/8; SERENO: copertura nuvolosa del cielo di 0/8

** Scala Douglas - 0 - Calmo ; 1 - Quasi calmo (altezza onde:0 - 0,10 m); 2- Poco mosso (0,10 - 0,50 m); 3- Mosso (0,50 - 1,25 m); 4 - Molto mosso (1,25 - 2,50 m);

*** Riportare il tipo di vento in riferimento alle condizioni ambientali.

tipo di vento	condizioni ambientali	velocità (m/s)	velocità (km/h)	(nodi)
calma	il fumo ascende verticalmente; il mare è uno specchio.	< 0.3	0-1	0-1
bava di vento	il vento devia il fumo; increspature dell'acqua.	0.3-1.5	1-5	1-3
brezza leggera	le foglie si muovono; onde piccole ma evidenti.	1.6-3.3	6-11	4-6
brezza tesa	foglie e rametti costantemente agitati; piccole onde, creste che cominciano ad infrangersi.	3.4-5.4	12-19	7-10
vento moderato	il vento solleva polvere, foglie secche, i rami sono agitati; piccole onde che diventano più lunghe.	5.5-7.9	20-28	11-16
vento teso	oscillano gli arbusti con foglie; si formano piccole onde nelle acque interne; onde moderate allungate.	8-10.7	29-38	17-21
vento fresco	grandi rami agitati, sibili tra i fili telegrafici; si formano marosi con creste di schiuma bianca, e spruzzi.	10.8-13.8	39-49	22-27
vento forte	interi alberi agitati, difficoltà a camminare contro vento; il mare è grosso, la schiuma comincia ad essere sfilacciata in scie.	13.9-17.1	50-61	28-33
burrasca moderata	rami spezzati, camminare contro vento è impossibile; marosi di altezza media e più allungati, dalle creste si distaccano turbini di spruzzi.	17.2-20.7	62-74	34-40
burrasca forte	camini e tegole asportati; grosse ondate, spesse scie di schiuma e spruzzi, sollevate dal vento, riducono la visibilità.	20.8-24.4	75-88	41-47
tempesta	rara in terraferma, alberi sradicati, gravi danni alle abitazioni; enormi ondate con lunghe creste a pennacchio.	24.5-28.4	89-102	48-55
fortunale	raro, gravissime devastazioni; onde enormi ed alte, che possono nascondere navi di media stazza; ridotta visibilità.	28.5-32.6	103-117	56-63
uragano	distruzione di edifici, manufatti, ecc.; in mare la schiuma e gli spruzzi riducono assai la visibilità.	32.7 +	oltre 118	64 +

Addendum al Piano di monitoraggio ambientale 2012 dei dinoflagellati bentonici (*Ostreopsis spp*, *Prorocentrum lima*, *Coolia monotis* e *Amphidinium sp.*) lungo le coste siciliane.

Procedure di campionamento per le aliquote di acqua di mare da destinare alle analisi di Macronutrienti e Clorofilla “a”

Redatto da p. ch. Tiziana Nicoletti della ST3

Il presente addendum completa le linee guida relative alle procedure di campionamento, pretrattamento eventuale e analisi di Macronutrienti e Clorofilla “a” dei campioni destinati alla ricerca dei dinoflagellati bentonici lungo le coste siciliane.

Le aliquote da destinare ad analisi

Si precisa che le aliquote di campione destinate alle analisi dei macronutrienti e della clorofilla “a” devono subire adeguati pretrattamenti prima di essere conservati/stoccati temporaneamente presso le ST in attesa della loro successiva consegna al laboratorio della SEDE per le successive analisi, nel dettaglio:

- l’aliquota di acqua di mare da destinare all’**analisi di nutrienti e silicati** deve essere filtrata (F.)
- l’aliquota di acqua di mare da destinare all’**analisi di azoto e fosforo totale** deve essere tale quale (T.Q.), pertanto NON necessita di alcun pretrattamento
- mentre l’aliquota di acqua di mare da destinare all’**analisi della clorofilla “a”** deve essere filtrata inderogabilmente entro le 8 ore dal campionamento su filtri da 0,7 µm in fibra di vetro.

Le **analisi dei macronutrienti** saranno condotte con un **analizzatore a flusso**, pertanto il laboratorio della SEDE necessita di aliquote ridotte in volume; su ogni sito di campionamento sarà comunque necessario prelevare:

- 50 ml, IN DOPPIO rigorosamente, per la parte F.
- **almeno** 50 ml, IN DOPPIO rigorosamente, per la parte T.Q.

L’**analisi della clorofilla “a”** sarà condotta secondo la **metodica ISPRA** (*Metodologie di studio del Plancton marino – Manuali e linee guida 56/2010*) che prevede, per acque costiere, la filtrazione di 1 L di campione, sarà dunque necessario prelevare:

- **almeno** 1000 ml.

I barattoli di campionamento, le procedure in campo e il pretrattamento del campione

Per azoto e fosforo totale – travasare il campione d’acqua dalle bottiglie di prelievo ai contenitori di plastica, i barattoli devono essere muniti di CONTROTAPPO al fine di evitare la perdita di parte dell’aliquota. Nel caso in cui si utilizzino provettoni falcon da 50 ml, bisognerà proteggere il tappo – da eventuali fuoriuscite d’acqua – con uno strato di parafilm e verificare che il volume di campione sia almeno pari a 50 ml. Il campione dovrà ESSERE COSTITUITO DA 2 ALIQUOTE in doppio. Riporre i campioni al fresco in borsa termica e congelare subito dopo l’arrivo in laboratorio. I campioni dovranno essere successivamente **consegnati al laboratorio della SEDE da congelati**.

Per nutrienti, silicati e clorofilla “a” - travasare il campione d’acqua dalle bottiglie di prelievo alla bottiglia di plastica scura da 1 L e riporre al fresco in borsa termica, lontano quanto prima possibile dai

raggi solari. Subito dopo l'arrivo in laboratorio, comunque entro le 8 ore dal campionamento, procedere con la filtrazione del campione su filtri da 0,7 µm in fibra di vetro.

La parte trattenuta sul filtro, il filtro stesso, è destinato all'analisi della clorofilla "a" e segue la successiva procedura di conservazione campione; la parte filtrata, **l'acqua residua dalla filtrazione è destinata all'analisi di nutrienti e silicati** e deve essere suddivisa in due contenitori di plastica, i barattoli devono essere muniti di CONTROTAPPO al fine di evitare la perdita di parte dell'aliquota. Nel caso in cui si utilizzino provettoni falcon da 50 ml, bisognerà proteggere il tappo – da eventuali fuoriuscite d'acqua – con uno strato di parafilm. Il campione dovrà ESSERE COSTITUITO DA 2 ALIQUOTE in doppio congelate. I campioni dovranno essere successivamente **consegnati al laboratorio della SEDE da congelati**.

Il filtro destinato all'analisi di clorofilla "a" deve essere posto (secondo metodica) in provetta da centrifuga con chiusura ermetica, quindi bisognerà aggiungere un volume noto di acetone puro per analisi neutralizzato, tale da garantire la completa immersione del filtro (indicativamente 5 ml). Le provette dovranno poi essere tappate e conservate al buio a -20°C fino al momento della consegna delle stesse presso il laboratorio della SEDE per le successive analisi.

Accorgimenti e annotazioni

L'esperienza pregressa ci spinge a chiedere una accortezza particolare nel controllare che vengano rispettati dettagli fondamentali quali:

- le bottiglie contenenti le aliquote da destinare ad analisi devono essere correttamente etichettate, in modo univoco e chiaro;
- le bottiglie relative all'analisi dei macronutrienti, per ogni singolo campione (o sito di campionamento), dovranno essere 4, di cui 2 FILTRATE (non verranno accettate aliquote dichiarate filtrate con evidente presenza di materiale in sospensione) e 2 TAL QUALE;
- se il campione viene posto dentro provettoni falcon, il volume dovrà essere pari almeno a 50 ml, i tappi dovranno essere ben foderati di parafilm. Non saranno accettati campioni parziali o parzialmente compromessi;
- il volume di campione filtrato su filtro da destinare all'analisi di clorofilla "a" **deve essere noto e pari circa ad 1 L**. Qualora non diversamente specificato, i calcoli per desumere la concentrazione di clorofilla "a" nel campione saranno ricondotti alla filtrazione di 1L, viceversa siete pregati di indicare il volume esatto.