

**PROTOCOLLO PER IL CAMPIONAMENTO DEI
PARAMETRI CHIMICO-FISICI A SOSTEGNO DEGLI
ELEMENTI BIOLOGICI IN AMBIENTE LACUSTRE**

La realizzazione dei metodi per il campionamento e l'analisi degli elementi biologici di qualità delle acque dolci superficiali è stata coordinata dall'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici (APAT) in stretta collaborazione con il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare (MATTM).

L'elaborazione dei diversi protocolli è frutto della collaborazione di gruppi di lavoro, specifici per ogni elemento biologico. Si ringraziano vivamente i singoli esperti e i diversi Organismi ed Istituzioni che hanno collaborato per la realizzazione di questi metodi. L'impostazione, il coordinamento e la stesura finale dei diversi protocolli sono stati curati dal Servizio Metrologia Ambientale del Dipartimento Stato dell'Ambiente e Metrologia Ambientale in collaborazione con il Dipartimento Acque dell'APAT.

Componenti del Gruppo di lavoro:

MATTM - Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare

Sollazzo Caterina
Scanu Gabriela
Aste Fiorella

APAT – Agenzia per la protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici

Belli Maria
Balzamo Stefania
Martone Cristina
Cadoni Fabio
Bernabei Serena

CNR – IRSA

Tartari Gianni
Buraschi Elisa
Copetti Diego

CNR – ISE

Marchetto Aldo
Morabito Giuseppe
Oggioni Alessandro

ARPA Lombardia – Dipartimento di Lecco

Dal Miglio Antonio
Buzzi Fabio

APPA Trento

Pozzi Sabrina

Università Bicocca di Milano

Garibaldi Letizia

Istituto Agrario di San Michele all'Adige

Salmaso Nico

Università degli Studi di Sassari – Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e del Territorio

Lugliè Antonella

INDICE

PREMESSA.....	4
1. Introduzione.....	4
2. Riferimenti normativi.....	4
3. Scopo.....	5
4. Termini e definizioni.....	5
5. Frequenze.....	6
6. Strumentazione ed attrezzatura	7
7. Procedura di campionamento.....	7
7.1 Periodo di campionamento.....	8
7.2 Strategia di campionamento: localizzazione della stazione	8
7.3 Misure effettuate ad ogni campionamento	9
7.4 Profondità di campionamento	9
7.5 Prelievo di campioni aggiuntivi	11
8. Procedure Analitiche.....	12
8.1 Conservazione del campione.....	12
9. Qualità del campionamento.....	12
Appendice A	14
Strumentazione.....	14
Bibliografia	15
Allegato 1	16
Esempio di informazioni minime da inserire in una scheda di campionamento.....	16

PREMESSA

Il protocollo sul campionamento delle acque lacustri integra completandole le metodologie di campionamento ed analisi del fitoplancton, delle macrofite acquatiche e della fauna a macroinvertebrati in ambiente lacustre riportati nei capitoli successivi di questo Manuale. Anche questo protocollo come i precedenti segue le indicazioni della Direttiva 60/2000/CE (Water Framework Directive, WFD) e del Regolamento per la progettazione del programma di monitoraggio emanato dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare.

1. Introduzione

La Direttiva 60/2000/CE definisce il buono stato chimico-fisico delle acque superficiali come *“lo stato richiesto per conseguire gli obiettivi ambientali fissati dall'articolo 4, paragrafo 1, lettera a), ossia lo stato raggiunto da un corpo idrico superficiale nel quale la concentrazione degli inquinanti non supera gli standard di qualità ambientali fissati dall'allegato IX, e in forza dell'articolo 16, paragrafo 7 e di altre normative comunitarie pertinenti che istituiscono standard di qualità ambientale a livello comunitario”*.

L'Allegato V, paragrafo 1.1 nell'individuare lo stato delle acque superficiali stabilisce che gli elementi chimici e fisico-chimici a sostegno degli elementi biologici si distinguono in: **elementi generali** (trasparenza, condizioni termiche, condizioni di ossigenazione, salinità, stato di acidificazione, condizioni dei nutrienti) e **inquinanti specifici** (inquinamento da tutte le sostanze dell'elenco di priorità di cui è stato accertato lo scarico nel corpo idrico, inquinamento da altre sostanze di cui è stato accertato lo scarico nel corpo idrico in quantità significative).

Per la definizione dello stato ecologico gli Stati membri definiscono, per ciascun periodo cui si applica un piano di gestione dei bacini idrografici, un programma di **monitoraggio di sorveglianza** e un **programma di monitoraggio operativo**. In taluni casi può essere necessario istituire anche programmi di **monitoraggio d'indagine** (Allegato V, paragrafo 1.3).

2. Riferimenti normativi

- E.U., 2000. Direttiva 2000/60/EC del Parlamento e del Consiglio Europeo del 23 Ottobre 2000 che stabilisce un protocollo per l'azione comunitaria in materia di acque. Official Journal of the European Communities L 327, 22.12.2000, 1-72
- Decreto Legislativo n. 152/2006. Norme in materia ambientale. G.U. 88 del 14/04/2006 – suppl. ord. n. 96.
- EN ISO 5667-1 Water quality – Sampling – Part 1: Guidance on the design of sampling programmes.
- EN ISO 5667-3 Water quality – Sampling – Part 3: Guidance on the preservation and handling of samples.

3. Scopo

Questo protocollo illustra le modalità da seguire per il campionamento di acque pelagiche lacustri naturali, artificiali o fortemente modificate (Articolo 2 della Direttiva), finalizzate alla determinazione degli elementi fisico chimici generali (trasparenza, condizioni termiche, condizioni di ossigenazione, salinità, stato di acidificazione, condizioni dei nutrienti) a sostegno degli elementi biologici. Il protocollo stabilisce i requisiti minimi da seguire per garantire il confronto tra ambienti lacustri di diversa tipologia secondo quanto prescritto dalla Direttiva 60/2000/CE.

4. Termini e definizioni

Le definizioni di seguito riportate sono relative ai termini da utilizzare nella descrizione dello stato fisico-idrologico di un lago/invaso e nella descrizione dello stato chimico. Sono inoltre riportate le definizioni di alcuni dei termini utilizzati nel linguaggio limnologico che possono essere di supporto nella descrizione dello stato ecologico.

Anossia/atossici:	Situazione di assenza di ossigeno negli strati d'acqua profondi lacustri.
Chemoclinio:	Gradiente di densità dovuto a un cambiamento della concentrazione di sali.
Dimittico:	Lago/invaso caratterizzato da temperatura omogenea lungo l'intera colonna d'acqua in due periodi stagionali, tipicamente l'autunno e la primavera.
Epilimnio:	Strato d'acqua superficiale di un lago/invaso termicamente stratificato collocato sopra il metalimnio, che lo separa dagli strati profondi (ipolimnio)
Eufotica:	Zona porzione (strato eufotico) di un corpo lacustre raggiunto da una quantità di radiazione solare sufficiente per la fotosintesi.
Eutrofico:	Corpo d'acqua ricco di nutrienti (azoto, fosforo) e quindi capace di sostenere una intensa crescita algale.
Eutrofizzazione:	Progressivo arricchimento, naturale o artificiale, in nutrienti che causa un aumento della produzione algale.
Invasi:	Insieme dei corpi idrici superficiali interni fermi (laghi) di natura artificiale o fortemente modificata
Ipolimnio:	Zona profonda di un lago/invaso termicamente stratificato separata dagli strati superficiali (epilimnio) dalla zona del metalimnio.
Isoterma:	Linea che congiunge i punti di uguale temperatura.
Isoterma:	Condizione di stessa temperatura.
Meromittico:	Lago che mostra una separazione in strati d'acqua con densità differente, dovuta non a differenze di temperatura, ma a differenze nella concentrazione dei soluti.
Mesotrofia:	Condizione trofica di un lago/invaso moderatamente ricco in nutrienti algali. La condizione di mesotrofia è intermedia tra l'oligotrofia (= scarsità di nutrienti) e l'eutrofia (= eccesso di nutrienti).
Metalimnio:	Zona compresa tra gli strati superficiali (epilimnio) e quelli profondi (ipolimnio). Il metalimnio è determinato dalla posizione del salto termico (termoclinio).
Mixolimnio:	Zona di un lago/invaso stratificato che è più prossima alla superficie e che subisce facilmente un rimescolamento per azione del vento.

Monimolimnio:	Strato d'acqua profondo di un lago meromittico.
Monomittico:	Lago/invaso caratterizzato da una sola fase di mescolamento delle acque, che si verifica tra la fine dell'autunno e l'inizio della primavera. Nei mesi estivi è presente una stratificazione termica e sono distinguibili un epilimnio, un metalimnio ed un ipolimnio.
Nutriente:	Ogni elemento o sostanza essenziale per gli organismi viventi. Carbonio, azoto, fosforo e silice sono nutrienti essenziali per tutte le alghe ed il silicio lo è per le diatomee.
Olomittico:	Lago/invaso che annualmente presenta una completa circolazione invernale.
Oligomittici:	Laghi nei quali una modesta differenza di temperatura invernale tra acque superficiali e acque profonde impedisce la regolare circolazione completa della colonna d'acqua. Questa avviene solo in particolari condizioni idroclimatiche.
Oligotrofia:	Condizione di un lago/invaso con limitato contenuto di nutrienti algali.
Omeotermia:	Situazione in cui si osservano temperature uniformi.
Polimittico:	Lago/invaso che non mostra una stratificazione termica evidente e stabile e può andare incontro a diverse fasi di mescolamento nel corso del suo ciclo annuale.
Stratificazione:	Situazione dei laghi/invasi le acque dei quali sono distribuite in strati diversificati da caratteristiche fisiche (temperatura) o chimiche (concentrazione di materia).
Termoclinio:	Zona dei corpi lacustri definita dal gradiente verticale negativo di temperatura solitamente stabilito in circa 1 °C/m (variazione di un grado centigrado per ogni metro di profondità).

5. Frequenze

Per il monitoraggio dei corpi idrici lacustri sono fissate frequenze che tengono conto della variabilità dei parametri derivanti sia da condizioni naturali che antropiche. I periodi in cui effettuare le attività di monitoraggio saranno scelti in modo da minimizzare l'incidenza delle variazioni stagionali sul risultato ed assicurare quindi che quest'ultimo rispecchi i mutamenti intervenuti nel corpo idrico a seguito di cambiamenti dovuti alla pressione antropica. Per conseguire quest'obiettivo dovranno essere effettuati, se necessario, campionamenti supplementari in stagioni diverse del medesimo anno.

Le frequenze di campionamento delle acque lacustri naturali e degli invasi indicate dalla Direttiva 60/2000/CE (Allegato 5, Paragrafo 1.3.4), e recepite nella normativa nazionale nel Regolamento relativo alla predisposizione dei Programmi di monitoraggio (di sorveglianza ed operativo) sono:

- **bimestrali** per gli **elementi generali**: condizioni termiche, ossigenazione, conducibilità, stato dei nutrienti e stato di acidificazione;
- **trimestrali** per tutti gli per gli **inquinanti specifici**;
- **mensili** per le sostanze dell'elenco di priorità.

Le frequenze sono altresì scelte in modo da garantire il livello di attendibilità e precisione definito nel piano di gestione del bacino idrografico.

6. Strumentazione ed attrezzatura

Nel seguito sono elencati a titolo orientativo i principali strumenti e le attrezzature necessarie per un campionamento effettuato secondo le normali pratiche di campo, in condizioni di qualità e sicurezza:

- Dispositivi di protezione individuale¹;
- Imbarcazione e relativi dispositivi di protezione e segnalazione obbligatori secondo le norme in vigore (Decreto 5 ottobre 1999 n. 478 "Regolamento recante norme di sicurezza per la navigazione da diporto". G.U. del 17.12.1999);
- Disco di Secchi;
- Termistor (singolo o integrato in una sonda multiparametrica);
- Sonda multiparametrica per profondità < o > di 300 m a seconda dei laghi/invasi;
- Campionatore (bottiglia a strappo, di tipo Niskin o Van Dorn);
- Verricello motorizzato o manuale per la raccolta di campioni in laghi/invasi con profondità massima superiore a 50 m;
- Bottiglie da 1 litro per la raccolta dei campioni per le determinazioni chimico-fisiche;
- Contenitori termici per la conservazione al freddo ed al buio dei campioni;

Caratteristiche dettagliate delle apparecchiature sopra riportate si trovano in Appendice A.

7. Procedura di campionamento

La scelta dei punti di campionamento negli invasi e nei laghi devono tenere conto principalmente della profondità dei laghi e del loro stato naturale, artificiale o fortemente modificato. Negli invasi il campionamento deve essere rappresentativo dell'impatto globale delle pressioni idromorfologiche, che possono essere influenzate dalla eccessiva vicinanza all'infrastruttura del punto di prelievo o di restituzione di acqua al corpo idrico.

Considerato inoltre che il campionamento finalizzato alle analisi fisico-chimiche per gli elementi generali deve essere di supporto alla valutazione dello stato ecologico del corpo idrico, ne consegue che la scelta del/dei punti di prelievo negli invasi deve avvenire possibilmente in condizioni poco disturbate dall'idrodinamica lacustre indotta artificialmente.

Nel periodo coperto dal monitoraggio di sorveglianza vanno applicate le frequenze indicate in precedenza per il monitoraggio dei parametri indicativi degli elementi di qualità fisico-chimica, a meno che le conoscenze tecniche e le perizie degli esperti non giustifichino intervalli più lunghi. Nel monitoraggio operativo la frequenza di monitoraggio deve garantire dati sufficienti a delineare una valutazione attendibile dello stato del pertinente elemento qualitativo. In linea di massima, il monitoraggio è effettuato a intervalli non superiori a quelli

¹ Il campionamento e l'analisi in campo possono comportare dei rischi per gli operatori. Per tali motivi gli operatori che utilizzeranno questi protocolli dovranno essere formati per le attività di campionamento. Questo protocollo non ha lo scopo di definire i problemi sulla sicurezza associati al suo uso. È responsabilità degli Organi preposti all'utilizzo di definire i dispositivi più opportuni di protezione individuale e di individuare le azioni necessarie ad assicurare la sicurezza degli operatori secondo le disposizioni di legge.

Come testi di riferimento è possibile utilizzare le seguenti pubblicazioni: "APAT. Progetto Benchmarking. Linee guida per la valutazione del rischio chimico nei laboratori delle Agenzie Ambientali. Roma, 2006". e "APAT. Progetto Benchmarking. Linee guida per la valutazione del rischio nelle attività territoriali delle Agenzie Ambientali. Roma, 2006."

indicati per il monitoraggio di sorveglianza, a meno che le conoscenze tecniche e le perizie degli esperti non giustifichino intervalli più lunghi.

7.1 Periodo di campionamento

La Direttiva 60/2000/CE stabilisce (Allegato V, Paragrafo 1.3.4) che “Per il monitoraggio sono fissate frequenze che tengono conto della variabilità delle condizioni sia naturali che antropiche. Il momento in cui effettuare il monitoraggio è scelto in modo da minimizzare l’incidenza delle variazioni stagionali sul risultato ed assicurare quindi che quest’ultimo rispecchi i mutamenti intervenuti nel corpo idrico a seguito di cambiamenti dovuti alla pressione antropica. Per conseguire questo obiettivo sono effettuati, se necessario, monitoraggi supplementari in stagioni diverse del medesimo anno.”

Affinché la misura dei parametri chimico-fisici possa assicurare una stima affidabile dello stato del corpo idrico, il campionamento delle acque deve essere condotto congiuntamente a quello dell’elemento biologico maggiormente sensibile ai cambiamenti dovuti alla pressione antropica. Per minimizzare l’incidenza delle variazioni stagionali è necessario raggiungere una buona conoscenza della variabilità naturale legata alla stagionalità. La valutazione di tale variabilità può essere ottenuta solo raccogliendo un numero elevato di campioni.

Per tale motivo i periodi di campionamento per la definizione dello stato chimico-fisico sono individuati sulla base dei criteri per la caratterizzazione della stagionalità delle associazioni fitoplanctoniche.

Questo criterio fa riferimento ad aspetti limnologici e pratici: per i primi, la realizzazione del campionamento chimico-fisico congiuntamente a quello delle associazioni fitoplanctoniche risponde alla necessità di tenere conto delle mutue influenze che legano la componente abiotica con quella biotica; per i secondi, l’ovvia ottimizzazione di tempi, costi e risorse umane.

In ambienti lacustri per i quali non sono disponibili dati pregressi, si consiglia di effettuare dei campionamenti mirati nel periodo di stratificazione, per valutare eventuali condizioni di polimissi che possono determinare modifiche dallo schema generale sopra descritto.

Il campionamento non può comunque prescindere dallo stato fisico-idrologico del lago/invaso, che si riflette non tanto nella frequenza temporale, bensì in quella verticale. Per i laghi: dimittici, monomittici, olomittici e polimittici le procedure di campionamento sono comuni, mentre per quelli oligomittici e meromittici va seguita una procedura che tiene conto della profondità delle stratificazioni (termoclinio e chemoclinio), secondo quanto indicato nel seguito.

7.2 Strategia di campionamento: localizzazione della stazione

Nei **laghi naturali** il campionamento per i parametri chimico-fisici deve essere effettuato nel punto di massima profondità, scelto come rappresentativo delle condizioni medie dell’ambiente. La stazione di campionamento dovrebbe trovarsi in posizione centrale rispetto allo sviluppo della superficie lacustre, in modo da non essere influenzata da fenomeni che si svolgono lungo le fasce litorali. Qualora il punto di massima profondità risultasse troppo vicino alla sponda del lago, privilegiare la scelta di una stazione più centrale.

Negli **invasi** va rispettato il principio di rappresentatività del punto di massima profondità, tenendo comunque conto che questo non deve essere influenzato dalle opere di prelievo e/o di immissione idraulica.

Nel caso in cui il lago/invaso presenti una conformazione tale da determinare la suddivisione in sottobacini con caratteristiche idrologiche, idrodinamiche e trofiche differenti, sarà necessario prevedere una stazione di campionamento per ogni sottobacino individuato.

7.3 Misure effettuate ad ogni campionamento

Ad ogni campionamento, contestualmente alla raccolta del campione di fitoplancton e possibilmente del campionamento del macrobentos, sono effettuate le seguenti misure:

- profondità di scomparsa del disco di secchi
- temperatura, ossigeno disciolto, pH e conducibilità con sonda multiparametrica.

Per ciascuna profondità vanno prelevati i campioni d'acqua rappresentativi di ciascuno strato e sui quali va effettuata l'analisi delle variabili idrochimiche di base indicate nella tabella dell'Allegato V, Paragrafo 1.3.4 della Direttiva 60/2000/CE:

- alcalinità totale
- azoto ammoniacale
- azoto nitrico
- azoto totale
- fosforo
- fosforo totale
- silice

e dei restanti analiti che sono richiesti per la completa definizione dello stato chimico del corpo idrico (sostanze prioritarie, composti chimici connessi con le pressioni rilevate nel bacino idrografico, ecc.). L'esempio di una scheda di campionamento in cui sono definite le informazioni minime da raccogliere è riportata in allegato 1.

7.4 Profondità di campionamento

Per ciascuna stazione individuata nella strategia di campionamento, i campioni sono prelevati a profondità discrete con l'obiettivo di descrivere lo stato chimico di strati diversamente omogenei: epilimnio, metalimnio, ipolimnio e mixolimnio.

Campionamento in presenza di stratificazione termica e chimica

L'identificazione degli strati è condotta con l'ausilio della misura della temperatura (laghi dimittici, monomittici, olomittici e polimittici), con l'utilizzo anche delle concentrazioni di ossigeno disciolto nei laghi oligomittici, e della conducibilità in quelli meromittici. E'consigliabile che le misure siano effettuate utilizzando una sonda multiparametrica con frequenze di registrazione di almeno 1 m fino alla profondità della zona eufotica (fino ad un massimo di 30 m) e con intervalli non superiori a 10 m per la restante parte della colonna. Dalla lettura diretta delle misure effettuate si potrà identificare:

- La struttura termica, da cui identificare l'epilimnio². Il termoclinio viene identificato nel punto in cui la temperatura inizia a variare per più di 1 °C/m. Più delicata, invece,

² Si fa notare che in condizioni di copertura di ghiaccio può verificarsi una stratificazione inversa, ovvero una temperatura più bassa in superficie che negli strati immediatamente al di sotto di essa. Il relativo salto termico non è comunque mai identificato come termoclinio e solitamente tutta la colonna epilimnetica va considerata omogenea dal punto di vista chimico-fisico.

è l'identificazione del limite inferiore dello strato metalimnetico, da cui inizia l'ipolimnio, poiché la curva termica solitamente ha un andamento parabolico con una lenta diminuzione con la profondità. In questi casi ci si può aiutare con la curva dell'ossigeno. Negli ambienti di profondità massima > 50 m in caso di impossibilità di identificare con certezza il metalimnio profondo si può stabilire come limite inferiore la profondità della zona eufotica³. Per i laghi poco profondi (< 5 m) è necessario conoscere la durata del periodo di stratificazione. In alcuni casi, infatti, la stratificazione può essere interrotta precocemente da cambiamenti repentini delle condizioni climatiche (polimissi), con la conseguente difficoltà di identificare i periodi di stratificazione.

- La distribuzione delle concentrazioni di ossigeno sulla colonna. In talune condizioni di incipiente completa circolazione oppure, molto più frequentemente, nei laghi oligomittici, si può osservare una sostanziale omeotermia su tutta la colonna e contemporaneamente variazioni di concentrazione dell'ossigeno molto elevate. In questo caso il campionamento deve tenere conto della curva dell'ossigeno per l'identificazione degli strati omogenei.
- La distribuzione della conducibilità sulla colonna. I laghi meromittici sono caratterizzati sia da una stratificazione termica che da una stratificazione chimica. In questo caso il campionamento deve essere rappresentativo di ciascuno strato.

Effettuata l'individuazione degli strati si procede con l'identificazione delle profondità rappresentative che, in condizioni di stratificazione, possono essere approssimativamente individuate al massimo in 5 strati diversi per i **laghi/invasi fino a 15 m**:

- in superficie (0,5 m);
- a 4/5 dell'epilimnio (ad es. se il termoclinio è a 10 m, il prelievo può essere fatto a 8 m);
- nel centro del metalimnio;
- nell'ipolimnio superiore;
- nell'ipolimnio profondo, ma almeno a 2 m dal fondo.

Nei **laghi poco profondi (< 5 m)** il numero di profondità rappresentative è da ridurre al massimo a 3 in tutte le condizioni di stratificazione termica:

- in superficie (0,5 m);
- nel centro del metalimnio;
- nell'ipolimnio ad almeno a 1 m dal fondo.

Nei **laghi a profondità intermedia compresa tra 5 e 15 m** il numero massimo di profondità rappresentative è 4, in condizioni di piena stratificazione, e precisamente:

- in superficie (0,5 m);
- nel centro del metalimnio;
- nell'ipolimnio superiore (solo in stratificazione);
- nell'ipolimnio profondo ad almeno a 1,5 m dal fondo.

Per i **laghi/invasi più profondi (> 15 m)** è consigliabile differenziare le profondità di campionamento secondo questi criteri:

³ La necessità di determinare la profondità del metalimnio mediante la misurazione della concentrazione dell'ossigeno, piuttosto che la verifica del profilo di conducibilità per i laghi meromittici consigliano l'uso di una sonda multiparametrica che permette l'effettuazione di profili in continuo. Anche per la determinazione del profilo dell'ossigeno per i laghi oligomittici e la verifica della profondità di mescolamento nel periodo di piena circolazione è preferibile l'uso di una sonda per apprezzare la piena circolazione. La migliore soluzione, in questi casi, è quella di sonde dotate di cavo telemetrico per l'osservazione in tempo reale. Anche il calcolo del termoclinio diventa più agevole con tali strumenti.

- a) *laghi/invasi con profondità minima di 15 m e massima ≤ 50 m* è sufficiente il prelievo minimo di 5 campioni alle profondità precedentemente indicate;
- b) *laghi/invasi con profondità massima ≥ 50 m*. Nei laghi con profondità fino a 200 m è consigliabile effettuare il prelievo di un ulteriore campione a metà dell'ipolimnio. Nei laghi più profondi è consigliabile aggiungere un'ulteriore profondità di prelievo tra 200 m ed una profondità di 50 m dal fondo. In entrambi i casi la scelta della profondità va fatta tenendo conto di criteri che privilegino una buona rappresentatività sulla colonna in base alle concentrazioni di ossigeno ed alla conducibilità, anche se non si ricade nelle condizioni descritte nei punti c) e d).
- c) *laghi oligomittici*. In questi casi, tipici di alcuni laghi profondi subalpini, la scelta delle profondità di campionamento dell'ipolimnio deve specificatamente tenere conto delle condizioni di ossigenazione. Tra l'ipolimnio superiore e quello profondo è consigliabile, effettuare il prelievo alla profondità in cui le concentrazioni di ossigeno divengono inferiori ad $1 \text{ mg O}_2 \text{ l}^{-1}$. Nel caso che ciò non succede vale quanto indicato al punto b)
- d) *laghi meromittici*. In questi casi, di netta stratificazione chimica, dal profilo di conducibilità va dapprima individuata la profondità del chemioclinio. Il prelievo dei campioni ipolimnetici segue quindi il criterio della stratificazione termica secondo quanto indicato nei punti a) e b), considerando la profondità del chemioclinio come punto più profondo. Tra il chemioclinio ed il fondo è invece consigliabile il prelievo di non meno di 2 campioni, in modo da descrivere lo stato chimico più superficiale da quello nei pressi dei sedimenti da raccogliere ad almeno 2 m dal fondo.

Campionamento in completa circolazione

Accertata la completa omeotermia attraverso la misura della temperatura (laghi dimittici, monomittici, olomittici e polimittici) e l'assenza di significative variazioni di concentrazione dell'ossigeno disciolto ($>2 \text{ mg O}_2 \text{ l}^{-1}$) su tutta la colonna d'acqua, il prelievo in laghi/invasi con profondità < 50 m può essere effettuato seguendo questi criteri:

- in superficie (0,5 m)
- in prossimità del fondo, ma almeno a 2 m dal fondo
- alla profondità della zona eufotica.

In laghi/invasi con profondità \geq di 50 è consigliabile il prelievo di un ulteriore campione in posizione intermedia tra la profondità della zona eufotica ed il fondo, se la profondità è di 200 m, e di due campioni per quelli più profondi.

7.5 Prelievo di campioni aggiuntivi

A volte può essere importante effettuare dei campionamenti aggiuntivi lungo la colonna, ma più solitamente tra il fondo ed il centro dell'ipolimnio. Tale scelta deve comunque rispondere ad esigenze strettamente connesse ad un miglioramento della descrizione dello stato chimico riconducibili generalmente a situazioni di diversa ossigenazione delle acque.

8. Procedure Analitiche

8.1 Conservazione del campione

I campioni di acqua alle differenti profondità vanno posti in bottiglie di plastica di polietilene o policarbonato. Il campione va conservato al buio ed a 4° C. Il ciclo analitico deve iniziare entro una giornata dal prelievo. Le determinazioni chimico-fisiche di base vanno effettuate entro e non oltre i tempi indicati nei metodi analitici pubblicati dall'APAT & IRSA (2003). Per le sostanze prioritarie e pericolose prioritarie (decisione 2455/2001/CE) si rimanda ai metodi normati per tali sostanze.

9. Qualità del campionamento

Il campionamento delle acque deve tenere conto che la matrice è caratterizzata da una intrinseca variabilità delle caratteristiche di interesse, di tipo spaziale (sulle tre dimensioni) e temporale. Al contempo le modalità con cui un programma e/o un protocollo di campionamento sono applicati possono variare in funzione della strumentazione utilizzata nonché dell'operatore. Tali fattori incidono sulla qualità del risultato analitico finale e la loro conoscenza consente una migliore interpretazione dei risultati stessi. Per tenere per quanto possibile sotto controllo tali fattori è consigliabile:

- seguire rigorosamente le specifiche procedure tecniche ed operative inerenti la definizione della strategia di campionamento (localizzazione delle stazioni di campionamento, stratificazione, scelta della tecnica di campionamento, definizione delle caratteristiche del campione da prelevare);
- prelevare un numero di campioni sufficiente ad effettuare le elaborazioni necessarie (sulla base dello schema di campionamento prescelto) e di volume idoneo a condurre le misure richieste;
- osservare le specifiche procedure operative circa le modalità di conservazione e trasporto dei campioni;
- registrare per ogni campione prelevato le informazioni necessarie ad un suo riconoscimento (tracciabilità) lungo tutto il processo di misura (dal campionamento in campo fino alla analisi strumentale);
- considerare che, per quanto riguarda la precisione del prelievo, occorre considerare il problema della accuratezza dei dispositivi e delle condizioni di campionamento (corda con indicazione dei soli metri, bottiglia che copre ca. 80 cm di strato, deriva del campionatore per venti e/o correnti, ecc.) con quella dello spessore degli strati da cui prelevare i campioni, in particolare nei laghi poco profondi (< 5 m);
- tenere conto che per le sonde multiparametriche esistono dei riferimenti di precisione per alcuni sensori. E' quindi opportuno individuare dei criteri oggettivi per la calibrazione di tutti i parametri, evidenziando anche le condizioni operative per raggiungere le precisioni di riferimento. In questo senso una particolare attenzione va rivolta alla velocità di discesa della sonda in funzione dei tempi di equilibrio e di risposta dei sensori utilizzati. Una velocità di 10 m minuto⁻¹, ad esempio, appare sufficiente, nella maggior parte dei casi, a garantire un adeguato rispetto delle velocità di scambio molecolare dell'ossigeno a livello della membrana dell'elettrodo. E' invece assolutamente sconsigliabile effettuare calate con velocità discontinue.

Fenomeni di contaminazione incrociata dei campioni prelevati sono possibili (ad esempio per l'uso di tamponi per la calibrazione di elettrodi di pH, oppure per la manipolazione di

soluzioni per il funzionamento di sensori ecc.) e possono essere tenuti sotto controllo affiancando al campione primario uno o più campioni di controllo (bianco di campo) da sottoporre alle stesse procedure previste per il campione primario. Il “bianco di campo” può essere costituito da:

- acqua priva di contaminanti, fatta passare attraverso il campionatore (del sistema di pretrattamento, ad esempio la filtrazione) durante le operazioni di campionamento e posta nel contenitore selezionato (effetti del campionatore);
- acqua priva di contaminanti, posta nel contenitore selezionato prima di accedere alla stazione di campionamento (effetti della manipolazione, del trasporto, del contenitore).

Per una stima della ripetibilità dell'operazione di campionamento, almeno una volta a scopo indicativo è opportuno eseguire delle repliche di campionamento per ciascuna stazione selezionata. Su ogni campione replicato andranno eseguite misure in duplicato secondo un disegno bilanciato che consenta di valutare la ripetibilità della misura nelle sue due componenti (analisi e campionamento).

Appendice A

Strumentazione

Bottiglie di profondità: dispositivi per l'acquisizione di campioni a profondità determinate. Sono disponibili diversi modelli che si differenziano in base alle modalità di chiusura:

- *Bottiglia a strappo*. Campionatore che utilizza un meccanismo di chiusura attivato mediante una improvvisa variazione di tensione, trasmessa manualmente, del cavo a cui è fissata.
- *Bottiglie di van Dorn e di Niskin*. Campionatore il cui meccanismo di chiusura è azionato da un messaggero che scorre lungo il cavo.

Sonda multiparametrica

Strumento multifunzione che consente l'acquisizione contemporanea di più parametri quali: profondità (pressione), temperatura, pH, conducibilità, concentrazione e saturazione dell'ossigeno, concentrazione della clorofilla.

Esistono diverse tipologie di questi strumenti. Le più semplici sono dotate di sensori con cavi di lunghezza limitata e possono essere immerse nelle bottiglie di profondità⁴. Altre posseggono cavi più lunghi e vengono immerse direttamente nel corpo idrico: queste ultime sono dotate di memorie per l'archiviazione dei dati o sono interfacciabili con un notebook.

Le sonde oceanografiche sono gli strumenti più versatili e che consentono di raccogliere il maggior numero di informazioni. Sono dotate di sensori di temperatura, ossigeno, conducibilità, pH e pressione. Possono inoltre essere dotate di sensori per il potenziale redox e per la misura della clorofilla fluorometrica⁵, della radiazione PHAR, di sensori turbidimetrici ecc. Il grande vantaggio delle sonde oceanografiche è legato alla possibilità di effettuare dei profili in continuo lungo la colonna d'acqua e, con alcuni modelli, di osservare l'acquisizione dei dati in tempo reale. Questi strumenti richiedono una manutenzione molto accurata, la taratura prima di ogni campionamento e di uno specifico verricello dotato di contatto rotante per l'effettuazione dei profili in ambienti con profondità superiori a 25 m.

La qualità delle prestazioni riguarda l'accuratezza e la risoluzione dei sensori, nonché la frequenza di campionamento dell'elettronica strumentale. Rispetto alla scelta del sensore della clorofilla è utile riferirsi a quelle strutture che hanno già utilizzato le differenti tipologie presenti sul mercato.

La norma EN 25814 del 1992 stabilisce per l'ossigeno il limite di rilevabilità (0-35 °C) di 0,0 mg/l, ed un'accuratezza per ossigeno e temperatura di 0,1 °C; e 0,1 mg/l, rispettivamente per i due sensori.

Disco di secchi

Disco bianco metallico di 30 cm di diametro utilizzato per valutare la trasparenza di un corpo d'acqua in base alla sua visibilità in profondità. Il disco viene calato fissato ad un cavo metrato ogni 0,5 m fino a 10 m, ed ogni metro oltre i 10 m.

⁴ Va sottolineato che gli elettrodi del pH rilasciano ioni (cloruro e potassio), i tamponi rilasciano nutrienti (fosforo reattivo) e gli elettrodi di ossigeno altre specie chimiche in grado di alterare significativamente i campioni da analizzare. E' sempre consigliabile, quindi, non inviare all'analisi campioni di acqua utilizzata per misure con strumenti in tempo reale.

⁵ Occorre precisare che le misure di clorofilla fluorometrica non sono sostitutive delle analisi spettrofotometriche.

Bibliografia

- APAT & IRSA. 2003. Metodi di campionamento. In: Metodi analitici per le acque. APAT Manuali e Linee Guida 29/2003. Metodo 1030. Vol. 1: 75-85.
- APAT. 2007a. Protocollo per il campionamento e l'analisi di fitoplancton in ambiente lacustre. Bozza: 17 pp.
- APAT. 2007b. Protocollo di campionamento e analisi di macrofite acquatiche in ambiente lacustre. Bozza: 12 pp.

Allegato 1

Esempio di informazioni minime da inserire in una scheda di campionamento

Lago/invaso (toponimo)	Stazione (toponimo o sigla)	Coordinate geografiche della stazione (UTM32-WGS84)	
<input style="width: 90%;" type="text"/>	<input style="width: 90%;" type="text"/>	Nord	<input style="width: 90%;" type="text"/>
		Est	<input style="width: 90%;" type="text"/>
Data:	<input style="width: 90%;" type="text"/>	Ora:	<input style="width: 90%;" type="text"/>
Meteo:	<input style="width: 90%;" type="text"/>	Disco di Secchi:	<input style="width: 90%;" type="text"/> m
Operatore:	<input style="width: 90%;" type="text"/>	Strumento prelievo:	<input style="width: 90%;" type="text"/>

Profondità (m) ⁶	Temperatura (°C)	Ossigeno (mg L ⁻¹)	Profondità (m) ⁷	Temperatura (°C)	Ossigeno (mg L ⁻¹)
0					
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					

⁶ Profondità obbligatorie per la determinazione del profilo di temperatura.

⁷ Altre profondità individuate secondo quanto indicato nel metodo di campionamento.

