

biologia ambientale

2

marzo
aprile
1997

BOLLETTINO C.I.S.B.A.

Spediz. abbon. post. comma 27 art. 2 L. 549/95, filiale RE. Tassa pagata - Taxe perçue

Bimestrale, anno XI, n. 2, marzo-aprile 1997.



**Numero speciale: Atti del Corso di formazione
Criteri e metodologie per lo studio ed il controllo
delle alghe in acque destinate alla potabilizzazione.**
AGAC, Reggio Emilia, 2-5 giugno 1997

SOMMARIO

<i>EDITORIALE</i>	1
Dinamica stagionale delle comunità algali e analisi microscopica del fitoplancton <i>di G. Morabito</i>	3
Fitoplancton: cenni di sistematica, identificazione e conteggio <i>di G. Paris</i>	19
Rassegna delle tecnologie applicate alla rimozione delle tossine algali <i>di N. Fontani e G. Spigoni</i>	30
Esperienze sul controllo e la rimozione delle alghe da acque destinate alla potabilizzazione <i>di O. Conio e F. Palumbo</i>	36
Esperienze sul controllo e la rimozione delle alghe da acque destinate alla potabilizzazione <i>di L. Meucci e D. Giacosa</i>	42



biologia ambientale

Bollettino C.I.S.B.A. n. 2/1997

Autorizzazione del Tribunale di
Reggio Emilia n. 837 del 14 maggio 1993

proprietario

Paola Manzini

(Presidente del Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale)

direttore responsabile

Rossella Azzoni

REDAZIONE

Rossella Azzoni	responsabile di redazione
Giuseppe Sansoni	responsabile grafico
Roberto Spaggiari	responsabile di segreteria

Hanno collaborato a questo numero:

Oswaldo Conio
Nadia Fontani
Donatella Giacosa
Lorenza Meucci
Giuseppe Morabito
Franca Palumbo
Gianmarco Paris
Gianluigi Spigoni

Numero chiuso in redazione il 6/7/1997

Il **C.I.S.B.A.** - Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale
si propone di:

- divenire un punto di riferimento nazionale per la formazione e l'informazione sui temi di biologia ambientale, fornendo agli operatori pubblici uno strumento di documentazione, di aggiornamento e di collegamento con interlocutori qualificati
- favorire il collegamento fra il mondo della ricerca e quello applicativo, promuovendo i rapporti tecnico-scientifici con i Ministeri, il CNR, l'Università ed altri organismi pubblici e privati interessati allo studio ed alla gestione dell'ambiente
- orientare le linee di ricerca degli Istituti Scientifici del Paese e la didattica universitaria, facendo della biologia ambientale un tema di interesse nazionale
- favorire il recepimento dei principi e dei metodi della sorveglianza ecologica nelle normative regionali e nazionale concernenti la tutela ambientale.

Per iscriversi al **C.I.S.B.A.** o per informazioni scrivere al:

*Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale,
via Amendola 2, 42100 Reggio Emilia*
o telefonare al Segretario: *Roberto Spaggiari*
tel. 0522/295460 - 0338/6252618; fax 0522/295446

Quote annuali di iscrizione al Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale: socio ordinario: £ 70.000; socio collaboratore £ 50.000; socio sostenitore £ 600.000.
conto corrente postale n. 10833424 intestato a: CISBA, RE

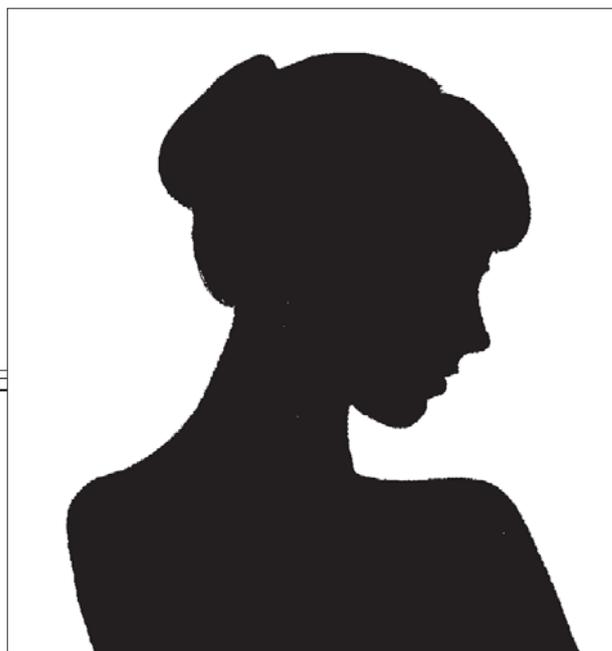
I soci ricevono il bollettino *Biologia Ambientale* e vengono tempestivamente informati sui corsi di formazione e sulle altre iniziative del **C.I.S.B.A.**

Gli articoli originali e altri contributi vanno inviati alla Redazione:
Rossella Azzoni Gastaldi, via Cola di Rienzo, 26 - 20144 Milano.

I dattiloscritti, compreso il materiale illustrativo, saranno sottoposti a revisori per l'approvazione e non verranno restituiti, salvo specifica richiesta dell'Autore all'atto dell'invio del materiale.

Le opinioni espresse dagli Autori negli articoli firmati non rispecchiano necessariamente le posizioni del **C.I.S.B.A.**

EDITORIALE



os'è il pudore?

Spesso abbiamo la sensazione che non esista più: assistiamo continuamente alle esibizioni di corpi nudi, il linguaggio è divenuto molto libero e pervaso di mancanza di discrezione.

Eppure ci sarebbe un estremo bisogno di pudore.

Spesso si sostiene che il pudore sia un fatto relativo. Le donne delle tribù africane portano da sempre il seno scoperto, ma questo per secoli è stato considerato tabù, proibito in Occidente e nel mondo civilizzato. Da qualche anno sulle nostre spiagge è consentito il topless, ma in passato le donne che osavano denudarsi il petto in pubblico finivano in prigione.

Qualcuno sostiene che il pudore sia un'espressione millenaria fatta di regole e riflessi ereditati, che rappresenta il patrimonio ancestrale di una società.

È un vecchio dibattito se il pudore esiste in sé, come sentimento e difesa di se stessi, o se è la reazione a un'aggressione. Molti codici legali riconoscono che la nudità di un corpo non ha in sé e per sé nulla che possa oltrepassare un pudore normale; diventa impudica se accompagnata a gesti lascivi e osceni.

Il pudore è cosa diversa dalla decenza. Questa stabilisce dei limiti e dei criteri secondo il costume sociale, in modo che non si possano travalicare certi comportamenti.

Il pudore è invece l'espressione di una sensibilità individuale. Si può rimanere nei limiti fissati dal costume sociale per la decenza ma ugualmente ferire il pudore con una parola, con un gesto, con un atteggiamento.

La decenza è un fatto sociale, il pudore è qualcosa di squisitamente individuale, un sentimento.

Il pudore è timido: chi lo aggredisce provoca una ferita, spinge alla perdita di se stessi, viola l'individuo. La legge colpisce ciò che oltraggia il pudore ma in realtà la ferita è ben più intima, personale e segreta.

Certo -nel nostro mondo- i limiti del pudore sono quanto mai fluttuanti, instabilissimi.

A volte i difensori della morale cercano di proclamare una concezione organizzata del pudore, ma questo è pericoloso. È sempre meglio lasciare agli individui la responsabilità dei loro comportamenti, anche se c'è il rischio di far passare per culto della libertà il non-pudore.

È stato osservato acutamente da Jean Louis Schlegel, studioso francese, che Dio interviene spesso nell'Antico Testamento, ma non si mostra mai in faccia: espressione e limite, simbolo del pudore spirituale. Il pudore vuol dunque essere ritegno, discrezione, la filosofia di un passo sempre indietro.

La nostra è un'epoca d'esibizione, spesso spettacolare, persino in quel che riguarda i sentimenti religiosi. Ma l'esperienza vera di Dio, anche nel passato, era sempre legata al dono del silenzio, alla preziosità di un'esperienza che non ha bisogno di essere "detta" per essere "vissuta".

La grandezza assoluta del pudore è di essere una virtù silenziosa. Il rumore e il furore, che sono i connotati chiassosi della civiltà contemporanea, e l'eccesso di esibizionismo sembrano rispondere alla "assenza di Dio" nel nostro tempo. E le offese al pudore testimoniano vistosamente questa dolorosa assenza.

Corso di Formazione Criteri e metodologie per lo studio ed il controllo delle alghe in acque destinate alla potabilizzazione.
AGAC - Reggio Emilia, 2-5 giugno 1997.

Dinamica stagionale delle comunità algali e analisi microscopica del fitoplancton

Giuseppe Morabito¹

1. Dinamica stagionale delle comunità algali

- 1.1 RELAZIONI CON LE VARIAZIONI DELL'AMBIENTE FISICO
- 1.2. RELAZIONI CON LE MODIFICAZIONI DELL'AMBIENTE CHIMICO
- 1.3. RAPPORTI CON ALTRI LIVELLI TROFICI
- 1.4. LA SUCCESSIONE STAGIONALE
- 1.5. PRINCIPALI ASSOCIAZIONI FITOPLANCTONICHE

2. Analisi microscopica di un campione di fitoplancton

- 2.1. GENERALITÀ
- 2.2. PRECISIONE DEL CONTEGGIO
- 2.3. CONTEGGIO PER TRANSETTI
- 2.4. CONTEGGIO PER CAMPI CASUALI
- 2.5. CONTEGGIO SULL'INTERA CAMERA
- 2.6. CONTEGGIO PER PRESENZA - ASSENZA
- 2.7. CONTEGGIO DI ORGANISMI COLONIALI
- 2.8. DETERMINAZIONE DEI VALORI DI DENSITÀ E BIOVOLUME ALGALI

3. Ricerca e determinazione dei principali pigmenti algali

4. Introduzione ai *taxa* algali tossici

5. Indicazioni bibliografiche

Appendice A

METODO DI ANALISI SPETTROFOTOMETRICA DELLA CLOROFILLA *a*
(DA MANUALE UNICHIM N.168 - PARTE II, 1995)

¹ C.N.R. - Istituto Italiano di Idrobiologia
L.go V. Tonolli 50/52 - 28048 Pellanza (VB)
Tel. 0323-556571; Fax 0323-556513;
E-mail ospiii@ccrs1.imgc.to.cnr.it

1. Dinamica stagionale delle comunità algali

La Figura 1 descrive in un unico schema le relazioni che legano lo svolgimento della dinamica di una comunità algale, intesa in senso generale, ai principali fattori fisici, chimici e biotici con cui le alghe interagiscono in un ecosistema lacustre. Nei paragrafi successivi saranno brevemente descritti gli effetti di queste interazioni e la risposta delle alghe, dalla quale dipende il risultato del bilancio tra tassi di crescita e tassi di perdita nell'arco della successione stagionale.

Da notare la posizione centrale occupata dal fattore "dimensioni cellulari": in effetti queste svolgono un ruolo chiave nel condizionare lo svolgimento dell'intero metabolismo di una cellula algale (produzione, respirazione, scambi con l'esterno, efficienza fotosintetica), nonché la sua possibilità di contrastare, con maggiore o minore successo, fattori come la predazione o la sedimentazione.

1.1. RELAZIONI CON LE VARIAZIONI DELL'AMBIENTE FISICO

Le variazioni dell'ambiente fisico sono considerate determinanti nel controllare la dinamica di una comunità algale. In particolare la profondità della zona eufotica (z_{eu}) e quella di rimescolamento delle acque (z_m) influiscono pesantemente sull'attività fotosintetica (Fig.1): è stata individuata una relazione di proporzionalità inversa tra il rapporto z_{eu}/z_m ed il rapporto P/R. Infatti il regime circolatorio delle acque superficiali condiziona la permanenza delle alghe nella zona eufotica e la loro possibilità di sottrarsi ad una esposizione prolungata alla radiazione luminosa, evitando di essere fotoinibite con conseguente riduzione dell'efficienza di produzione. E' noto come i diversi gruppi siano diversamente adattati alle modificazioni della stabilità della colonna d'acqua: le diatomee hanno il rapporto P/R più elevato, le dinoflagellate il più basso, le cloroficee sono intermedie fra i due gruppi. La

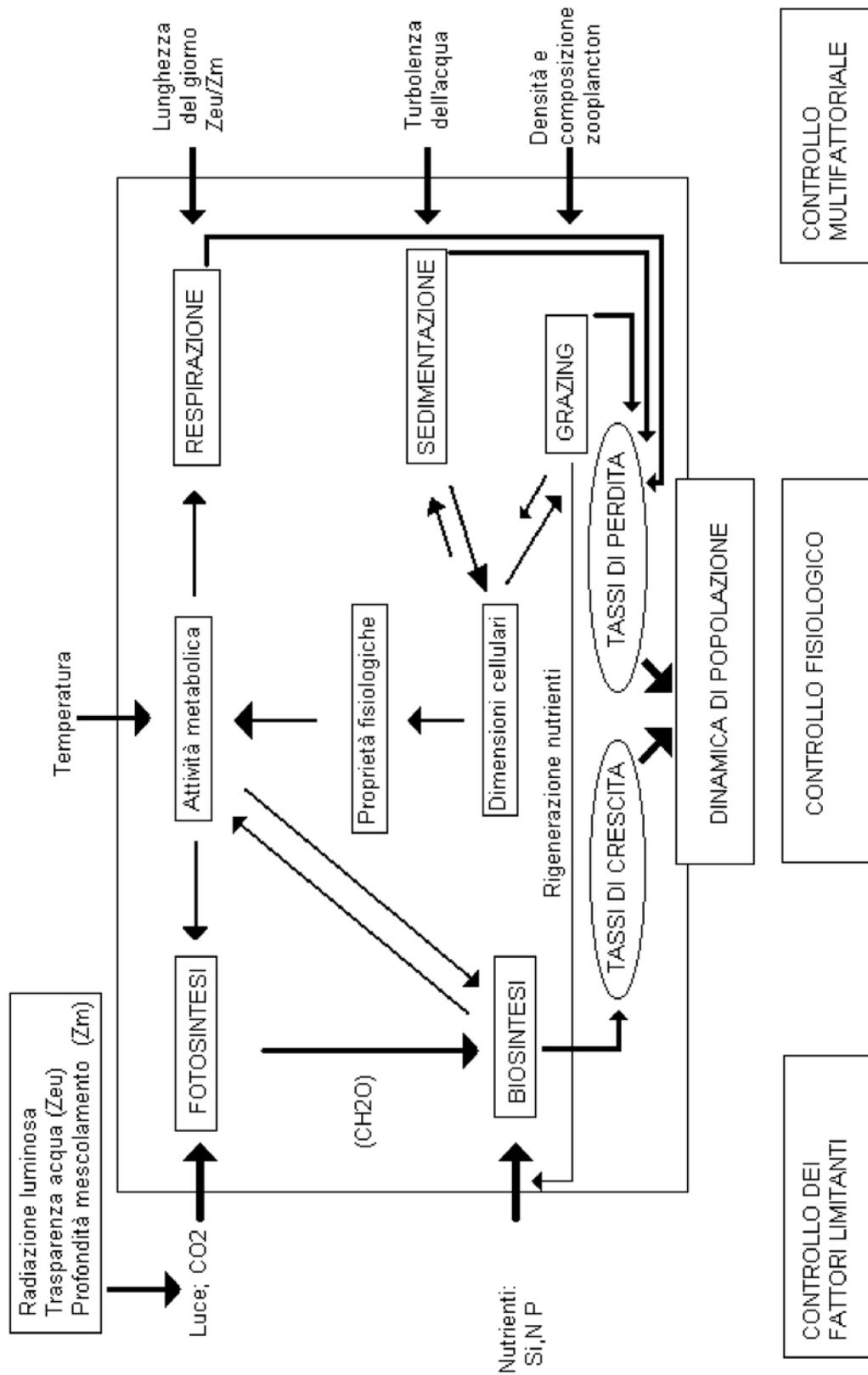


Fig. 1. Fattori di controllo della dinamica della comunità fitoplanctonica e loro interazioni.

sequenza della riduzione dei rapporti P/R dalle diatomee ai dinoflagellati rispecchia la progressione stagionale della ridotta profondità di mescolamento e porta ad una spiegazione fisiologica della successione stagionale delle specie.

Il fitoplancton in crescita attiva nelle acque superficiali può rispondere ai cambiamenti nell'intensità della radiazione incidente (I_0) e nella profondità di mescolamento (z_m) con adattamenti fisiologici, per esempio variando il contenuto cellulare dei pigmenti fotosintetici.

D'altra parte i limiti di adattamento delle varie specie sono alquanto ristretti, cosicché forti oscillazioni in I_0 e z_m su scala di giorni portano a cambiamenti nella composizione specifica della comunità, piuttosto che ad adattamenti fisiologici delle specie presenti.

1.2. RELAZIONI CON LE MODIFICAZIONI DELL'AMBIENTE CHIMICO

Per quanto le modificazioni dell'ambiente fisico sembrano svolgere il ruolo fondamentale nel guidare la successione stagionale delle specie algali, non bisogna tuttavia trascurare l'interazione delle alghe con altri fattori biotici o abiotici, alcuni dei quali possono assumere un ruolo di primo piano in certe condizioni ed in certi periodi dell'anno. Tra questi, la disponibilità di nutrienti, in particolare di quelli presenti in quantità limitante, è probabilmente il fattore che più condiziona la crescita algale, dopo luce e temperatura (Fig.1).

A partire dai primi anni '70 numerosi sono stati gli studi volti ad individuare i nutrienti maggiormente limitanti per lo sviluppo delle alghe, soprattutto in relazione alle ricerche finalizzate al recupero degli ambienti eutrofizzati. Anche se è emerso chiaramente che fattori come la silice, l'azoto e soprattutto il fosforo controllano fortemente la crescita algale, il significato del concetto di fattore limitante in ambienti naturali va rivisto: infatti la limitazione da nutrienti in natura è un fenomeno estremamente raro. Ciò non significa che le singole specie non siano soggette a tale limitazione, ma che in ogni situazione la comunità fitoplanctonica modifica la sua composizione specifica per ovviare ad eventuali limitazioni. Alcuni esperimenti hanno dimostrato, confrontando il tasso di crescita, la composizione chimica e i rapporti C:P ed N:P di popolazioni cresciute in coltura (dunque in condizioni ottimali e senza essere soggette a limitazione da nutrienti) ed in condizioni naturali, come in natura le alghe crescano sempre ad un tasso di crescita prossimo a quello massimo misurabile in condizioni di laboratorio.

Dunque, se è difficile che le alghe siano limitate dalla disponibilità di nutrienti, tuttavia i tempi e i modi in cui i nutrienti si rendono disponibili possono essere importanti fattori di controllo sulla loro crescita. Specie diverse hanno diverse periodicità giornaliere nell'assimilare i

nutrienti e possono quindi utilizzare lo stesso flusso di nutrienti (dipendente dalla disponibilità degli stessi nel corpo d'acqua, da ingressi dall'esterno e dalla rigenerazione in loco) in tempi diversi senza entrare in competizione. Inoltre la frequenza e l'abbondanza con cui i nutrienti sono messi a disposizione delle alghe possono avere come effetto un cambiamento della composizione specifica di una comunità. Da esperimenti in coltura ed in condizioni naturali è emerso come aggiunte frequenti di piccole quantità di nutrienti favoriscano le alghe di piccole dimensioni, mentre aggiunte abbondanti e meno frequenti siano più favorevoli per alghe di taglia maggiore, che hanno maggiori possibilità di accumulo.

1.3. RAPPORTI CON ALTRI LIVELLI TROFICI

La disponibilità di nutrienti per le alghe è spesso legata all'attività di organismi appartenenti ad altri livelli trofici. Il ciclo dei nutrienti nella colonna d'acqua costituisce, per esempio, un legame importante tra fitoplancton e zooplancton: infatti, soprattutto nelle acque oligotrofe, ma anche nell'epilimnio estivo di quelle eutrofe, i nutrienti rigenerati dallo zooplancton rappresentano una fonte di sostentamento di particolare importanza per le alghe (Fig.1).

D'altro canto lo zooplancton può influire negativamente sullo sviluppo algale (Fig.1) attraverso la predazione (*grazing*), di cui risentono maggiormente le alghe di minori dimensioni, che di solito sono quelle con i più alti tassi di crescita e di assimilazione. La riduzione della biomassa algale causata dal *grazing* può indurre una minore richiesta di nutrienti, col risultato di aumentarne la disponibilità per le alghe meno edibili, altrimenti sfavorete dai loro bassi tassi di assimilazione.

È quindi probabile che gli effetti contrastanti dello zooplancton sul fitoplancton (rigenerazione a favore della crescita algale e *grazing* a sfavore) agiscano in modo da avvantaggiare certe specie algali e svantaggiarne altre.

Accanto al controllo *top-down* esercitato dallo zooplancton sulle alghe, esiste anche una efficiente azione di controllo *bottom-up*, esercitata dai batteri, i quali possono entrare in competizione con le alghe per i nutrienti, in particolare per il fosforo. Il rapporto tra alghe e batteri è peraltro molto complesso. In varie occasioni si osserva una sorta di mutualismo tra i due gruppi di organismi: i batteri mineralizzano il fosforo per le alghe e queste producono carbonio per la crescita batterica. Lo spostamento da una situazione di competizione ad una di mutualismo sembra essere legato alle disponibilità di carbonio e di fosforo (Fig.2). Quando il rapporto C:P è molto elevato la crescita batterica è limitata dal fosforo e si instaura la competizione con le alghe per questo elemento. Se invece questo rapporto è più basso, al punto che sia C che P

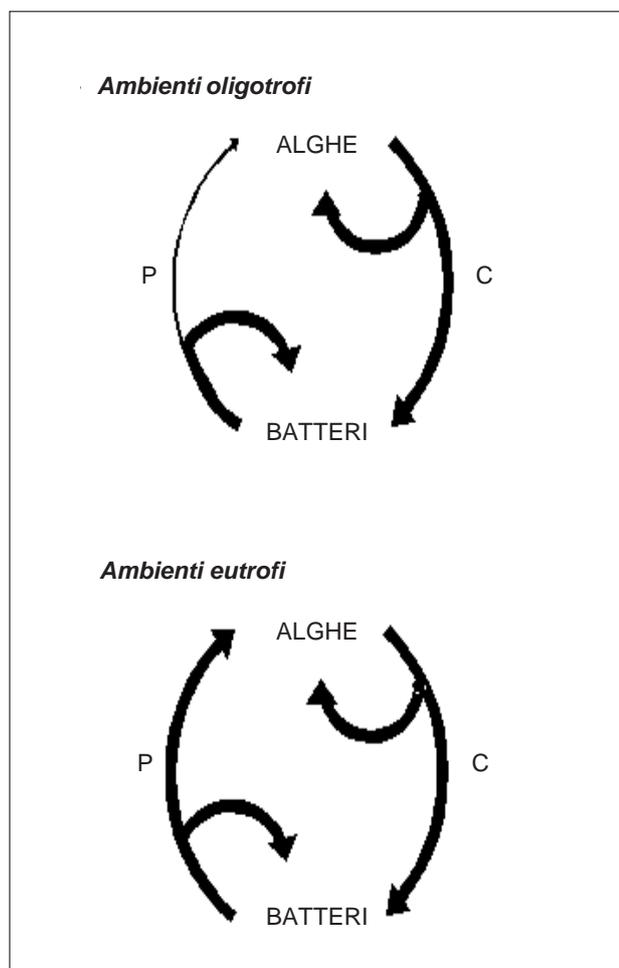


Fig. 2. Competizione e mutualismo tra alghe e batteri in ambienti a diverso grado di trofia.

divengono fattori limitanti per la crescita batterica, la competizione si riduce (l'assimilazione di fosforo da parte dei batteri richiede carbonio come fonte energetica) e si tende verso una forma di cooperazione.

Poiché il rapporto C:P è spesso condizionato dallo stato trofico, è evidente come quest'ultimo influenzi anche la natura del rapporto tra alghe e batteri. In ambienti oligotrofici la disponibilità di fosforo può essere un fattore limitante per entrambi: questa situazione innesca di solito fenomeni di competizione che vedono prevalere i batteri. In ambienti eutrofici, invece, il rapporto C:P si abbassa, riducendo il vantaggio dei batteri, che diventano dipendenti dalle alghe per il rifornimento di carbonio: la competizione lascia così il posto al mutualismo.

1.4. LA SUCCESSIONE STAGIONALE

Una comunità fitoplanctonica è dunque controllata da numerosi fattori, le fluttuazioni dei quali ne modellano la

struttura, creando, in ogni momento dell'anno, condizioni di vita favorevoli ad alcune specie e sfavorevoli ad altre. Secondo alcuni Autori questa sostituzione di specie segue un cammino successionale quasi obbligato. Nella comunità fitoplanctonica potrebbe esistere una sorta di riserva, costituita da quella specie che sono in grado di persistere attraverso le modificazioni delle condizioni ambientali. Tali specie, molto rare durante i periodi per loro non ottimali, potrebbero essere paragonate agli anelli di una catena che lega le varie fasi della successione fitoplanctonica, in modo che la risposta ai cambiamenti ambientali non sarà casuale, ma sarà vincolata in una certa direzione dalla natura delle specie presenti.

Nei modelli classici di successione fitoplanctonica è possibile individuare una "sequenza principale", che si svolge nel corso delle stagioni, partendo da specie a strategia *r*, tipiche del periodo circolatorio, caratterizzato da condizioni ambientali instabili, per andare verso la prevalenza di specie a strategia *K*, tipiche di un periodo in cui la colonna d'acqua è più stabile.

Un esempio di successione tipicamente osservata nei grandi laghi subalpini italiani è quella descritta nello schema sotto riportato. Sulla base di questo schema possiamo dividere la successione fitoplanctonica in cinque periodi, ognuno caratterizzato dalla predominanza di precisi fattori di controllo, cui corrisponde una altrettanto precisa risposta della comunità algale:

1. Periodo Marzo-Maggio: rappresenta la fase iniziale della successione coincidente, nei laghi subalpini, con la circolazione primaverile delle acque. L'ambiente è fortemente instabile e le alghe sono trascinate spesso al di sotto della zona eufotica, sperimentando quindi condizioni di elevata variabilità per quanto riguarda l'intensità della radiazione luminosa. La circolazione, inoltre, rifornisce di nutrienti le acque superficiali. Le alghe meglio adattate a vivere in queste condizioni sono le diatomee: infatti esse sfruttano la circolazione per mantenersi a galla (in acque ferme tenderebbero a sedimentare dato il loro peso), sono in grado di crescere bene anche a basse radiazioni luminose ed hanno elevati tassi di crescita, risultando perciò avvantaggiate su altre alghe a crescita più lenta.

2. Periodo Maggio-Giugno: la colonna d'acqua comincia a stratificarsi e quindi si rendono necessari meccanismi di galleggiamento per evitare la sedimentazione: in queste condizioni viene meno il vantaggio delle diatomee, che lasciano il posto ad alghe coloniali o flagellate (cianofitee, clorofitee o peridinee), che spesso sono anche di grandi dimensioni. Ciò conferisce loro due vantaggi: da un lato sono in grado di accumulare i nutrienti, che ormai scarseggiano nella zona eufotica, in quanto il rifornimento dalle acque profonde è bloccato dalla stratificazione

termica, dall'altro sono meno edibili delle diatomee e quindi meno sensibili alla predazione da parte dello zooplancton, che alla fine della primavera diventa un fattore di controllo decisivo, contribuendo al forte declino della popolazione di diatomee.

3. Periodo Luglio-Ottobre: è il periodo di piena stratificazione, durante il quale dominano solitamente alghe in grado di contrastare le perdite per sedimentazione, adottando sistemi di galleggiamento, come i flagelli (le peridinee) oppure l'aumento di superficie ottenuto tramite la formazione di colonie (cianofitiche o clorofitiche), che possono anche essere immerse in una matrice gelatinosa che ne riduce il peso specifico. Nei mesi estivi le condizioni dell'ambiente fisico rappresentano ancora un fattore di controllo importante, tuttavia anche la scarsità di nutrienti gioca un ruolo chiave: le alghe di questo periodo sono infatti le tipiche specie a strategia *K*, caratterizzate da bassi tassi di crescita, ma abili a sfruttare nel modo migliore i flussi di nutrienti che occasionalmente si rendono disponibili.

4. Periodo Ottobre-Novembre: il raffreddamento delle acque determina l'inizio di una nuova fase di circolazione, con condizioni simili a quelle del periodo primaverile. Il rimescolamento ed un nuovo flusso di nutrienti possono favorire un secondo sviluppo di diatomee, che tuttavia possono essere associate con altre alghe, come le criptofitiche, le crisofitiche o anche cianofitiche che prediligono acque fredde, come *Oscillatoria* spp. La temperatura sempre più fredda e la radiazione sempre più bassa impediscono peraltro alla comunità algale di raggiungere valori di densità elevati.

5. Periodo Novembre-Marzo: le acque sono completamente rimescolate, ma la temperatura rigida e la radiazione solare molto bassa rappresentano dei forti ostacoli allo sviluppo del fitoplancton. In questi mesi la densità algale è molto scarsa e non è raro che la comunità sia dominata da specie, solitamente appartenenti alle criptofitiche o alle crisofitiche, in grado di nutrirsi anche per via eterotrofa.

All'interno di questo schema generale la composizione specifica della comunità può variare, essenzialmente in relazione allo stato trofico del bacino lacustre, dando origine ad associazioni fitoplanctoniche differenti.

1.5. PRINCIPALI ASSOCIAZIONI FITOPLANCTONICHE

I testi classici di limnologia individuano un certo numero di associazioni fitoplanctoniche, variabili a seconda delle preferenze trofiche delle specie dominanti e, quindi, a seconda dello stato dei diversi ambienti lacustri.

Le più tipiche sono le seguenti:

1) *Plancton oligotrofico a desmidiacee*

Dominano *Staurodesmus* e *Staurastrum*, associate con

altre desmidiacee. Tra le clorofitiche si trovano *Sphaerocystis schroeteri* e *Gloeocystis* sp. Associazione tipica di acque molto povere di nutrienti (laghi alpini).

2) *Plancton oligotrofo a diatomee*

In Europa il genere caratteristico è *Cyclotella* sp. Le specie associate possono variare molto: *Fragilaria crotonensis*, *Rhizosolenia eriensis*, *Synedra* sp. Oppure si trovano associati *Dynobryon divergens*, *Dynobryon bavarium* e *Melosira distans*. Nei laghi oligotrofici del Nord America i generi dominanti sono *Asterionella*, *Tabellaria* e *Melosira*, spesso associate a *Dynobryon*.

3) *Plancton a crisofitiche*

L'associazione a crisofitiche si ritrova sia in laghi oligotrofici sia in laghi a grado di trofia più alto nei periodi in cui i nutrienti sono esauriti. Le crisofitiche sono in generale scarsamente esigenti riguardo al fosforo. Le specie più tipiche appartengono ai generi *Dynobryon*, *Uroglena*, *Mallomonas*, *Synura*.

4) *Plancton oligotrofico a clorococcali*

Alcuni grandi laghi poco produttivi vedono la prevalenza di *Oocystis* sp. nel plancton.

5) *Plancton oligotrofico a dinoflagellati*

Associazione in cui dominano *Peridinium* (*incospicuum* e *willei*) e *Ceratium hirundinella*. Tipica di alcuni laghi finlandesi e del Nord Europa.

6) *Plancton meso- o eutrofico a dinoflagellati*

Associazioni studiate in laghi della Finlandia, in cui *P.willei* era sostituita da altre specie di *Peridinium* (*bipes*, *cinctum*). *Ceratium* e *Gymnodinium* erano anch'essi presenti.

7) *Plancton eutrofo a diatomee*

I laghi altamente produttivi possono essere dominati da *Asterionella* sp., *Fragilaria crotonensis*, *Synedra* spp., *Stephanodiscus* spp. e *Melosira* spp. Molti di questi generi sono comuni anche in acque oligotrofe. Per esempio *Asterionella* è organismo tipico dei laghi oligotrofici (Canada), mentre altrove (Europa e Nord America) studi paleolimnologici hanno rivelato il suo aumento in seguito all'aumentato impatto delle attività umane sul bacino.

8) *Plancton meso- o eutrofico a desmidiacee*

Poche specie di desmidiacee (*Staurastrum gracile*, *S.pingue*, *S.planctonicum*) e una o due specie di *Cosmarium* (*C. bioculatum*) possono essere dominanti in laghi contenenti concentrazioni di carbonati abbastanza elevate. Talora *Cosmarium* è stato ritrovato associato anche a

cianobatteri.

9) *Plancton eutrofico a clorococchi*

I generi tipici sono *Pediastrum* e *Scenedesmus*, ma anche *Actinastrum*, *Ankistrodesmus*, *Crucigenia*, *Dictyosphaerium* e *Tetraedron* possono essere abbondanti in acque eutrofe, spesso in laghi piuttosto piccoli.

10) *Plancton a cianobatteri*

In molte località temperate, nel periodo estivo, laghi ad elevata trofia sono caratterizzati da fioriture di *Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Anabaena* o *Lyngbya* sp. Alcune specie di *Oscillatoria* (*O. rubescens* in particolare), vivono bene in acque fredde e durante l'estate si stratificano al margine superiore dell'ipolimnio e possono dar luogo a fioriture nei mesi del tardo autunno o inizio inverno. Una fioritura può essere vista come una situazione in cui si realizza un equilibrio monospecifico, favorito dal perdurare di condizioni di elevata temperatura ed elevato apporto di nutrienti, in corpi d'acqua termicamente molto stabili.

11) *Plancton ad euglenoficee*

Fioriture di *Euglena* possono verificarsi in laghi molto piccoli e ricchi di sostanza organica. In laghi piccoli meno inquinati possono essere dominanti *Trachelomonas volvocina* e *Lepocinclis fusiformis*.

2. Analisi microscopica di un campione di fitoplancton

Va premesso che in questa sezione si farà sempre riferimento a campioni preparati facendo sedimentare un opportuno volume in camere di sedimentazione realizzate per l'uso con il microscopio invertito.

2.1. GENERALITÀ

Un campione algale può essere esaminato ad ingrandimenti differenti. In generale 400 ingrandimenti sono sufficienti per contare organismi compresi in un ampio intervallo dimensionale. Per le cellule di grandi dimensioni è possibile, peraltro, utilizzare un ingrandimento minore, per esempio 250x, mentre per risolvere eventuali problemi di identificazione può essere utile disporre di obiettivi ad immersione ad elevato ingrandimento (per es. 1000x). Il volume di campione da preparare per il conteggio varia in funzione dell'abbondanza della popolazione nell'ambiente studiato. Nella maggior parte dei casi un volume di 10 ml è adatto per concentrare una quantità di organismi idonea al conteggio.

Tutti gli individui osservati nel campo oculare vanno conteggiati, eccetto le cellule morte. La distinzione tra cellule vive e morte è talvolta difficile: si possono valutare

le condizioni generali della cellula (se è intatta o meno, se sono visibili organuli all'interno o se la cellula appare vuota) e la sua pigmentazione. Di solito l'uso di un fissativo che colora l'interno della cellula aiuta a fare questa distinzione.

E' necessario fare attenzione che gli organismi situati a cavallo tra un campo oculare e l'altro non siano conteggiati due volte.

Se si incontrano degli organismi sconosciuti è più pratico procedere alla loro identificazione al termine del conteggio, dopo essersi annotati la posizione dell'alga da identificare prendendo a riferimento le coordinate degli assi x ed y lungo i quali si muove il tavolino traslatore.

Spesso capita di non riuscire ad identificare un organismo: in questo caso è comunque buona prassi contare ugualmente gli individui trovati e, se possibile, fare qualche disegno della cellula o qualche fotografia, che potranno servire per una eventuale identificazione successiva.

2.2. PRECISIONE DEL CONTEGGIO

Il prelievo di un campione d'acqua da un ambiente naturale di solito molto eterogeneo ha associato un errore che può essere più o meno elevato. In seguito, ogni passaggio compiuto per la preparazione di una o più frazioni del campione iniziale da fissare e di una o più ulteriori frazioni per il conteggio, comporta un certo errore. L'accumulo di tutti gli errori influirà, ovviamente, sulla stima della densità della popolazione ottenibile attraverso il conteggio. Tenendo conto di ciò, la precisione del conteggio, per quanto importante di per sé, non è necessario che sia maggiore di quanto giustificato dalla precisione che si ottiene nel campionamento e nelle successive manipolazioni.

La stima della precisione del conteggio può darci una indicazione riguardo alla differenza tra la densità media della popolazione da cui deriva il nostro campione e la densità media calcolata a partire dal numero di organismi conteggiati. Il numero di organismi contati rappresenta dunque il punto chiave della nostra stima: maggiore è questo numero e maggiore sarà la precisione del conteggio. Peraltro, nella maggior parte dei casi, solamente una frazione dell'area di base della camera di sedimentazione viene esaminata: diventa dunque importante anche il modo in cui le alghe si distribuiscono sul fondo della cameretta. E' importante che gli organismi abbiano una distribuzione omogenea e casuale: questo si ottiene agitando il campione prima della rimozione del volume da contare e versandone poi la quantità necessaria nella cameretta facendo attenzione a non creare dei vortici che portino le alghe a concentrarsi in certe zone (assolutamente da evitare l'uso di pipette per trasferire il materiale destinato al conteggio!).

Se seguiamo queste precauzioni possiamo calcolare la precisione del nostro conteggio utilizzando le equazioni più comuni, la cui applicabilità si basa sull'assunzione che le cellule siano distribuite sul fondo della cameretta secondo una distribuzione di Poisson o secondo una distribuzione normale. Ricordiamo che per densità superiori a 50 cellule la distribuzione di Poisson approssima la distribuzione normale standardizzata.

Supponiamo ora di contare l'intero campione: per popolazioni fino a 50 cellule il livello di precisione ottenibile nel conteggio, sulla base del numero di individui contati, si può ottenere da tabelle o grafici dei limiti fiduciali della distribuzione di Poisson (vedi anche Tabella 1). Per valori superiori a 50 individui si fa riferimento alla distribuzione normale standardizzata: in questo caso l'intervallo di variazione per la media vera basata su un conteggio di x individui è dato da:

e la precisione relativa da:

$$z_{\alpha} (100\%) / \sqrt{x}$$

dove z_{α} rappresenta la variabile standardizzata per un certo livello di probabilità α .

È interessante osservare che ogni volta che raddoppia il numero di cellule contate l'errore relativo non viene dimezzato: di questo si deve tenere conto per ottimizzare il numero di conteggi.

Quando invece si conta una frazione del campione, per esempio un certo numero di campi oculari, oppure una serie di subcampioni si fa riferimento alla distribuzione del t di Student. L'uso della statistica t assume che la popolazione sia normalmente distribuita: se la distribuzione non è normale si può fare un errore più o meno grave, che tuttavia può essere ridotto aumentando il numero n di subcampioni o campi esaminati. Infatti al crescere di questi la distribuzione di t approssima la curva normale standardizzata. In particolare quando $n > 30$ la distribuzione di t e quella di z sono praticamente coinci-

enti. Dunque la statistica t va usata quando $n < 30$, la popolazione è normalmente distribuita e non si conoscono la sua media μ e la sua varianza σ^2 , ma si conosce o può essere calcolata una varianza s^2 .

Facendo riferimento alla distribuzione di t , l'intervallo della media vera della popolazione ed il suo errore relativo sono dati rispettivamente dalle equazioni:

$$\frac{t_{(\alpha)(n-1)} \sqrt{\bar{x}/n}}{\bar{x}} (100\%)$$

dove \bar{x} rappresenta la media degli individui contati nei diversi campi o subcampioni, s^2 la varianza e n il numero di campi o subcampioni.

Con densità medie uguali, il parametro $t_{(\alpha)(n-1)}$ è una funzione del numero di campioni, dunque l'errore relativo si riduce aumentando il numero di campioni o di campi esaminati (Tabella 2).

Tabella 2. Esempi di errore relativo in funzione del numero di subcampioni o campi oculari esaminati, ipotizzando una densità media di 50 individui.

n. campioni o campi	Errore relativo	$t_{0.05}$	G.d.L.
2	127 %	12.71	1
3	35 %	4.30	2
5	18 %	2.78	4
10	10 %	2.26	9
30	5 %	2.05	29

Se consideriamo che ogni campione contiene un numero finito N di subcampioni e che ogni cameretta un numero finito N di campi microscopici, di cui solo una frazione n viene conteggiata, possiamo applicare la seguente correzione, che permette di ridurre il numero di

Tabella 1. Esempi di intervalli di variazione della media in relazione al numero di individui contati ($\alpha = 0.05$).

n. individui	Intervallo della media	Errore relativo	Distribuzione
5	2-12	60-140%	Poisson
10	5-18	50-80%	Poisson
50	40-70	20-40%	Poisson
100	100±20	20%	Normale Standardizzata ($z=1.96$)
200	200±28	14%	Normale Standardizzata ($z=1.96$)
400	400±39	10%	Normale Standardizzata ($z=1.96$)
800	800±55	7%	Normale Standardizzata ($z=1.96$)

cellule da contare:

$$\bar{x} = t_{(\alpha)(n-1)} \sqrt{s_x^2 [(N-n)/N]}$$

2.3. CONTEGGIO PER TRANSETTI

Il conteggio per transetti nasce dall'esigenza di ottimizzare la relazione tra il tempo di lavoro e la precisione del conteggio. Con questa tecnica è infatti possibile contare solo una frazione del campione, riuscendo comunque a raggiungere numeri significativi di individui contati per le specie più importanti. Il numero di transetti, cioè di diametri della camera di sedimentazione esaminati, può andare da un minimo di due ad un massimo dettato dal numero di individui che si vuole arrivare a conteggiare, quindi della precisione che si vuole raggiungere. Un'alternativa al conteggio per transetti è quella di contare delle strisce verticali od orizzontali alternate: per esempio una ogni due, ogni tre, ogni quattro o più. Anche in questo caso il numero delle strisce da esaminare è legato al numero di individui contati.

2.4. CONTEGGIO PER CAMPI CASUALI

Un altro metodo per contare una frazione del campione è quello di esaminare un certo numero di campi microscopici scelti in modo casuale, estraendo delle copie di coordinate sugli assi x ed y del tavolino traslatore, per esempio attraverso un generatore di numeri casuali. È importante controllare che le coppie di coordinate selezionate rientrino effettivamente all'interno dell'intervallo di coordinate in cui si localizza l'area della cameretta visibile al microscopio. La scelta del numero di campi casuali da esaminare è in funzione della densità del materiale, essendo, come già detto, la precisione del conteggio legata al numero di cellule enumerate. Prima di decidere il numero di campi sarebbe quindi opportuno esaminare a piccolo ingrandimento l'intera superficie della camera, per valutare la densità degli organismi. In ogni caso, per quanto detto a proposito della precisione del conteggio in riferimento alla distribuzione del t , può essere sufficiente contare 30 campi. È invece più utile esaminare, se possibile, più di una cameretta, in modo da avere una stima anche della varianza tra subcampioni.

2.5. CONTEGGIO SULL'INTERA CAMERA

Ha il vantaggio di superare l'assunzione che gli organismi siano distribuiti in un certo modo nella camera di sedimentazione. Tuttavia è un conteggio che richiede molto tempo e viene quindi impiegato per contare solo le specie rare oppure specie di grandi dimensioni, che possono essere riconosciute a basso ingrandimento (250x o 100x). L'esame dell'intera camera a basso ingrandimento può essere utile, inoltre, per avere una visione qualitativa

del campione.

Il conteggio dell'intera camera viene effettuato posizionando l'obiettivo sul margine sinistro (o destro) dell'area della cameretta, dove si esamina il primo campo oculare. In seguito si sposta l'obiettivo verso l'alto o verso il basso, fino ad arrivare sul campo adiacente: è importante porsi dei riferimenti per delimitare la superficie del campo ed essere sicuri di non contare due volte lo stesso individuo. Quando una intera striscia viene esaminata, ci si sposta lateralmente, ci si posiziona di nuovo in corrispondenza del margine sinistro, destro, superiore od inferiore, a seconda del punto in cui ci si trova e della direzione intrapresa e si conta una nuova striscia. Si continua così fino a raggiungere il margine laterale opposto.

2.6. CONTEGGIO PER PRESENZA - ASSENZA

È il tipo di conteggio più rapido, in quanto si rileva solo la presenza o meno degli organismi. Tuttavia una determinazione precisa dell'assenza necessita l'esame di una larga frazione del materiale. Per esempio, per stabilire l'assenza di una specie da un campione al livello di significatività $\alpha = 0.05$ su un campione di 1000 campi oculari, dovrebbe essere necessario esaminarne 950 (1-a).

2.7. CONTEGGIO DI ORGANISMI COLONIALI

Il conteggio è un'operazione relativamente semplice nel caso di organismi unicellulari, mentre può diventare complessa quando si tratta di contare i singoli individui di specie coloniali. In alcuni casi infatti le singole cellule sono molto facili da distinguere e possono essere quindi conteggiate facilmente, come in molte diatomee (*Asterionella*, *Fragilaria*, *Melosira*), cloroficee (*Sphaerocystis*, *Mougeotia*, *Coelastrum*) o crisoficee (*Dynobryon*) coloniali. In altri casi, invece, non è semplice distinguere i singoli individui, come capita con la maggior parte delle cianoficee (*Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Lynghya*, *Oscillatoria*). Una ulteriore distinzione va inoltre fatta per le colonie filamentose e per quelle sferiche. Nel primo caso capita molte volte di riuscire a distinguere la separazione tra due cellule all'interno del filamento: è dunque possibile misurare, usando un'oculare micrometrico, la lunghezza di un certo numero di individui (in filamenti diversi), in modo da poter ricavare un valore di lunghezza medio per individuo. A questo punto è sufficiente misurare la lunghezza di tutti i filamenti che si ritrovano nel campione per calcolare il numero totale di cellule. Nel caso di colonie sferiche il calcolo del numero di individui è molto difficile da valutare: essendo la colonia sferica disposta su piani focali diversi, si può stimarne la dimensione spostandosi con la manopola della messa a fuoco dal piano focale più alto a quello più

basso e ricavando poi lo spessore della colonia sulla base dello spostamento compiuto sulla scala della messa a fuoco. Conoscendo le dimensioni degli individui è poi possibile stimare lo spessore della colonia (equivalente al diametro se la colonia approssima una sfera). Ricavando le altre misure (per esempio lunghezza e larghezza se la forma non è sferica) è possibile calcolare il volume della colonia e, da questo, risalire al numero degli individui che la compongono.

Il metodo, tuttavia, comporta un errore elevato, poiché le colonie possono avere una forma geometrica spesso molto complessa, con diramazioni nelle tre dimensioni spaziali. Inoltre non sempre gli individui sono perfettamente uniti l'uno all'altro, ma possono restare tra loro degli spazi vuoti, in particolare se si tratta di colonie mucillaginose. Una seconda possibilità, che però comporta un impegno più gravoso in termini di tempi necessari, è quella di rompere la colonia, per esempio tramite ultrasuoni, e contare separatamente le cellule, a patto che queste siano facilmente distinguibili da alghe unicellulari.

Per queste ragioni un campione in cui siano abbondanti le specie coloniali può avere associato un errore di conteggio molto elevato: è opportuno precisare che quando si valuta il numero di individui conteggiati, ogni colonia andrebbe presa come un individuo singolo. In caso contrario non è possibile assumere una distribuzione omogenea degli organismi, poiché le colonie rappresentano degli aggregati di cellule.

2.8. DETERMINAZIONE DEI VALORI DI DENSITÀ E BIOVOLUME ALGALI

Una volta terminato il conteggio la densità può essere espressa in individui per millilitro o per litro, tenendo conto della frazione di campione conteggiato e del volume sedimentato. La frazione di campione esaminato si ricava conoscendo il numero totale di campi oculari contenuti nell'area di base della camera di sedimentazione. Questo numero si ottiene, a sua volta, sapendo quale è l'area di base della camera e quale è l'area di un singolo campo microscopico. Ricordo che l'area di un campo varia a seconda dell'ingrandimento utilizzato e di conseguenza la frazione di campione esaminato, anche se il numero di campi è lo stesso. L'area di un campo microscopico può essere calcolata con l'uso di un oculare micrometrico.

In molti casi può essere utile stimare il biovolume delle alghe: infatti non è detto che densità e biovolume si corrispondano, potendo essere presenti con alte densità cellule piccole o, viceversa, cellule grandi con densità più scarse. Il biovolume di una comunità algale è infatti spesso correlato con parametri ecofisiologici della comunità stessa, come il contenuto in pigmenti, il tasso di

crescita ed i rapporti trofici con altri livelli della rete alimentare lacustre. Il volume cellulare di una specie algale può essere molto variabile a seconda delle stagioni, della latitudine o del tipo di ambiente. Sarebbe quindi opportuno misurare il volume delle specie algali ogni volta che si conta un nuovo campione. In pratica, poiché le misure da effettuare sulle cellule algali per stimare il loro biovolume richiedono molto tempo, si preferisce effettuare qualche decina di misure per ogni specie, nell'arco di un certo periodo di tempo (un anno è l'intervallo migliore), calcolando poi un valore medio di biovolume. Tale valore può essere mantenuto valido, per le specie sviluppatesi nell'ambiente in cui sono state effettuate le misurazioni, per un periodo di due o tre anni. In generale è meglio non utilizzare misure che si trovano in letteratura, di solito comprese in un ampio intervallo di variazione.

Il biovolume algale viene dunque calcolato assimilando le alghe a forme geometriche semplici. Qualora le cellule avessero una forma complessa, il biovolume si ottiene scomponendo le cellule in parti paragonabili a solidi semplici e calcolando i singoli volumi di questi.

3. Ricerca e determinazione dei principali pigmenti algali

L'identificazione degli organismi algali tramite l'esame microscopico, pur fornendo risultati molto accurati riguardo alla composizione specifica di una comunità algale, è tuttavia un esame che richiede tempi lunghi e, soprattutto, l'acquisizione di una notevole esperienza da parte dell'operatore. Per questi motivi non sempre viene eseguito nella pratica quotidiana di un laboratorio di microbiologia delle acque. Esistono peraltro metodi diversi, più rapidi e più semplici, per accertare la eventuale presenza di alghe in campioni d'acqua da destinare alla potabilizzazione. Questi metodi fanno uso di analisi chemiotassonomiche, basate sulla identificazione di molecole specifiche, tipiche degli organismi fitoplanctonici. Le molecole che meglio identificano le alghe sono i pigmenti coinvolti nei processi fotosintetici, cioè le clorofille ed i pigmenti accessori, in quanto possedute solo da questa categoria di microorganismi acquatici.

Le tecniche di indagine chemiotassonomica sono diverse e numerose, a seconda del tipo e del numero di pigmenti che si vogliono separare ed isolare e, di conseguenza, differiscono per la strumentazione impiegata (spettrofotometri, fluorimetri, hplc) e/o per i solventi usati per la separazione (acetone, alcoli, solventi puri o diluiti, miscele di solventi). Solo a titolo di esempio possiamo ricordare che il solvente maggiormente usato è l'acetone, poiché il suo coefficiente di estinzione in diverse situazioni sperimentali è ben noto, per quanto esso sia più costoso di altri (come etanolo o metanolo) ed abbia un potere di

estrazione minore degli alcoli in presenza di certe alghe (cloroficee o cianoficee). D'altro canto gli alcoli hanno coefficienti di estinzione ancora approssimativi, non sono impiegabili in tutte le situazioni analitiche ed alcuni di essi sono tossici (metanolo).

La possibilità di individuare i diversi pigmenti fotosintetici si basa sulle loro proprietà ottiche, cioè sulle caratteristiche di assorbanza e fluorescenza connesse con la struttura molecolare di ogni pigmento: i pigmenti più facili da determinare sono naturalmente quelli che hanno proprietà ottiche che li rendono ben distinguibili da altri pigmenti.

Il metodo più semplice e più rapido per valutare la presenza di organismi algali in un campione d'acqua è la misura della clorofilla *a*, pigmento comune a tutte le alghe, che può essere facilmente distinto da altri pigmenti in quanto in solventi organici mostra un picco di assorbanza tipico a 663 nm (Fig. 3). La misura della clorofilla è una tecnica relativamente semplice (vedi Appendice A), ma decisamente aspecifica, poiché fornisce solo una indicazione di presenza/assenza di organismi algali: questa indicazione è peraltro sicura (Fig. 4), tanto che la concentrazione della clorofilla *a* è di solito presa come stimatore della biomassa algale.

Un livello di specificità un poco più elevato può essere raggiunto attraverso la determinazione delle clorofille *b* e *c* che, in quanto pigmenti esclusivi di alcune classi algali (cloroficee e alghe brune rispettivamente), possono dare una informazione aggiuntiva riguardo alla qualità degli

organismi presenti in un campione d'acqua. Queste tre diverse clorofille possono essere risolte spettrofotometricamente, senza sottoporre il campione ad alcuna preliminare operazione di separazione dei pigmenti: tuttavia il dato quantitativo riguardante le concentrazioni delle clorofille *b* e *c* è poco affidabile, poiché i loro picchi di assorbanza nel rosso tendono a sovrapporsi (Fig. 3).

Per avere un dato quantitativo di applicabilità generale riguardo alla concentrazione di pigmenti che non mostrano picchi di assorbanza ben separati è necessario un approccio differente, con variazioni metodologiche più o meno sostanziali.

Ritornando alla Figura 3, si nota una larga porzione dello spettro luminoso, compresa tra 400 e 500 nm, in cui l'assorbanza raggiunge i valori più elevati: infatti pressoché tutte le molecole coinvolte nel processo fotosintetico assorbono preferenzialmente in questa regione, in particolare a circa 440 nm. La misura dell'assorbanza nell'azzurro si presta dunque bene per valutare la concentrazione di numerosi pigmenti, non solo clorofille, ma anche pigmenti accessori, come carotenoidi e xantofille. D'altro canto il fatto che tutte queste molecole mostrino un picco nella stessa regione dello spettro rende impossibile distinguerli senza prima separarli. La possibilità di identificare separatamente i più importanti pigmenti accessori rappresenta attualmente la tecnica di indagine chemiotassonomica più raffinata, poiché le sei classi di alghe più diffuse (*Cyanobacteria*, *Bacillariophyceae*, *Chrysophyceae*, *Cryptophyta*, *Dinophyceae* e *Chlorophyta*) si differenziano tra

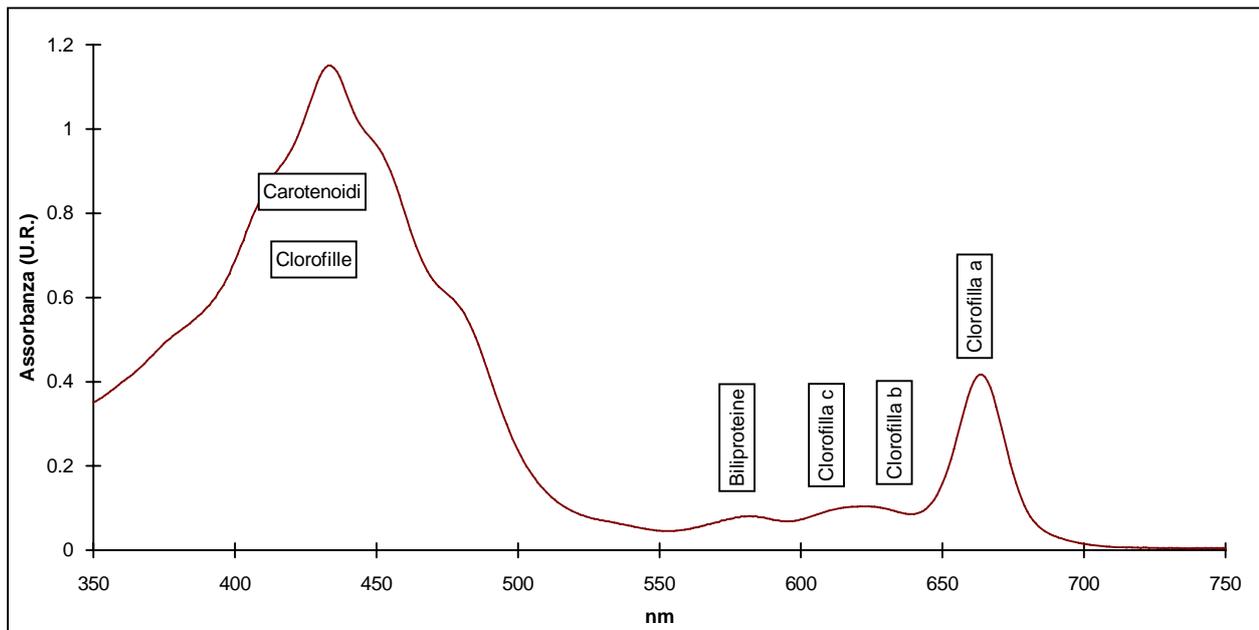


Fig.3 - Spettro di assorbanza in etanolo 90% di un campione contenente alghe.

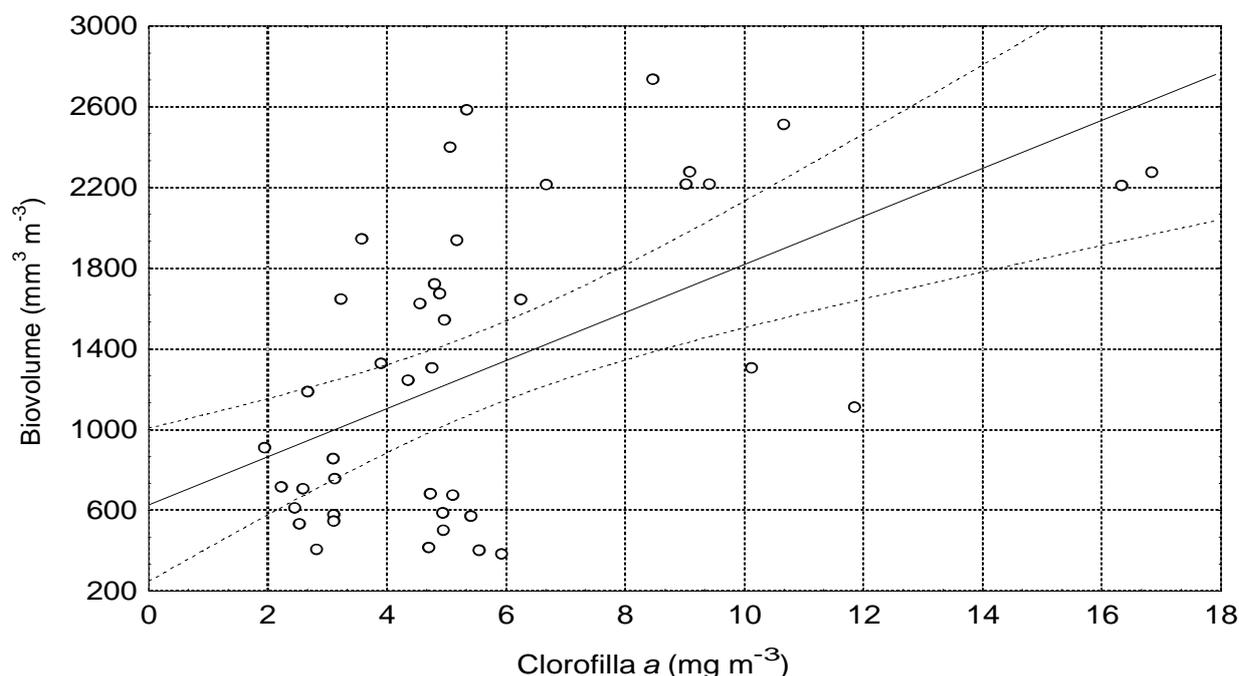


Fig. 4 - Correlazione tra concentrazione della clorofilla *a* ed il biovolume totale delle alghe nel Lago Maggiore (1994). La regressione tra le due variabili è significativa al livello del 99.9 % ($r = 0.549$; $n=60$).

loro per la composizione del loro corredo di pigmenti accessori. Alcuni di questi sono molto specifici e caratteristici di classi ben precise, altri sono più diffusi e possono essere posseduti da più di una classe algale (Tab. 3).

Tabella 3. Pigmenti accessori principali e loro riferimento alle classi algali

Pigmento	Classi algali di appartenenza
Clorofillide <i>a</i>	Artefatto di estrazione, specie contenenti clorofillasi (alcune diatomee)
Clorofilla <i>c1+c2</i>	<i>Bacillariophyceae</i> (diatomee), <i>Chrysophyceae</i> (crisoficee)
Peridina	<i>Dinophyceae</i> (dinoflagellati)
Fucoxantina	<i>Bacillariophyceae</i> (diatomee), <i>Chrysophyceae</i> (crisoficee)
Diadinoxantina	<i>Dinophyceae</i> (dinoflagellati), <i>Bacillariophyceae</i> (diatomee)
Alloxantina	<i>Cryptophyta</i> (criptoficee)
Luteina	<i>Chlorophyta</i> (cloroficee)
Zeaxantina	<i>Cyanobacteria</i> (cianobatteri), <i>Chlorophyta</i> (cloroficee)
Clorofilla <i>b</i>	<i>Chlorophyta</i> (cloroficee)
Allomero Cl. <i>a</i>	Tutte le classi
Clorofilla <i>a</i>	Tutte le classi
$\alpha + \beta$ carotene	Tutte le classi, abbonda in alcune diatomee e cianobatteri

In genere più due classi algali sono sistematicamente lontane tra loro, maggiori sono le differenze nel tipo di pigmenti ausiliari posseduti e viceversa: per esempio, *Bacillariophyceae* e *Chrysophyceae*, entrambe alghe brune, hanno corredi di pigmenti molto simili, ma decisamente diversi da quelli posseduti da *Chlorophyta* (alghe verdi) o *Cyanobacteria* (alghe azzurre). La differenziazione dei gruppi algali risulterà dunque tanto più facile e precisa quanto più semplice sarà la struttura dei popolamenti.

La separazione dei pigmenti algali accessori viene effettuata tramite tecniche cromatografiche: in passato era usata la cromatografia su strato sottile (TLC), mentre oggi si preferisce la cromatografia liquida ad alta precisione (HPLC), che rende questa analisi molto più rapida e precisa. La possibilità di separare un buon numero di pigmenti diversi si basa sull'abilità a sfruttare le loro caratteristiche molecolari, impiegando miscele di solventi con polarità differenti: i vari solventi possono essere mescolati in proporzioni diverse nel corso dell'analisi secondo gradienti lineari, per ottimizzare la eluizione dei vari pigmenti in tempi opportuni, facilitando così l'identificazione dei singoli picchi di assorbimento. Una volta separati i diversi pigmenti, la concentrazione di ognuno di essi viene calcolata in base all'assorbimento misurato spettrofotometricamente, utilizzando i coefficienti di estinzione forniti dalla letteratura. In letteratura si trovano de-

scritti numerosi metodi di separazione cromatografica, variabili in base al tipo ed al numero dei solventi utilizzati, alle condizioni del gradiente, al tipo di colonna impiegata, alla raffinatezza nella risoluzione dei pigmenti.

Queste tecniche di indagine, seppure a diversi livelli di sensibilità, possono rappresentare un'alternativa ai metodi tradizionali di ricerca e determinazione delle alghe.

Tuttavia, l'indagine chemiotassonomica non è da considerarsi in assoluto sostitutiva dell'esame microscopico, ma piuttosto rappresenta un'utilissimo complemento di questo, soprattutto se la determinazione dei pigmenti è raffinata: infatti la verifica della effettiva presenza o assenza di specie nocive deve essere comunque effettuata per mezzo del microscopio nei casi in cui l'identificazione dei pigmenti algali abbia evidenziato la presenza di gruppi algali potenzialmente tossici. Peraltro la possibilità di dirigere la ricerca solamente verso l'individuazione di specie tossiche, può ridurre sensibilmente anche i tempi dell'osservazione microscopica.

Nel caso specifico delle acque destinate al consumo umano queste metodologie possono costituire, grazie alle loro caratteristiche (rapidità, semplicità di esecuzione e specificità) e grazie al fatto che non richiedono una competenza approfondita nel riconoscimento delle alghe, un valido metodo rapido per la ricerca degli organismi fitoplanctonici.

4. Introduzione ai taxa algali tossici

Il perdurare di condizioni ambientali favorevoli (temperature elevate, abbondanza di nutrienti, stagnazione delle acque) può, talvolta, portare allo sviluppo di popolazioni algali pressoché monospecifiche, che può anche assumere il carattere di una vera e propria fioritura (in genere si parla di fioritura quando il popolamento raggiunge densità dell'ordine di 100×10^6 ind l^{-1} o superiori).

In teoria tutti i gruppi algali possono dar luogo a fioriture ma, in pratica, diatomee, dinoflagellati (di solito in ambiente marino) e cianoficee sono quelli che più comunemente danno vita a questo fenomeno. Le fioriture algali possono in molti casi pregiudicare l'uso dei corpi idrici, sia per scopi ricreativi che potabili, non solo perché conferiscono all'acqua colori, sapori e odori sgradevoli, ma soprattutto perché alcune delle specie algali responsabili di fioriture sono produttrici di metaboliti potenzialmente tossici per l'uomo.

Le specie algali con la tossicità più elevata rientrano tutte nel gruppo dei *Cyanobacteria* o cianoficee o alghe azzurre. In particolare i generi *Gomphosphaeria*, *Microcystis*, *Anabaena*, *Pseudanabaena*, *Aphanizomenon*, *Lyngbya*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, piuttosto comuni nelle acque dolci italiane, comprendono alcune specie in grado

di produrre tossine. Bisogna peraltro rilevare che, all'interno di una specie, vi sono sia ceppi tossigenici che ceppi non produttori di tossine. È dunque più corretto parlare di specie *potenzialmente tossiche*, piuttosto che di specie tossiche.

Le tossine coinvolte sono metaboliti secondari di varia natura (peptidi, alcaloidi, fenoli) ed hanno effetti epatotossici o neurotossici (Tab. 4).

Tabella 4. *Principali specie di cianoficee produttrici di tossine ed effetti noti di queste.*

Specie	Tossina	Effetto noto
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Microcistina	Epatotossico
<i>M. botrys</i>	Microcistina	Epatotossico
<i>M. viridis</i>	Microcistina	Epatotossico
<i>Pseudanabaena cathenata</i>	Sconosciuta	Neurotossico
<i>Gomphosphaeria lacustris</i>	Sconosciuta	Sconosciuto
<i>G. naegeliana</i>	Sconosciuta	Sconosciuto
<i>Oscillat. agardhii/rubescens</i>	Oscillotossina	Neurotossico /Epatotossico
<i>Lyngbya maiuscola</i>	Lyngbyatossina	Sconosciuto
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	Afantossina	Neurotossico
<i>Anabaena sp.</i>	Peptidi ed alcaloidi	Neurotossico

Effetti meno gravi includono nausea, vomito, diarrea, dermatiti da contatto e reazioni allergiche.

Le tossine delle cianoficee sono endotossine, cioè sono contenute all'interno della cellula algale e vengono rilasciate all'esterno solo dopo la morte dell'organismo, come si verifica quando le alghe vengono ingerite dall'uomo o da animali, oppure quando l'acqua viene sottoposta a trattamenti di potabilizzazione.

Bisogna inoltre considerare che le tossine già presenti in soluzione non vengono rimosse o inattivate nel corso dei normali processi di trattamento delle acque (flocculazione, sedimentazione, filtrazione) e che, inoltre, sono resistenti alla bollitura.

In caso di fioriture di cianoficee vi sono poche possibilità di evitare contaminazioni dell'acqua con tossine algali. In qualche caso è possibile isolare con delle barriere galleggianti le aree del bacino dove si è concentrata la fioritura, sfruttando il fatto che molte cianoficee sono in grado di galleggiare grazie a vacuoli gassosi intracellulari. Il modo più sicuro di evitare intossicazioni è tuttavia quello di prevenire il verificarsi di fioriture, attraverso interventi di risanamento che riducano il carico di nutrienti in ingresso al bacino o rallentino il rilascio di quelli già presenti nei sedimenti lacustri.

In ogni caso, ogni fioritura di cianoficee deve essere tenuta sotto controllo: una indagine microscopica per rilevare la presenza di *taxa* potenzialmente tossici an-

drebbe effettuata ogni volta che ci si trovi in presenza di fioriture che conferiscano all'acqua superficiale colorazioni verde prato, indicative della presenza di *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Oscillatoria*, oppure rosso bruno, imputabili ad *Oscillatoriaceae*.

Attualmente non vi sono norme internazionali per valutare le situazioni in cui vi sia il pericolo di intossicazioni da tossine algali in acque destinate a scopi ricreativi o potabili. Norme in vigore in Australia raccomandano $1 \mu\text{g l}^{-1}$ di tossina come limite superiore per un uso sicuro dell'acqua, sulla base di test di tossicità condotti sui topi, cui, per un anno, era stata somministrata una dose giornaliera di $0.5 \mu\text{g}$ di microcistina per grammo di peso corporeo, senza rilevare effetti dannosi significativi. Sulla base di questa concentrazione il limite superiore di densità algale per un consumo dell'acqua privo di rischi è stato fissato in $5000 \text{ cell ml}^{-1}$. Bisogna peraltro ricordare che questi valori sono basati sulla tossicità a livello epatico e sarà necessaria una revisione qualora studi epidemiologici sulla popolazione umana rivelassero effetti cancerogeni della microcistina.

5. Indicazioni bibliografiche

Ho volutamente evitato di riempire il testo di citazioni bibliografiche, spesso difficili da reperire. Tuttavia ritengo utile segnalare alcuni testi nei quali ritrovare i concetti ed i metodi sopra descritti, aggiungendo alcune indicazioni sui testi di sistematica più comuni.

PER LA BIOLOGIA E L'ECOLOGIA DELLE ALGHE:

Harris, G.P. 1986. *Phytoplankton ecology. Structure, functions and fluctuations*. Chapman and Hall, Londra. (Disponibile anche una edizione italiana, a cura di D.Ruggiu, pubblicata nel 1994 da CLUEB, Bologna, con lo stesso titolo tradotto, ISBN: 88-8091-047-7).

Hutchinson, G.E. 1967. *A treatise on limnology. Vol II, Introduction to lake biology and the limnoplankton*. Wiley & Sons, Inc., New York (ormai pressoché introvabile).

Reynolds, C.S. 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press (ISBN: 0-521-28222-5).

PER I METODI DI CONTEGGIO:

Sournia, A. (Ed.). 1978. *Phytoplankton manual*. UNESCO, Parigi (ISBN: 92-3-101572-9).

PER LA SISTEMATICA:

Bourrelly, P. 1966, 1968, 1970. *Les algues d'eau douce*. Voll. I-III. Ed. N. Boubée et Cie, Paris. (Testo che riporta le specie più diffuse, consentendo una determinazione fino al genere).

Hüber-Pestalozzi, G. 1938, 1941, 1942, 1950, 1955, 1961, 1972, 1983, 1983. *Das Phytoplankton des Süßwasser*. Die

Binnengewasser. Voll. I-XVI. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Ed.), Stuttgart. (Serie di volumi, ognuno dedicato ad un gruppo tassonomico diverso. Descrivono in modo dettagliato numerosissime specie, comuni e rare. I suoi limiti principali sono il fatto che molti volumi sono ormai superati dall'avvento di nuove tecniche di analisi microscopica ed il fatto che il tedesco non aiuta la consultazione di un testo di per sé già alquanto complesso.)

Pascher, A. 1978-1990 (continua). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Voll. I-XXIV. Gustav Fischer Verlag (Ed.), Jena, Stuttgart. (Serie non ancora completa di volumi, ognuno dedicato ad un genere diverso e curato da uno specialista del settore. Comprendono non solo le alghe fitoplanctoniche, ma tutta la flora delle acque dolci europee. E' curato e completo nelle descrizioni delle specie come l'Hüber-Pestalozzi, ma ha il vantaggio di essere più aggiornato e di riportare disegni di alghe tratti da fotografie al microscopio, nonché diverse microfotografie. I primi volumi sono in tedesco, ma gli ultimi pubblicati sono in inglese.)

Tiffany, L.H. and M.E. Britton. 1951. *The algae of Illinois*. The University of Chicago Press. Chicago.

(Volume unico, che riporta descrizioni abbastanza accurate di diverse specie algali, molte delle quali frequenti anche nei nostri laghi. Ovviamente, trattando tutti i gruppi in un solo volume, le specie considerate non sono moltissime. Ha il vantaggio di essere in inglese e di facile consultazione.)

PER NOTIZIE PIÙ APPROFONDITE SULLE ALGHE TOSSICHE:

Flaconer, I. R. 1993. *Algal toxins in seafood and drinking water*. Academic Press. London (ISBN: 0-12-247990-4).

Appendice A

Metodo di analisi spettrofotometrica della clorofilla *a*¹

Acque destinate al consumo umano

DETERMINAZIONE DELLA CLOROFILLA *a*

Water intended for human consumption
CHLOROPHYLL *a* DETERMINATION

0. Introduzione

La clorofilla è una molecola organica complessa che svolge un ruolo chiave nel processo fotosintetico operato dagli organismi vegetali. Grazie alla natura dei legami chimici tra gli atomi che la compongono, questa molecola è infatti in grado di funzionare come accettore e donatore degli elettroni provenienti dalla radiazione luminosa, innescando così la catena di eventi biochimici che portano alla sintesi di carboidrati a partire dalla anidride carbonica.

La clorofilla *a* è il tipo di pigmento fotosintetico più comune, in quanto universalmente diffuso tra gli organismi vegetali. Tra le alghe questo pigmento è presente in tutti i gruppi sistematici, mentre altri tipi di clorofille (*b*, *c* e *d*) sono esclusive di alcuni gruppi. Per questo motivo il metodo proposto prende in esame la determinazione della sola clorofilla *a*. Il contenuto cellulare di clorofilla *a* delle cellule algali varia tra lo 0,3 ed il 2,0 % del peso secco, a seconda dello stato fisiologico delle cellule o del loro adattamento a particolari condizioni di radiazione luminosa. Quando le cellule algali muoiono e vengono decomposte, la clorofilla viene degradata e si formano altre molecole che prendono il nome di feopigmenti. Spesso il rapporto tra feopigmenti e clorofilla *a* fornisce utili indicazioni sullo stato di salute di una popolazione fitoplanctonica.

¹ La metodica di seguito illustrata è stata proposta dall'Autore ad UNICHIM quale metodo rapido per la ricerca delle alghe ed è stata pubblicata sul MANUALE UNICHIM N.168 - Acque destinate al consumo umano, Metodi microbiologici. Parte II. Edizione 1995

1. Scopo e campo di applicazione

Il ritrovamento di clorofilla *a* in un campione d'acqua è indizio certo della presenza di cellule algali. La metodologia di determinazione della clorofilla *a* può dunque costituire un valido strumento per ottenere, in tempi brevi ed in modo relativamente semplice, una informazione preliminare sulla eventuale presenza di alghe in acque destinate al consumo umano. Il metodo proposto permette inoltre di ottenere una stima dei feopigmenti degradando artificialmente, con l'aggiunta di acido cloridrico, la clorofilla presente nel campione in esame.

2. Riferimenti

ISO 3696 (1987) "Acqua in uso nei laboratori di analisi - Specifiche e metodi di prova"

Manuale UNICHIM N.157 (1988) "Metodi di campionamento acque destinate al consumo umano"

Metodo UNICHIM N.1006 (1993) "Guida generale per determinazioni microbiologiche"

3. Metodologia di indagine

Applicare la tecnica di filtrazione su membrana. Porre la membrana sopra l'apposito supporto del sistema di filtrazione. Non è necessario mantenere la sterilità. Agitare il contenitore del campione e procedere alla filtrazione secondo quanto descritto nel paragrafo 7.1.

4. Terreni di coltura e reagenti

Nel corso dell'analisi, se non è altrimenti indicato, utilizzare solo terreni di coltura e reagenti puri per analisi, come definito nel metodo UNICHIM N. 1006 e acqua di purezza equivalente al grado 2 dell'ISO 3696.

AVVERTENZE: L'analisi biologica comporta, talvolta, l'utilizzo e la manipolazione di sostanze chimiche che possono individuare uno specifico rischio per l'operatore.

Seguire sempre le indicazioni in tal senso riportate sulle confezioni e porre in atto le precauzioni e gli accorgimenti suggeriti.

Uniformarsi inoltre alle normative vigenti relativamente allo smaltimento dei rifiuti.

4.1 GEL DI SILICE GRANULARE

4.2 ACETONE DILUITO AL 90%

A 90 ml di acetone (CH_3COCH_3) aggiungere 10 ml di acqua.

4.3 ACIDO CLORIDRICO, SOLUZIONE 0.1 N.

5. Apparecchiatura

Normale vetreria di laboratorio trattata secondo quanto descritto nel metodo UNICHIM N.1006.

- 5.1 MEMBRANA MICROPOROSA IN FIBRA DI VETRO CON POROSITÀ NOMINALE 1 μM , DIAMETRO 47 MM.
- 5.2 RAMPA PER FILTRAZIONE SOTTO VUOTO.
- 5.3 POMPA DA VUOTO.
- 5.4 OMOGENEIZZATORE.
- 5.5 CENTRIFUGA.
- 5.6 SPETTROFOTOMETRO DOPPIO RAGGIO.

6. Campionamento

Prelevare i campioni e trasferirli in fustini di plastica secondo le procedure e le cautele descritte nel Metodo UNICHIM N.1006 e nel Manuale UNICHIM N.157.

Conservare il campione al riparo dalla luce solare diretta ed eseguire la filtrazione entro il più breve tempo possibile, comunque non oltre 4-5 ore dal prelievo.

Il volume minimo consigliato di campione da prelevare per questa determinazione è di 10 l.

7. Procedimento

Si raccomanda di operare in ogni fase del procedimento al riparo dalla luce solare diretta.

7.1 FILTRAZIONE

Filtrare un volume opportuno di campione attraverso una membrana (5.1). Il volume da filtrare è molto variabile, in quanto dipendente dalla densità dei popolamenti algali, legata a sua volta alle caratteristiche dell'ambiente in esame ed ai fattori che stagionalmente controllano la crescita algale. Orientativamente si può consigliare di sospendere la filtrazione quando sulla membrana si è concentrata una quantità di materiale tale da conferire alla membrana stessa una colorazione ben visibile ad occhio. La pressione di vuoto non deve superare 0,3-0,4 Bar, onde evitare danni alle cellule algali e perdita dei pigmenti.

7.2 CONSERVAZIONE DEL FILTRO

Eseguita la filtrazione, asciugare delicatamente la membrana filtrante con carta da filtro, avendo cura di non asportare le alghe su di essa concentrate. A questo punto si può preparare il filtro per l'estrazione della clorofilla (7.3), oppure conservarlo in attesa di poter effettuare l'analisi. In questa seconda eventualità il filtro va posto in una bustina di carta di alluminio e conservato in congelatore a -20 C su gel di silice.

7.3 ESTRAZIONE DEI PIGMENTI

Tagliare il filtro in piccoli pezzi avendo cura di non toccare con le dita l'area su cui si concentrano le alghe e

trasferire i frammenti in una provetta da centrifuga numerata. Aggiungere 5 ml di acetone diluito (4.2). Macinare il filtro con un apparecchio omogeneizzatore (5.4) immergendo l'asta di questo nella provetta e azionando lo strumento per 1 minuto a circa 10000 giri. Dopo di ciò sciacquare l'asta dell'omogeneizzatore immergendola in una provetta contenente 5 ml di acetone diluito (4.2) e azionando lo strumento per qualche decina di secondi. L'acetone usato per il lavaggio va successivamente trasferito nella stessa provetta contenente il filtro. Poiché per ogni filtro è opportuno eseguire due lavaggi dell'asta con acetone, alla fine di queste operazioni il volume totale di solvente nella provetta da centrifuga sarà di 15 ml. Conservare la provetta al buio in ambiente fresco per 12-14 ore.

7.4 SEPARAZIONE DELL'ESTRATTO

Centrifugare la provetta per 10 minuti a 10000 giri. Terminata la centrifugazione trasferire il supernatante in una nuova provetta. Il volume di estratto sufficiente per la lettura spettrofotometrica è di circa 10 ml. In alternativa alla centrifugazione il contenuto della provetta può essere nuovamente filtrato su filtri in fibra di vetro utilizzando una siringa provvista di supporto per il filtro. Se viene seguita questa seconda procedura il filtro applicato alla siringa va sostituito ogni volta che si cambia il campione e la siringa va sciacquata con acetone.

7.5 LETTURA SPETTROFOTOMETRICA

Utilizzare acetone diluito (4.2) come riferimento (bianco). Trasferire l'estratto in una cuvetta da 4 cm di lunghezza. Effettuare una prima lettura a 663 nm (picco di assorbanza della clorofilla *a*) ed a 750 nm (usata per normalizzare la lettura a 663 nm). La lettura a 750 nm non dovrebbe superare un valore di assorbanza di 0,02 in una cuvetta da 4 cm: in caso contrario l'estratto è troppo torbido e dovrebbe essere nuovamente centrifugato o filtrato. Dopo la prima serie di letture aggiungere nella cuvetta 250 μl di acido cloridrico 0,1 N:(4.3).

Questa quantità di acido cloridrico è sufficiente a produrre nella cuvetta un pH di 2,6 - 2,8, ottimale per completare la reazione di acidificazione in tempi relativamente brevi (circa 5 minuti), evitando al contempo le conseguenze negative di una acidificazione troppo spinta. Trascorsi i 5 minuti necessari al completamento della reazione di acidificazione effettuare la seconda serie di letture: Poiché l'aggiunta dell'acido cloridrico determina un leggero spostamento del picco di assorbanza della clorofilla *a*, è bene eseguire le letture a 665 e 750 nm.

8. Espressione dei risultati

Esprimere il risultato in milligrammi al metro cubo

procedendo al calcolo della concentrazione nel modo seguente:

Normalizzare i valori di assorbanza dell'estratto per le letture a 750 nm, prima (E_1) e dopo l'acidificazione (E_2):

$$E_1 = E_{663} - E_{750}$$

$$E_2 = E_{ac665} - E_{ac750}$$

Calcolare la concentrazione della clorofilla a e dei feopigmenti utilizzando la seguente equazione:

$$\text{Clorofilla } a = (E_1 - E_2) \times (R / R - 1) \times [v / (l \times V \times \alpha)] \times 10^3$$

Feopigmenti = $1.7 \times E_2 \times [v / (l \times V \times \alpha)] \times 10^3$ - Clorofilla a dove:

$R = E_1/E_2$ per la clorofilla pura ($= 1.7$)

$\alpha =$ coefficiente di assorbanza specifico per la clorofilla a in acetone 90% ($= 91$)

$v =$ volume, in millilitri, di acetone

$l =$ lunghezza, in centimetri, della cuvetta

$V =$ volume, in litri, di acqua filtrato (l)

Semplificando le due equazioni diventano:

$$\text{Clorofilla } a = 26.7 \times (E_1 - E_2) \times v / (V \times l)$$

$$\text{Feopigmenti} = 18.7 \times E_2 \times v / (V \times l) - \text{Clorofilla } a$$

9. Precisione

Non sono attualmente disponibili i valori di ripetibilità e riproducibilità del metodo.

10. Resoconto di prova

Il resoconto di prova dovrà contenere le indicazioni seguenti:

- il riferimento al metodo impiegato;
- i dati per l'identificazione del campione;
- il risultato ed il modo di espressione usato;
- ogni altra informazione relativa ai dettagli operativi che possono aver influenzato il risultato.

Appendice A

(Informativo)

Bibliografia

A.1. LORENZEN C.J. - Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrophotometric equations. *Limnol.Oceanogr.*, **12**: 343-346. 1967.

A.2. MOED I.R., HALLEGRAEFF G. M. - Some problems in the estimation of chlorophyll a and phaeopigments from pre- and post-acidification spectrophotometric measurements. *Int.Rev. ges.Hydrobiol.*, **63**: 787-800. 1978.

A.3. NUSCH E.A. - Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Arch. Hydrobiol. Ergeb. Limnol.*, **14**: 14-36. 1980.

A.4. Standard methods for the examination of water and wastewater - APHA AWWA WPCF - 18th Edition APHA, Washington D.C., 1992.

Corso di Formazione *Criteri e metodologie per lo studio ed il controllo delle alghe in acque destinate alla potabilizzazione*.
AGAC - Reggio Emilia, 2-5 giugno 1997.

Fitoplancton: cenni di sistematica, identificazione e conteggio

Gianmarco Paris¹

Prelievo di campioni di fitoplancton e loro preparazione per il conteggio

STRATEGIE DI CAMPIONAMENTO

Il primo grande problema che si deve affrontare quando si pianifica una campagna di campionamento è l'estrema eterogeneità della distribuzione e dell'abbondanza del fitoplancton e, sostanzialmente, il quesito che ci si pone è *come e quanto* campionare un oggetto di studio costituito da un gruppo di organismi invisibili e in continuo movimento.

I popolamenti planctonici variano infatti sia nel tempo che nello spazio, verticalmente e orizzontalmente. La scala di variazione temporale è strettamente correlata al variare delle condizioni climatiche: ad esempio, un rapido aumento dell'insolazione e della temperatura dell'acqua può portare rapidi e profondi cambiamenti nella struttura e composizione della comunità fitoplanctonica. Anche le variazioni spaziali spesso si rivelano estremamente rapide: in un lago particolarmente esposto all'azione del vento, per esempio, si possono osservare movimenti orizzontali delle masse d'acqua che possono alterare marcatamente la distribuzione degli organismi planctonici, per loro natura così soggetti ai moti di turbolenza. La variabilità nella distribuzione verticale del plancton è pure un fattore molto importante; è ben noto infatti il fenomeno di migrazione verticale del plancton nell'arco delle 24 ore come conseguenza dell'alternanza del giorno e della notte.

Pertanto, il ricercatore che si accinge a studiare il popolamento fitoplanctonico di un corpo d'acqua si trova

immediatamente di fronte al dilemma di elaborare una strategia di campionamento che debba in qualche modo tenere conto delle variazioni spaziali e temporali della distribuzione e dell'abbondanza delle alghe. Benché sia possibile ricorrere a test statistici e piani di campionamento estremamente raffinati, ben di rado è possibile seguire fedelmente un piano di campionamento statisticamente inappuntabile. La necessità di ottenere risultati e informazioni in tempi ragionevoli, senza dedicare eccessive risorse alla fase di campionamento, determina nella maggior parte dei casi l'elaborazione di strategie di campionamento che sono più basate su conoscenze limnologiche di base e molto buon senso, che su complessi scenari di natura numerico-statistica.

In pratica, nella fase iniziale della ricerca che si decide di intraprendere, è buona norma dedicare anche una rilevante quantità di tempo e di lavoro per effettuare indagini preliminari volte alla stima, in un determinato ambiente, della variabilità della comunità fitoplanctonica nel tempo e nello spazio. Un modo abbastanza frequente di procedere in questo senso consiste nella comparazione di campioni raccolti in diversi momenti in un'unica stazione di campionamento e la comparazione di campioni raccolti in intervalli di tempo trascurabili in diverse stazioni di campionamento, non essendo possibile campionare un corpo d'acqua nello stesso istante in differenti stazioni. Questa comparazione fornirà un'idea approssimativa della variabilità spaziale e temporale della comunità oggetto di indagine e consentirà la calibrazione della strategia di campionamento più indicata per proseguire l'indagine limnologica.

Una volta individuata la stazione o le stazioni di campionamento e determinata la frequenza di raccolta dei campioni necessaria, rimane il quesito fondamentale di stabilire il numero di campioni da raccogliere in ciascuna

¹ Dipartimento di Scienze Ambientali, Università degli Studi di Parma

stazione per ogni uscita. Questo numero dipende sia dagli scopi dell'indagine stessa che dalla profondità massima dell'acqua in corrispondenza della stazione. Se l'unico scopo dell'indagine è esplorativo, ovvero se si è solamente interessati alla compilazione di una lista di specie, allora la raccolta di uno o due campioni *qualitativi* mediante l'impiego di un retino potrà essere soddisfacente.

Ben di rado però l'unico interesse viene ristretto ad un'indagine che si limiti alla composizione in specie. Nella maggior parte dei casi, infatti, il dato finale che più interessa è la stima quantitativa di densità e biovolume specifico e totale del fitoplancton. In questo caso si rende necessaria la raccolta di un certo numero di campioni *quantitativi*. L'eterogeneità spaziale del fitoplancton lungo la colonna d'acqua rende necessario il prelievo di più campioni lungo il profilo di massima profondità dell'acqua per tenere conto della variabilità della distribuzione verticale degli organismi.

Idealmente si dovrebbe avere una conoscenza dettagliata della batimetria del corpo d'acqua in esame; sulla base delle carte batimetriche, il bacino viene suddiviso in strati orizzontali e si procede alla raccolta di un campione per ognuno degli strati definiti e nella stessa stazione di campionamento. Il conteggio verrà effettuato su ogni campione al fine di determinare, per ogni strato batimetrico, densità e biovolume di ogni singola specie identificata. La superficie e la profondità di ogni strato batimetrico permettono di calcolarne il volume relativo che viene in seguito utilizzato per pesare rispetto al volume i valori di densità e biovolume relativi ad ogni strato. In mancanza della batimetria del bacino, è possibile calcolare medie pesate sulla profondità della stazione di campionamento in maniera del tutto analoga, raccogliendo sempre campioni a diverse profondità, ma pesando l'importanza dei parametri stimati sulle differenze di profondità tra un campione e l'altro. I dati che si ottengono in questo modo alla fine delle operazioni di conteggio consistono in semplici numeri che rappresentano la densità in cellule per litro di ogni specie identificata e riferita all'intero bacino in esame.

Tuttavia, la grande quantità di lavoro richiesta da questa procedura tende a scoraggiare chi deve effettuare i conteggi; si preferisce quindi integrare in laboratorio i campioni raccolti in un unico campione su cui verranno determinate le stime di densità e biovolume. Questa procedura determina un sensibile risparmio di tempo e costi, ma è bene tenere presente che il dato finale sarà ovviamente meno accurato rispetto al dato che si otterrebbe effettuando il conteggio su i singoli campioni. Qualora si decidesse di integrare i campioni raccolti a diverse profondità in un unico campione, è buona norma conservare anche un ridotto volume dei campioni originali nel caso si

dovesse in futuro ricontrollare la validità del conteggio effettuato sul campione integrato.

CAMPIONI QUALITATIVI

I campioni qualitativi vengono generalmente raccolti mediante l'impiego di reti libere da plancton, con apertura di maglia che può variare da 5 a 20 mm. La struttura di un retino da plancton è illustrata in Figura 1.

I campioni raccolti con reti libere hanno il pregio di contenere una gran quantità di materiale su cui condurre le indagini tassonomiche preliminari. Un campionamento effettuato con un retino permette infatti di filtrare una grande quantità di acqua concentrando gli organismi fitoplanctonici in un volume ridotto che viene raccolto in un piccolo bicchiere avvitato all'estremità della rete stessa. Il vantaggio consiste nel fatto che gli organismi presenti in natura con densità estremamente contenute, vengono così concentrati nel campione qualitativo con abbondanze decisamente superiori alla loro densità originale, facilitando notevolmente l'identificazione.

L'impiego di retini per la raccolta di campioni quantitativi si è invece dimostrato non affidabile per studi che mirino alla stima numerica della densità delle cellule algali. Studi quantitativi condotti su campioni raccolti con questa procedura, ne hanno dimostrato la scarsa affidabilità in quanto molte specie di piccola taglia riescono a sfuggire attraverso le maglie della rete, anche nel caso in cui le maglie siano particolarmente fini, introducendo così un errore nella procedura di campionamento che porta ad una distorta composizione specifica del campione. I campioni raccolti con retini non possono pertanto essere utilizzati per ottenere stime numeriche della densità di popolazione.

Le reti libere sono normalmente provviste di una corda metrata che indica la profondità alla quale viene progressivamente immersa la rete. Questo accorgimento si rivela particolarmente importante al fine di evitare che l'estremità terminale della rete in fase di discesa venga a contatto con il sedimento e risospenda così parte del sedimento stesso che potrebbe intorbidire eccessivamente il campione.

A seconda degli obiettivi del campionamento, la rete può essere calata e recuperata dal fondo del corpo d'acqua alla superficie per due o tre volte, qualora l'interesse sia rivolto alla popolazione algale distribuita sull'intera colonna d'acqua. Se invece si desidera prelevare campioni che siano unicamente rappresentativi del popolamento dei primi strati fotici, è possibile immergere completamente il retino sotto il pelo dell'acqua e trascinare la rete orizzontalmente camminando lungo le rive o, se in barca, procedendo orizzontalmente sfruttando il movimento della barca stessa.

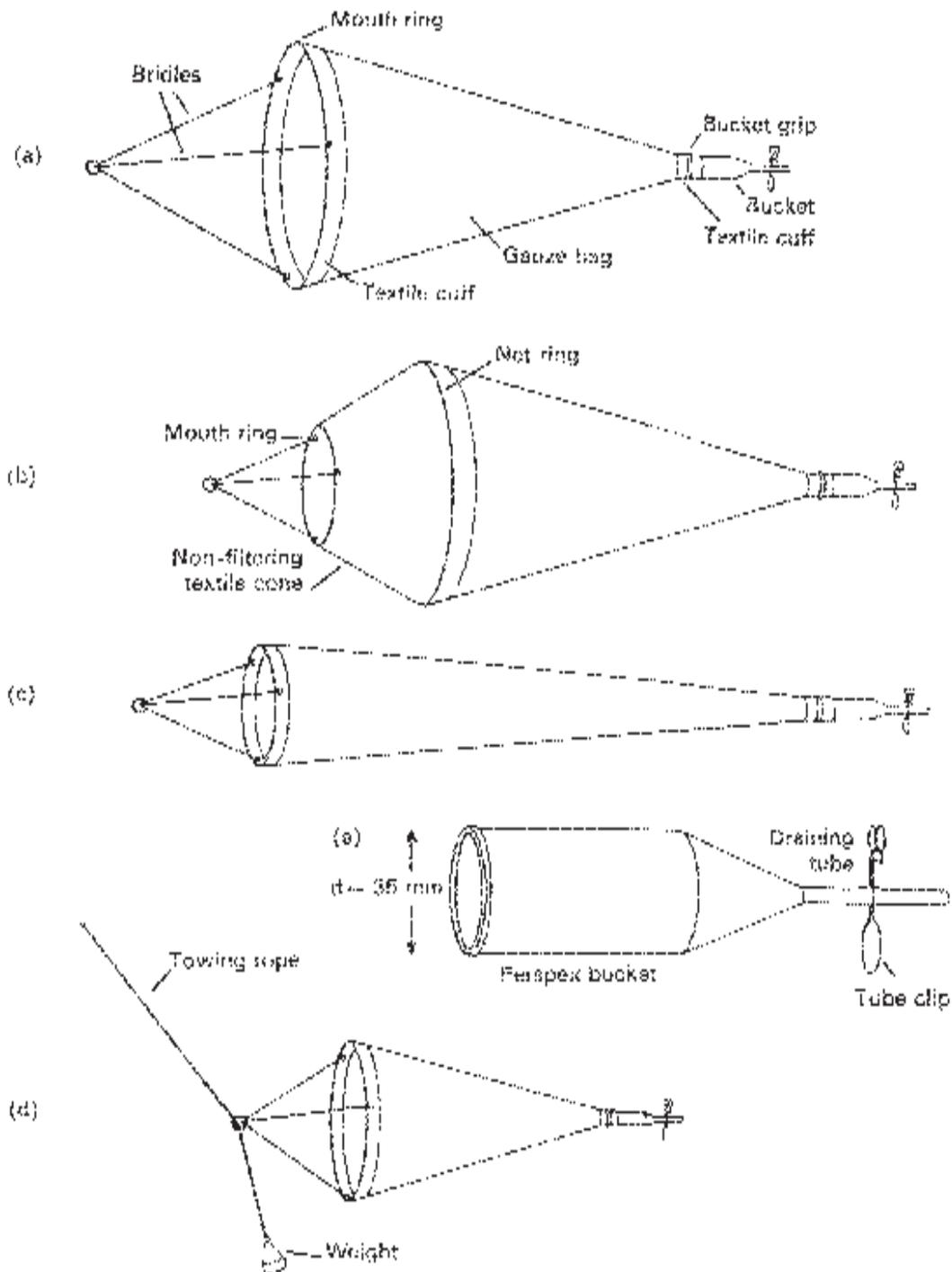


Fig. 1. Net with accessories: (a) Standard net. The length of standard nets is normally 2 to 3 times the mouth diameter. (b) Fine-mesh net with reduced mouth diameter. A tapering non-filtering textile sleeve is inserted between the large net ring and the smaller mouth ring. (c) Extra long, fine-mesh standard net. (d) Standard net attached to the towing rope, with the weight in front of the mouth. (e) Plankton collecting bucket made of clear perspex material. Diameter of the bucket is 30 to 100 mm (here 35 mm; length of the cylindrical part is 50 to 200 mm (here 65 mm). The bucket is attached to the net tail by textile tape or a specially made metal grip.

CAMPIONI QUANTITATIVI

I campioni quantitativi vengono utilizzati per la stima della densità fitoplanctonica. Il prelievo di questi campioni viene normalmente condotto utilizzando bottiglie di profondità, di capacità variabile tra 1 e 5 litri, che vengono immerse aperte e, raggiunta la profondità alla quale si desidera raccogliere il campione, richiuse attraverso un sistema a distanza che generalmente è costituito da un messaggero che scorre lungo la corda e fa scattare il meccanismo di chiusura della bottiglia. Questo consente il prelievo selettivo di acqua alla profondità voluta, senza che il campione che si raccoglie entri in contatto con gli strati d'acqua a profondità diversa da quella voluta.

Sono in commercio numerosi tipi di bottiglie anche se in quasi tutti i centri di ricerca limnologica è prassi comune costruirsi "in casa" i campionatori. Alcuni esempi di queste bottiglie sono illustrati in Figura 2. I materiali con cui queste bottiglie vengono costruite sono vetro o plexiglas per il corpo cilindrico della bottiglia, mentre la struttura è generalmente di acciaio.

Per raccogliere il campione, la bottiglia viene immersa fino alla profondità voluta, viene chiusa lanciando il messaggero lungo la corda e, non appena si avverte nella corda la vibrazione provocata dal meccanismo di chiusura, si procede al recupero della bottiglia mediante la corda metrata. Generalmente il volume di acqua raccolta dal campionatore è troppo grande per essere utilizzato come campione, quindi si deve prelevare dalla bottiglia un'aliquota di acqua.

Una volta recuperata la bottiglia si procede immediatamente all'estrazione di un sottocampione, generalmente di volume che varia tra 100 e 200 ml. Le bottiglie di profondità hanno infatti all'estremità inferiore un piccolo rubinetto che consente l'estrazione del sottocampione che viene versato direttamente in flaconi di vetro Duran o Pyrex. I tappi a vite di questi flaconi devono essere muniti di un sottotappo fatto con materiali totalmente inerti, per impedire che l'agente fissativo volatilizzandosi possa concentrarsi nel sottotappo stesso diminuendo così la sua concentrazione nel campione.

Non appena si è estratto il sottocampione dalla bottiglia, è buona norma procedere immediatamente alla fissazione. Molto frequentemente, infatti, la raccolta del campione causa alle alghe un forte shock (dovuto principalmente all'esposizione ad un'intensità di luce solare decisamente superiore a quella che riesce a penetrare negli strati d'acqua dove questi organismi vivono) che può causare profonde modificazioni della morfologia cellulare e in certi casi anche la perdita di strutture, quali i flagelli, che sono importanti caratteri sistematici. Le procedure che devono essere effettuate non appena si è raccolto il campione d'acqua, sono il passaggio più critico che

determinano la validità stessa del campione.

Non appena effettuato il prelievo d'acqua con la bottiglia, è estremamente importante ridurre al minimo i possibili cambiamenti qualitativi e quantitativi che possono verificarsi nella composizione del campione per non ottenere distorsioni significative della rappresentazione della popolazione in esame. Questo viene raggiunto o procedendo immediatamente alla fissazione del campione, se si intende conservare il campione per un lungo periodo, oppure mantenendo il campione in condizioni tali per cui le attività metaboliche siano mantenute ad un livello minimo fino a quando sarà possibile analizzare il campione o allestire colture in laboratorio, se questo era negli scopi del campionamento.

FISSAZIONE DEI CAMPIONI

Un campione fissato ha il pregio di poter essere analizzato anche molto tempo dopo il suo prelievo. Inoltre, un campione fissato mantiene praticamente inalterate le sue proprietà per vari anni se mantenuto in condizioni opportune, diventando così un'importante banca dati a cui sarà possibile ricorrere a distanza di tempo anche da parte di persone diverse. Come accennato prima, se si intende fissare il campione prelevato, la fissazione deve essere effettuata nel più breve tempo possibile per non alterare il campione.

Benché in letteratura siano descritti vari agenti fissativi, in pratica solo pochi sono stati usati per un intervallo di tempo sufficientemente lungo da poter costituire una valida base di esperienza. I principali agenti fissativi sono la formaldeide e una soluzione di iodio e potassio ioduro (soluzione di Lugol) che possono essere utilizzati sia da soli che combinati con altri composti a seconda che si desideri ottenere soluzioni finali acide o alcaline. Un dettagliato protocollo di preparazione delle due soluzioni è riportato in appendice (Phytoplankton Manual, A. Sournia editor, UNESCO, 1978, Capitolo 4: Preservation and Storage).

In assoluto non si può affermare che un metodo sia migliore dell'altro. Generalmente si può affermare, sulla base di anni di esperienza, che l'impiego della soluzione di Lugol è preferibile per gli ambienti d'acqua dolce mentre la formaldeide è più indicata per acque salate e salmastre. E' buona norma tuttavia provare a fissare qualche campione con entrambi i fissativi e, a intervalli regolari di tempo (es. un mese), fare un confronto dei campioni per riuscire ad individuare l'agente più indicato per l'ambiente in esame.

CAMPIONI NON FISSATI

Può rendersi necessario mantenere il campione "vivo", ovvero senza aggiungere alcun agente fissativo, tutte le

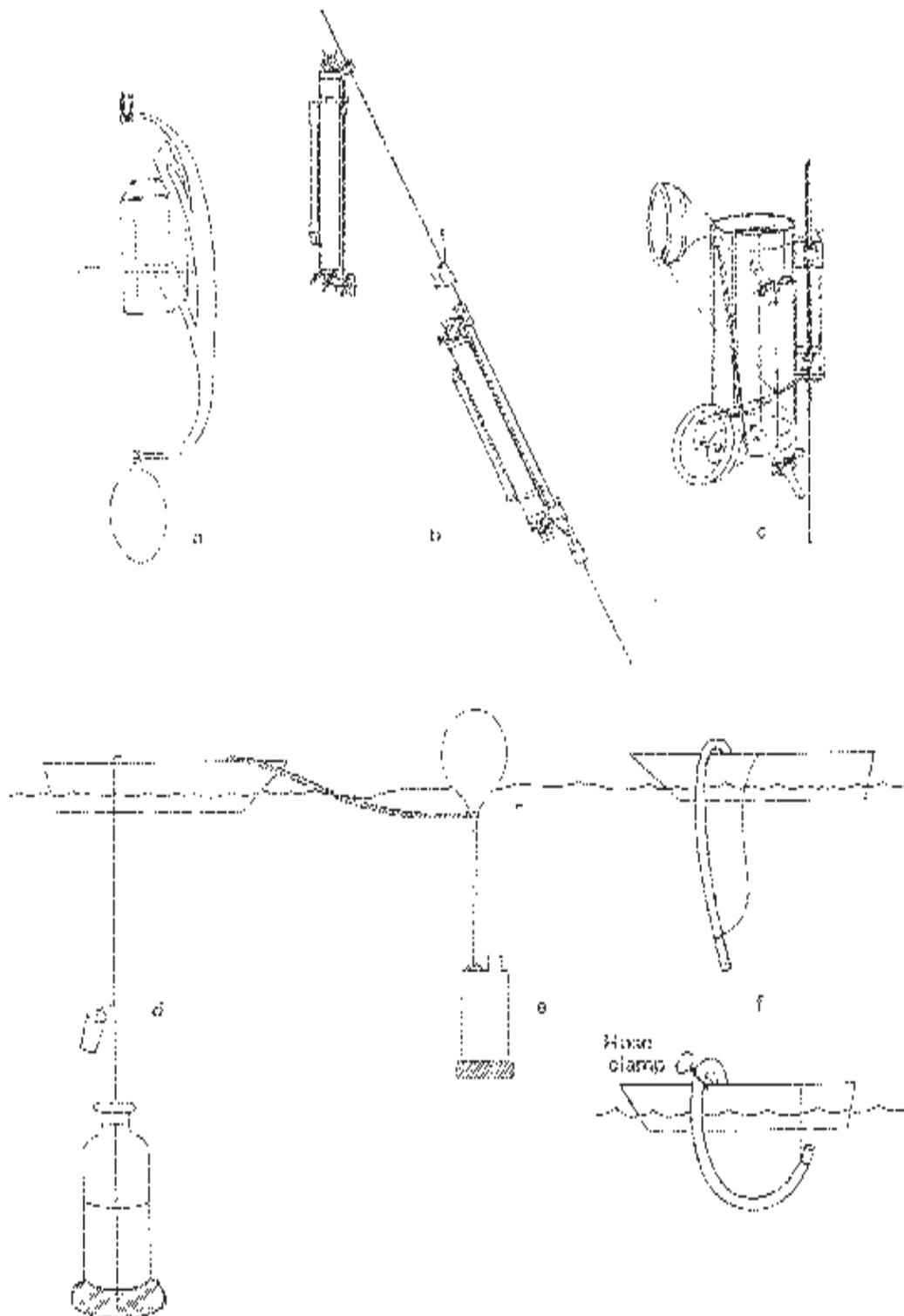


Fig. 2. Water-bottle designs: (a) historical sampler (Hook, 1666); (b) reversing bottle (Nansen bottle); (c) non-reversing bottle (Van Dorn bottle); (d) 'snatch' sampler; (f) integrating sampler.

volte che si inizia a studiare un ambiente che non si è analizzato precedentemente. Per fini di identificazione, infatti, molto frequentemente risulta utile avere a disposizione, oltre ai normali campioni fissati, anche campioni in cui gli organismi algali non siano stati esposti ad agenti chimici che in molti casi deformano la morfologia della cellula, rendendo l'identificazione più complessa.

I principali fattori che causano il rapido decadimento delle cellule sono un aumento della temperatura dell'acqua, l'esposizione del campione ad un'intensità luminosa eccessiva e la rapida diminuzione della concentrazione dell'ossigeno disciolto provocata dall'attività batterica. Un campione vivo appena raccolto va pertanto collocato in borse termiche richiudibili e contenenti elementi refrigeranti, avendo avuto l'accortezza di riempire il campione fino all'orlo non lasciando aria nel contenitore, per ridurre al minimo le vibrazioni dovute al trasporto.

Non appena arrivati in laboratorio, il campione va aperto, si deve eliminare una piccola quantità di acqua per aumentare la superficie di scambio tra acqua ed aria e va collocato in frigorifero a temperatura tra 2 e 5 gradi centigradi. La bassa temperatura contribuirà a mantenere al minimo l'attività fisiologica degli organismi presenti, rallentando la divisione cellulare batterica e il consumo di ossigeno. Si deve tenere presente che pur seguendo tutte le possibili precauzioni, la decomposizione prenderà luogo molto rapidamente (generalmente le specie algali più fragili muoiono entro un'ora dalla raccolta del campione), soprattutto se il campione è stato raccolto mediante l'impiego di rete libera, poiché i campioni raccolti con questa metodologia sono estremamente più concentrati dei campioni raccolti con bottiglie di profondità.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE PER IDENTIFICAZIONE E CONTEGGIO

Una volta arrivati in laboratorio il campione è pronto per la preparazione finale. Il conteggio infatti non verrà eseguito sull'intero sottocampione raccolto, ma solamente su una sua aliquota. La prima considerazione che occorre fare è che tra la raccolta del campione iniziale e la determinazione della stima dei parametri di densità e del biovolume, intercorrono numerosi passaggi e ognuno di questi è una possibile sorgente di errore. Fortunatamente, questi errori possono essere ridotti o eliminati attenendosi a protocolli standardizzati, ma si deve tenere presente che l'errore che deriva dall'estrazione di un sottocampione da un campione non può essere eliminato del tutto.

Il primo livello di sottocampionamento si ha quando dal campionatore si preleva un'aliquota di acqua; in seguito, una seconda fonte di errore di questo tipo è l'integrazione in laboratorio di campioni raccolti a differenti profondità in un unico campione rappresentativo del popolamento lungo l'intera colonna d'acqua. Il successi-

vo sottocampionamento viene effettuato sul campione finale quando ci si prepara ad effettuare il conteggio. Ancora una volta, infatti, non è quasi mai possibile effettuare un conteggio su 100 ml di campione, a meno che non si stia analizzando un ambiente estremamente oligotrofico.

Il più delle volte, dal campione finale che si è ottenuto si deve estrarre una aliquota che può essere di volume variabile, generalmente tra 5 e 20 ml. Per questo si deve ricorrere a metodi per concentrare il fitoplancton. Tra le varie metodologie di preparazione del campione e di conteggio, la più utilizzata è senza dubbio quella che ricorre all'uso del microscopio rovesciato, da cui il metodo prende il nome (in letteratura si può trovare indifferentemente 'metodo di Utermohl', metodo del 'microscopio rovesciato' e 'metodo di sedimentazione').

Cenni di sistematica del fitoplancton

TERMINOLOGIA

Il primo utilizzo del termine *plancton* è attribuito al biologo Viktor Hensen nel 1887. Hensen ha definito con questo termine tutte le particelle di natura organica che galleggiano liberamente ed involontariamente in acque aperte, escludendo il sedimento e le zone littorali. La dipendenza del plancton dai movimenti delle masse d'acqua è direttamente implicita nel suo nome, in quanto il termine *plancton* viene dal termine greco *πλαγκτος*, che letteralmente significa 'sbattuto in qua e là'. Il termine esclude direttamente l'appartenenza a questa categoria di tutti quegli organismi che sono provvisti di moto proprio e in grado di regolare la propria distribuzione.

La definizione di Hensen inoltre non esclude specificamente tutte le particelle organiche non viventi, che sono invece escluse nell'accezione corrente del termine. Ci sono due fondamentali critiche alla definizione data da Hensen.

La prima consiste nel fatto che non è vero che il plancton galleggia; solo pochi organismi planctonici infatti galleggiano costantemente, mentre la maggior parte di essi sono più densi dell'acqua in cui vivono. L'adattamento specifico degli organismi planctonici all'ambiente pelagico sembra più diretto allo sviluppo di proprietà che permettono una prolungata permanenza in sospensione. Inoltre, in molte circostanze, è un beneficio per questi organismi essere in grado di evitare lo strato d'acqua immediatamente al di sotto del pelo dell'acqua per cui un tasso di sedimentazione positivo si dimostra evolutivamente vantaggioso.

Queste considerazioni portano direttamente alla seconda critica, che deriva dal fatto che molti organismi planctonici non sono confinati nella zona pelagica, ma

spendono sostanziali periodi del loro ciclo vitale in habitat litorali o del sedimento, essendo quindi planctonici solo facoltativamente; per questa ragione questi organismi vengono definiti anche *meroplanctonici*.

È forse più corretto definire con il termine plancton la comunità di piante e animali adattata a vivere in sospensione sia in mare che in acqua dolce e che è soggetta a movimenti passivi indotti da correnti e venti. Nell'accezione più comune del termine, la frazione animale viene definita *zooplancton*, mentre quella vegetale viene indicata come *fitoplancton*, anche se la linea di confine non è ancora del tutto ben definita. Botanici e zoologi, infatti, continuano a discutere dove collocare organismi quali i dinoflagellati, che sono simultaneamente autotrofi (in grado cioè di elaborare il proprio nutrimento dalla sostanza inorganica dissolta in acqua), fagotrofici (in grado di ingerire altri organismi o parti di essi) ed estremamente mobili.

Può capitare, leggendo la letteratura, di incontrare numerose sottodivisioni del termine plancton. Vale quindi la pena di esaminarne alcune. Un primo livello di suddivisione è quello di cercare di distinguere il plancton lacustre (*limnoplacton*) da quello delle pozze (*heleoplacton*) e da quello dei fiumi (*potamoplacton*). Benché sia vero che le associazioni planctoniche di questi tre diversi habitat mostrino elementi ben distinti, è tuttavia altrettanto vero che vi sono specie comuni tra due o tra tutti e tre questi differenti ambienti, il che fa sì che questa sotto-classificazione possa avere soltanto un carattere estremamente generico e poco utilizzabile, soprattutto considerando le scarse differenze che ci sono tra i primi due ambienti, entrambi caratterizzati da acque ferme.

Molti autori hanno inoltre introdotto classificazioni basate sulla taglia degli organismi. È frequente incontrare termini come *nanoplacton* o *ultraplacton* oppure anche *microalghe*, categorie spesso utilizzate per separare gli organismi ad esse appartenenti dalle forme di dimensioni maggiori, comunemente attribuiti alla categoria del *netplacton*, letteralmente plancton da rete, entro cui venivano raggruppati tutti gli organismi che venivano catturati con reti libere di una determinata apertura di maglia. In particolare, la categoria indicata con il termine nanoplacton ha subito varie revisioni nel corso degli anni, rendendone difficile l'impiego: per Pavoni (1963) il limite dimensionale per definire il nanoplacton era $< 30 \mu\text{m}$; Nauwerck (1963) ha collocato il limite a $80 \mu\text{m}$, Kalff (1972) a $64 \mu\text{m}$, Gliwicz e Hillbricht-Ilkowska (1972) a $50 \mu\text{m}$, mentre Manny (1972) e Gelin (1975) hanno adottato una soglia limite di $10 \mu\text{m}$.

Altri termini frequentemente incontrati in letteratura sono *microplacton*, che corrisponde approssimativamente a nanoplacton; *mesoplacton*, spesso usato come sinonimo

di netplacton; *macroplacton* o *megaloplacton* o anche *megaplacton*, che include angiosperme e pteridofite acquatiche che galleggiano sulla superficie dell'acqua quali *Wolffia*, *Lemna*, *Hydrocharis* ed *Eichornia*. Quest'ultima categoria in particolare differisce completamente dalla definizione più utilizzata di plancton, in quanto queste ultime specie citate, benché galleggino per gran parte del loro ciclo vitale, quasi mai vengono ritrovate in sospensione. L'utilizzo di queste ultime categorie, pertanto, dovrebbe essere accuratamente evitato, dal momento che i termini suggeriti possono portare ad erronee interpretazioni.

CARATTERISTICHE GENERALI DELLE ALGHE PLANCTONICHE

Il fitoplancton di acqua dolce comprende organismi di diversi gruppi algali e batterici, oltre agli stadi infettivi di certi funghi. Di questi, senza dubbio la frazione più importante ed abbondante è costituita dalle alghe, anche se l'importanza della biomassa batterica non è certamente trascurabile, in quanto il loro contributo è fondamentale nel funzionamento degli ecosistemi acquatici. L'attività batterica infatti funge da mediatore in molti dei processi chimici che caratterizzano gli habitat acquatici, basti pensare ai cicli biogeochimici dei principali elementi chimici.

Le alghe si presentano all'osservatore in tantissime forme ed organizzazioni differenti. Si possono trovare le forme più semplici unicellulari e prive di meccanismi di movimento, ma anche forme coloniali molto più complesse che presentano struttura tridimensionale. La maggior parte delle alghe hanno dimensioni microscopiche e non possono essere osservate ad occhio nudo, ma ci sono anche molte specie che crescendo in colonie, possono formare ammassi di dimensioni ragguardevoli e possono essere individuate ad occhio nudo. Fondamentalmente si conoscono due tipi di organizzazioni coloniali. In alcune specie la colonia è composta da un indefinito numero di cellule, si accresce per continue divisioni cellulari e si riproduce per frammentazione. Un secondo tipo è invece costituito da un numero fisso di cellule, molto spesso quattro o uno dei suoi multipli, che viene chiamato *cenobio*. Specie diverse che formano cenobi, hanno differenti posizioni delle cellule all'interno del cenobio.

Tradizionalmente l'identificazione e la classificazione delle alghe planctoniche è stata condotta mediante l'individuazione al microscopio ottico di marcate differenze nelle caratteristiche morfologiche delle cellule tra una specie e l'altra. In tempi più recenti, il progredire della microscopia elettronica ha notevolmente incrementato la possibilità di osservare differenziazioni ad un livello sempre più accurato: nel caso specifico delle diatomee, per esempio, la classificazione delle specie è stata

profondamente revisionata grazie all'analisi fine della struttura del *frustulo*, la teca silicea che racchiude gli organismi appartenenti a questa divisione. Anche la biochimica, la citologia, lo studio delle life-histories, contribuiscono sensibilmente ad una comprensione più globale di questi organismi, permettendo una classificazione più accurata e coerente. Le differenze che si osservano tra i grandi gruppi algali a livello di morfologia esterna delle cellule sono solo uno dei modi di valutare la diversità delle alghe. Tuttavia, nella maggior parte dei casi l'identificazione delle alghe viene ancora condotta mediante l'uso di chiavi dicotomiche che si basano sull'osservazione della morfologia cellulare al microscopio ottico, in quanto sono ancora pochi i laboratori dove è possibile integrare le osservazioni tradizionali con le nuove tecniche a disposizione.

La nomenclatura delle alghe è continuamente sottoposta a revisioni e cambiamenti e praticamente non esiste una classificazione universalmente accettata; si possono pertanto trovare in letteratura varie liste che impiegano differenti termini soprattutto per individuare i livelli di organizzazione superiori. Le più generali regole di nomenclatura comunemente accettate sono riportate di seguito:

Livello di organizzazione	Suffisso
Grande divisione	phyta
Classe	phyceae
Ordine	ales
Famiglia	aceae
Genere	normalmente un nome greco o latino
Specie	normalmente un nome latino
Varietà	normalmente un nome latino

Come è stato accennato prima, sono molte le differenze tra i diversi grandi gruppi algali da un punto di vista biochimico. Diversi gruppi hanno infatti diversi tipi di clorofilla, differenti sostanze di riserva che vengono sintetizzate come fonte di nutrimento in seguito al processo fotosintetico, differenti pigmenti fotosintetici, differente composizione biochimica della parete cellulare.

Questa serie di motivazioni fa sì che la tassonomia algale sia in costante revisione ed aggiornamento. A questo va anche aggiunto che diversi Autori non concordano affatto sulla posizione sistematica dei livelli di organizzazione superiori, in modo particolare sulla posizione e nomenclatura di Classi e Ordini. Questo contribuisce sostanzialmente a confondere le idee di coloro che per diletto o necessità si avvicinano a questo settore.

Lo schema riportato di seguito, deve quindi essere considerato solo uno dei tanti che si trovano in letteratura. In esso vengono riportati i nomi delle grandi divisioni con, per ogni divisione, una breve descrizione delle principali caratteristiche degli organismi ad essa appartenenti e le varie sottodivisioni in Classi e Ordini; per ogni Ordine sono inoltre elencati i nomi dei Generi più frequenti.

PROCARIOTI CYANOPHYTA

Sono alghe procariote a cui mancano compartimentazioni cellulari quali nucleo e plastidi racchiusi da membrana cellulare; la sostanza di riserva è costituita da granuli di poliglucosio. Hanno unicamente clorofilla-*a*. Tra botanici e batteriologi vi sono ancora dispute molto accese per determinare se questi organismi vadano considerati come alghe o come batteri. Vengono riunite in una Classe e in due Ordini.

CLASSE Cyanophyceae

ORDINE: CHROOCOCCALES

Alghe solitarie o riunite in colonie ad organizzazione cocciale.

Generi più frequenti: *Aphanocapsa*, *Aphanotece*, *Coleosphaerium*, *Gloeocapsa*, *Gloeotheca*, *Gomphosphaeria*, *Microcystis*, *Synechococcus*

ORDINE: NOSTOCALES

Organismi che formano colonie filamentose, in grado di formare eterocisti e acineti.

Generi più frequenti: *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Aphanizomenon*, *Gloeotrichia*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Pseudanabaena*, *Spirulina*, *Trichodesmium*

EUCARIOTI

Le alghe eucariote presentano il nucleo cellulare e i pigmenti sono localizzati all'interno dei plastidi, o cromatofori. Sono suddivise in otto phyla, di cui due, Rhodophyta e Phaeophyta, non vengono ritrovate negli ambienti d'acqua dolce.

CRYPTOPHYTA

Alghe prive di parete cellulare, biflagellate, con uno o due plastidi di grandi dimensioni; divisione longitudinale; la riproduzione sessuale non è conosciuta all'interno di questo phylum e la sostanza di riserva accumulata è l'amido. Presentano clorofilla-*a* e clorofilla-*c*. Sono suddivise in una sola Classe ed in un solo Ordine.

CLASSE: Cryptophyceae

ORDINE: CRYPTOMONADALES

Generi più frequenti: *Chilomonas*, *Chroomonas*, *Cryptomonas*, *Rhodomonas*PYRROPHYTA (**Dinoflagellate**)

Alghe unicellulari flagellate, raramente coloniali; possiedono due flagelli di lunghezza e orientamento differenti; alcune specie sono prive di parete cellulare, in altre la parete cellulare è in cellulosa, spesso scolpita in placche poligonali perforate. Presentano numerosi plastidi a forma di disco o incolore; il prodotto di assimilazione è l'amido e in alcuni casi è costituito da oli insaturi; clorofilla-*a* e clorofilla-*c*. Sono raggruppate in due Classi.

CLASSE: Dinophyceae

Cellule biflagellate, con i due flagelli collocati nel solco trasversale e longitudinale. Le specie planctoniche sono raggruppate in un unico Ordine.

ORDINE: PERIDINIALES

Generi più frequenti: *Ceratium*, *Glenodinium*, *Gonyaulax*, *Gymnodinium*, *Peridinium*, *Woloszynskia*CLASSE: Adinophyceae (= Desmophyceae)

Cellule senza parete cellulare o con parete cellulare in cellulosa composta da due metà dalla forma simile al vetro di orologio. Le specie d'acqua dolce sono rappresentate da un solo Ordine.

ORDINE: PROROCENTRALES

Generi più frequenti: *Exuviella*, *Pyrocystis*

RAPHIDOPHYTA

Cellule con un solo flagello con parete cellulare di cellulosa. Hanno numerosi plastidi e il prodotto di assimilazione è costituito da lipidi. Vengono suddivise in una Classe e un Ordine.

CLASSE: Raphidophyceae

ORDINE: RAPHIDOMONADALES (= CHLOROMONADALES)

Generi più frequenti: *Gonyostomum*

CHRYSOPHYTA

Alghe sia unicellulari che coloniali, con colonie filamentose e sifonali, con preponderanza di pigmenti carotenoidi. La parete cellulare è pectinica, spesso divisa in due parti, qualche volta impregnata di silice (particolarmente nelle diatomee); i prodotti di assimilazione sono crisola-

minarina, leucosina, grassi ma mai amido. Hanno clorofilla-*a* e clorofilla-*c*. Sono suddivise in cinque Classi, tutte con specie planctoniche.

CLASSE: Chrysophyceae

Principalmente alghe unicellulari o coloniali; hanno generalmente due plastidi marroni; la parete cellulare è silicea o calcificata; hanno riproduzione sessuata isogametica. Le specie planctoniche d'acqua dolce sono raggruppate in tre Ordini su un totale di undici Ordini appartenenti a questa Classe.

ORDINE: OCHROMONADALES (= CHRYSOMONADALES)

Crisoficee unicellulari e coloniali, senza una rigida parete cellulare, ma frequentemente ricoperte di scaglie silicee.

Generi più frequenti: *Dinobryon*, *Mallomonas*, *Synura*, *Uroglena*

ORDINE: CHROMULINALES

Generalmente biflagellate unicellulari senza una parete cellulare rigida.

Generi più frequenti: *Chromulina*, *Chrysococcus*, *Ke-phyrion*, *Pseudopedinella*, *Stenocalyx*

ORDINE: STICHOGLOEALLES

Alghe palmelloidi coloniali.

Generi più frequenti: *Stichogloea*CLASSE: Haptophyceae

Principalmente alghe unicellulari flagellate, la maggior parte delle quali possiede un aptonema rigido. Sono per la maggior parte alghe marine (a questa Classe appartengono i coccolitoforidi).

Generi più frequenti: *Chrysochromulina*, *Prymnesium*CLASSE: Craspedophyceae

Sono per lo più alghe epifittiche. Sono divise in un unico Ordine.

ORDINE: MONOSIGALES

Generi più frequenti: *Stylochomonas*CLASSE: Bacillariophyceae (Diatomee)

Alghe unicellulari e coloniali, generalmente con numerosi plastidi discoidi. La parete cellulare è fatta di cellulosa o silice ed è divisa in due metà (valve). Il prodotto di assimilazione sono oli insaturi; non hanno mai flagelli. Hanno clorofilla-*a* e clorofilla-*c*. Sono raggruppate in due Ordini.

ORDINE: BIDDULPHIALES

Sono diatomee centriche, qualche volta formanti colonie filamentose per adesione delle superfici valvari.

Generi più frequenti: *Attheya*, *Cyclotella*, *Melosira*, *Rhizosolenia*, *Stephanodiscus*

ORDINE: BACILLARIALES

Diatomee pennate, qualche volta forma colonie o cenobi.

Generi più frequenti: *Asterionella*, *Diatoma*, *Fragilaria*, *Nitzschia*, *Surirella*, *Synedra*, *Tabellaria*

CLASSE: Xanthophyceae

Alghe unicellulari, coloniali ad organizzazione filamentosa o sifonale. Gli organismi mobili hanno generalmente due flagelli di diversa lunghezza. I plastidi hanno forma a disco ed il prodotto di assimilazione sono lipidi. Hanno clorofilla-*a* e clorofilla-*e*. Dei cinque Ordini in cui è divisa la Classe, solamente due hanno specie d'acqua dolce.

ORDINE: MISCHOCOCCALES (= HETEROCOCCALES)

Alghe unicellulari o coloniali dotate di parete cellulare rigida.

Generi più frequenti: *Goniochloris*, *Monodus*, *Nephrodiella*, *Ophiocytium*

ORDINE: TRIBONEMATALES (= HETEROTRICHALES)

Alghe che formano colonie filamentose.

Generi più frequenti: *Tribonema*

EUGLENOPHYTA

Alghe flagellate unicellulari con due flagelli, uno lungo e uno molto corto. Hanno numerosi ed irregolari plastidi e si riproducono per scissione longitudinale. I prodotti di assimilazione sono *paramylon* (un particolare carboidrato affine all'amido) e oli insaturi. Hanno clorofilla-*a* e clorofilla-*b*. Sono raggruppate in un'unica Classe e un Ordine (un secondo Ordine, *Peranemales*, è stato collocato nei Protozoi).

CLASSE: Euglenophyceae

ORDINE: EUGLENALES

Generi più frequenti: *Euglena*, *Lepocinclis*, *Phacus*, *Trachelomonas*

CHLOROPHYTA

Alghe di colore verde sia unicellulari che coloniali filamentose, sifonali e pseudoparenchimatice. Hanno

uno o più plastidi. Il prodotto di assimilazione è l'amido. Presentano clorofilla-*a* e clorofilla-*c*. I sistematici non sono concordi sul numero e l'estensione delle Classi, pertanto qui di seguito vengono riportati unicamente i differenti Ordini.

ORDINE: PEDINOMONADALES

Sono un piccolo gruppo di alghe unicellulari biflagellate, con plastidi ben distinti.

Generi più frequenti: *Pedinomonas*

ORDINE: PYRAMIMONADALES

Principalmente alghe dotate di movimento unicellulari con due o quattro flagelli; le forme non mobili formano zoospore simili come struttura.

Generi più frequenti: *Pyramimonas*

ORDINE: VOLVOCALES

Alghe unicellulari o coloniali biflagellate.

Generi più frequenti: *Carteria*, *Chlamydomonas*, *Eudorina*, *Gonium*, *Pandorina*, *Phacotus*, *Volvox*

ORDINE: TETRASPORALES

Alghe non flagellate raggruppate in colonie mucillaginose

Generi più frequenti: *Gloeocystis*, *Gemmellicystis* (= *Pseudosphaerocystis*), *Paulschulzia*

ORDINE: CHLOROCOCCALES

Alghe non flagellate, unicellulari ma anche coloniali (a volte mucillaginose)

Generi più frequenti: *Ankistrodesmus*, *Ankyra*, *Botryococcus*, *Chlorella*, *Coelastrum*, *Coenococcus*, *Crucigenia*, *Dictyosphaerium*, *Elakatothrix*, *Kirchneriella*, *Lagerheimia*, *Monoraphidium*, *Oocystis*, *Pediastrum*, *Quadrigula*, *Radiococcus*, *Scenedesmus*, *Selenastrum*, *Sphaerocystis*, *Tetrastrum*, *Tetraedron*

ORDINE: ULOTRICHALES

Alghe filamentose per lo più non ramificate con qualche genere unicellulare.

Generi più frequenti: *Geminella*, *Raphidonema*, *Stichococcus*

ORDINE: ZYGNEMATALES

Alghe verdi unicellulari e filamentose che si riproducono per coniugazione

Generi più frequenti: *Arthrodesmus*, *Closterium*, *Cosmarium*, *Euastrum*, *Spondylosium*, *Staurastrum*, *Staurodesmus*, *Xanthidium*

Bibliografia suggerita**Per la parte riguardante i metodi di campionamento e conteggio:**

SOURNIA, A. Editor- 1978. *Phytoplankton Manual*. Paris, UNESCO.

Introduzione alla fisiologia e all'ecologia del fitoplancton:

REYNOLDS, C. S.- 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge, Cambridge University Press.

HARRIS, G. P.- 1986. *Phytoplankton ecology. Structure, function and fluctuation*. New York, Chapman and Hall.

Introduzione alla sistematica e chiavi dicotomiche per alcune specie o generi:

BELLINGER, E. G.- 1992. *A key to common algae*. London, The Institution of Water and Environmental Management.

PRESCOTT, G. W.- 1982. *Algae of the western great lakes area*. Koenigstein, Otto Koeltz Science Publishers.

BOURRELLY, P.- 1981. *Les algues d'eau douce. Les algues jaunes et brunes*. Paris, Boubée.

BOURRELLY, P.- 1985. *Les algues d'eau douce. Les algues bleues et rouges*. Paris, Boubée.

BOURRELLY, P.- 1988. *Complémentes. Les algues d'eau douce. Les algues vertes*. Paris, Boubée.

BOURRELLY, P.- 1990. *Les algues d'eau douce. Les algues vertes*. Paris, Boubée.

Chiavi tassonomiche complete:

HUBER-PESTALOZZI, G.- 1938. *Das Phytoplankton des Süßwassers: Allgemeiner Teil. Blaualgen. Bakterien. Pilze*. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller).

HUBER-PESTALOZZI, G.- 1941. *Das Phytoplankton des Süßwassers: Chrysophyceen. Farblose Flagellaten Heterokonten*. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller).

HUBER-PESTALOZZI, G.- 1942. *Das Phytoplankton des Süßwassers: Diatomeen*. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller).

HUBER-PESTALOZZI, G.- 1955. *Das Phytoplankton des Süßwassers: Euglenophyceen*. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller).

HUBER-PESTALOZZI, G.- 1961. *Das Phytoplankton des Süßwassers: Chlorophyceae (Grünalgen). Ordnung: Volvocales*. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller).

FOTT, B.- 1968. *Das Phytoplankton des Süßwassers: Cryptophyceae, Chloromonadophyceae, Dinophyceae*. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller).

FOTT, B.- 1972. *Das Phytoplankton des Süßwassers: Chlorophyceae (Grünalgen). Ordnung: Tetrasporales*. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller).

FÖRSTER, V. K.- 1982. *Das Phytoplankton des Süßwassers: Conjugatophyceae. Zygnematales und Desmidiiales (excl. Zygnemataceae)*. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller).

KOMÁREK, J. and B. FOTT- 1983. *Das Phytoplankton des Süßwassers: Chlorophyceae (Grünalgen). Ordnung: Chlorococcales*. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller).

In alternativa alla collana "Das Phytoplankton des Süßwassers", c'è anche la collana:

PASCHER, A. editor, *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Jena, Gustav Fisher Verlag, in 24 volumi.

Corso di Formazione Criteri e metodologie per lo studio ed il controllo delle alghe in acque destinate alla potabilizzazione.
AGAC - Reggio Emilia, 2-5 giugno 1997.

Rassegna delle tecnologie applicate alla rimozione delle tossine algali

Nadia Fontani¹, Gianluigi Spigoni¹

Introduzione

Nelle riserve idriche di acqua dolce, le alghe che possono avere riflessi negativi sulla salute dell'uomo appartengono prevalentemente al gruppo delle Cianofitiche o alghe verdi-azzurre.

Questi organismi sono in grado di produrre 2 tipi di tossine: le endotossine, come tutti i procarioti, e le esotossine.

Le endotossine sono di natura lipopolisaccaridica mentre le esotossine si dividono in due sottogruppi, anche in base al loro diverso meccanismo d'azione:

- neurotossine di natura alcaloide quale, ad esempio, l'anatossina dell'*Anabaena flos aquae*
- epatotossine di natura proteica e polipeptidica, di cui le più conosciute sono quelle liberate da *Microcystis aeruginosa* e *Nodularia spumigena*. La maggior parte delle epatotossine, tra le quali soprattutto la microcistina-LR, sono idrofiliche e quindi relativamente solubili in acqua anche se recentemente sono state identificate tossine idrofobiche come la microcistina-LF e la microcistina-LY.

La molecola tossica è normalmente contenuta all'interno della cellula algale e ne vengono rilasciate piccole porzioni solo quando questa viene danneggiata per azione di composti chimici, per effetto meccanico o per lisi cellulare dovuta all'invecchiamento. Danni alla componente cellulare dell'alga avvengono perciò anche quando l'acqua viene trattata e condottata per la distribuzione potabile. Ne consegue che almeno i processi di pre-trattamento dovrebbero essere idonei alla rimozione della biomassa algale evitando però la lisi cellulare.

Le patologie che le alghe tossiche inducono nell'uomo sono tutte di natura cronica e non letali. Nella maggior parte dei casi sono rappresentate da gastroenteriti e scompensi enzimatici dovuti ad una alterata funzionalità epatica.

I generi di Cianofitiche di acqua dolce sono 50, ma solo 8 di questi comprendono specie che producono sostanze tossiche:

Anabaena
Aphanizomenon
Microcystis
Nodularia
Oscillatoria
Coelosphaerium
Gloeotrichia
Nostoc

Solamente per le prime 4 sono documentati fenomeni di intossicazione di intere comunità che facevano uso di acque superficiali non potabilizzate.

Nonostante si sia manifestato a livello mondiale un interesse crescente sui rischi per la salute associati alla presenza di tossine algali nelle acque utilizzate per il consumo umano, i lavori di ricerca pubblicati in merito a tecnologie per il trattamento di rimozione delle stesse sono relativamente pochi. In particolare sono molto scarse le informazioni inerenti ad esperienze condotte in impianti pilota o funzionanti su scala reale per il trattamento di acque con diverse concentrazioni di tossine algali.

La maggior parte delle ricerche effettuate sui trattamenti delle acque per la rimozione delle tossine algali è incentrata sulle epatotossine ed in particolare sulle microcistine.

I primi studi furono condotti tra la fine degli anni '70 e l'inizio anni '80 quando ancora le tossine non erano

¹ AGAC Reggio Emilia

state caratterizzate chimicamente e quindi le osservazioni valutavano l'abbattimento della sola tossicità acuta. Inoltre i primi studi prendevano in considerazione una sequenza di fasi di trattamento piuttosto che i singoli processi.

Poiché gli studi sulla rimozione delle tossine da cianofite da processi di potabilizzazione sono relativamente limitati, è necessario dedurre le prestazioni degli impianti in scala reale dalle pochissime esperienze disponibili.

Coagulazione e filtrazione

Le prime ricerche realizzate in laboratorio con bloom di *Microcystis aeruginosa* dimostrarono che la coagulazione con allume seguita da filtrazione su crogiolo di Gooch non otteneva nessuna rimozione della tossicità misurata mediante iniezione intraperitoneale in topini (WHEELER *et al.*, 1942). Questi esperimenti vennero condotti su surnatante di alghe precedentemente congelate e poi sedimentate a 20 °C per 24 ore. Probabilmente la lisi delle cellule ed il conseguente rilascio di tossine provocato dal congelamento spiega la scarsa rimozione di tossicità ottenuta rispetto a quella verificata con cellule algali integre.

Studi di laboratorio condotti in Sud Africa (HOFFMANN, 1976) con alte concentrazioni di tossine (10 mg/l di *M. aeruginosa*) non hanno mostrato riduzione di tossicità su topini nemmeno con 20 mg/l di cloruro ferrico seguito da sedimentazione con e senza filtrazione su sabbia, così come dosando 50 mg/l di calce.

Successivamente studi di laboratorio finlandesi con concentrazioni più basse (30-58 µg/l) di epatotossine purificate ma non identificate di *Microcystis* ed *Oscillatoria*, hanno valutato la coagulazione sia con allume che con cloruro ferrico combinata a filtrazione su sabbia e clorazione (HIMBERG *et al.*, 1989). Dosi di allume tra 36 e 71 mg/l ottennero una riduzione di tossine dell'11-32% mentre 55 mg/l di cloruro ferrico abbattono una frazione anch'essa trascurabile.

Questi ultimi risultati suggeriscono che lo stadio di clorazione con 0,5 mg/l di cloro libero residuo, produce un contributo trascurabile alla rimozione osservata in questi processi combinati.

Anche studi effettuati su impianto pilota da 100 l/h con processo convenzionale a biossido di carbonio, coagulazione con allume, stabilizzazione del pH con calce, sedimentazione e filtrazione su doppio strato sabbia-antracite, non ottennero nessun abbattimento della tossicità relativa a tossine di *Microcystis* congelate ed essiccate (KEIJOLA *et al.*, 1988).

Anche lavori australiani (ROSITANO and NICHOLSON, 1994) hanno dimostrato che la filtrazione su sabbia e la

coagulazione con 2,5 mg/l di solfato ferrico, 8 mg/l di allume e 6,6 mg/l di policloruro di alluminio non riducono la concentrazione delle tossine solubili.

In esperimenti finlandesi (KEIJOLA *et al.*, 1988) non si è ottenuta alcuna riduzione dell'anatossina-a derivante da un bloom di *Anabaena*, né con allume né con cloruro ferrico seguiti da filtrazione e clorazione, se i livelli di tossine erano bassi (20 µg/l).

La stessa filiera di trattamento, ma con acqua contenente 200 µg/l di tossine, rimuove il 14% se si utilizza allume ed il 49% se si utilizza cloruro ferrico.

FALCONER *et al.* (1989) trovarono che 120 mg/l di allume da solo ed in combinazione con polielettroliti, rimuoveva il 20% della tossicità.

Tutti i suddetti lavori non valutarono la rimozione di tossine con coagulazione e filtrazione di cellule algali integre, la quale deve essere estrapolata dall'osservazione degli effetti ottenuti con i pretrattamenti chimici su campioni freschi di fioriture.

Studi canadesi (KENEFFICK *et al.*, 1993 e LAM *et al.*, 1995) dimostrarono che alti dosaggi di calce (70-200 mg/l come Ca(OH)₂) precipitano le cellule algali senza rilasci misurabili di microcistina-LR nemmeno dopo 10-14 giorni dal trattamento (non produce lisi).

Studi finlandesi evidenziarono una rimozione variabile tra il 14 ed il 99,9% a seconda della dimensione delle cellule algali e delle specie considerate: piccole cellule, colonie distrutte e corti filamenti di *Oscillatoria* passano attraverso i filtri a sabbia rapidi, ma la coagulazione chimica risulta poi efficace alla loro rimozione.

Questi risultati suggeriscono che i coagulanti rimuovono la parte preponderante di tossine intracellulari se le cellule algali vengono rimosse senza distruggere l'integrità delle membrane.

Un altro studio canadese (LAMBERT *et al.*, in stampa) ha monitorato un piccolo impianto a scala reale da 45 m³/giorno a servizio di 173 residenti trovando che la coagulazione con allume e filtrazione su sabbia-antracite, otteneva un 50% di rimozione delle microcistine attive totali (misurate attraverso il test di inibizione della fosfatasi) da un'acqua grezza con concentrazioni variabili tra 1,1 e 2,9 µg/l.

Flottazione con aria disciolta

La DAF differisce dai trattamenti convenzionali dell'acqua in quanto lo step di flocculazione è seguito dall'introduzione di acqua saturata con aria.

L'aria forma bolle minuscole che si attaccano al fiocco e ne provocano la flottazione sulla superficie dell'acqua. Il fiocco e le particelle catturate sono poi rimosse meccanicamente dalla superficie prima della filtrazione.

DRIKAS (1994) riporta che il DAF è sufficiente per la rimozione delle cellule intatte di cianofite, ma occorre valutare se è più o meno efficace dei processi convenzionali.

Adsorbimento

PAC (POWERED ACTIVATED CARBON)

I primi studi di WHEELER *et al.* (1942) effettuati in laboratorio dimostrarono che il PAC utilizzato in quantità maggiori rispetto a quelle convenzionali, era in grado di rimuovere la tossicità di alti dosaggi di tossine, ma falliva se le concentrazioni iniziali erano modeste.

Esperimenti condotti da HOFFMAN (1976) partendo da alti livelli di tossine (10 mg/l) ottennero i seguenti risultati:

8 mg/l di PAC	non comportano alcuna riduzione
80 mg/l di PAC	rimuovono solo una frazione delle tossine testate
800 mg/l di PAC	garantiscono una riduzione completa.

Studi finlandesi (HIMBERG *et al.*, 1989) hanno ottenuto una riduzione del 13-34% a partire da concentrazioni più basse di tossine (30-58 µg/l) mediante l'utilizzo di 5 mg/l di PAC + coagulazione con allume + filtrazione su sabbia + clorazione.

Studi finlandesi su impianto pilota valutarono l'ozonizzazione a monte di trattamenti convenzionali: 20 mg/l di PAC erano sufficienti a portare l'abbattimento da un 90% ad un 99% (KEIJOLA *et al.*, 1988).

FALCONER *et al.* (1983), saggiando 14 diversi carboni, trovarono che servono da 1 a 10 g/l di PAC per la rimozione completa della tossicità di *M. aeruginosa* misurata mediante saggio su cavie.

DONATI *et al.* (1993) trovarono che 50 µg/l di microcistina-LR in acqua di fiume erano ridotti a 1 µg/l con 35 mg/l di PAC migliori mentre i peggiori ottenevano una riduzione inferiore al 60% anche con dosi di 50 mg/l.

Tra le diverse misure eseguite per valutare le caratteristiche dei carboni attivi (volume dei mesopori, dei micropori, la superficie dell'area di Brunauer-Emmett-Teller, il n° di iodio e di fenolo), il volume dei mesopori (da 2 a 50 nm) fornisce le predizioni migliori sulle performance di riduzione della tossicità e quelli migliori sono quindi risultati i carboni a base di legno (DONATI, 1994).

L'area superficiale, il numero di iodio e di fenolo da soli non dovrebbero essere usati come indicatori dell'efficacia dei carboni in quanto forniscono esclusivamente indicazioni specifiche sull'adsorbimento.

Esperienze condotte sul fiume Senna e su corsi d'acqua canadesi evidenziarono che le sostanze organiche

naturali presenti nelle acque competevano con le tossine algali per gli stessi mesopori, riducendone l'efficacia. Nonostante tale competizione con le sostanze organiche naturali, i carboni con elevato volume dei mesopori sono i più efficaci per la rimozione della microcistina-LR in tutte le acque naturali.

Uno studio canadese ha monitorato per 6 settimane un impianto a servizio di 10.000 abitanti con trattamenti convenzionali di coagulazione con allume e filtrazione mista a cui sono stati aggiunti 30 mg/l di PAC: questa filiera otteneva fino all'82% di rimozione quando il livello di microcistine dell'acqua grezza era circa 0,5 µg/l ma diminuiva al 31% quando la concentrazione era più bassa (LAMBERT *et al.*, 1994).

GAC (GRANULAR ACTIVATED CARBON)

Utilizzando estratti di soluzioni di *M. aeruginosa* fatti passare attraverso una colonna di 70 g di GAC, la tossicità acuta saggiata su topini ricompariva nei carboni di qualità peggiore, dopo 35 bed-volumes mentre nei migliori il breakthrough era dopo 350 b-v.

Con un estratto di tossine diluite all'1% fatto passare alla velocità di 5,4 m³/h attraverso un filtro a sabbia che incorporava 7-8 cm di GAC e con un EBCT (empty bed contact time) di 0,9 min, il breakthrough di tossicità acuta saggiata su topo, fu osservata dopo 300-900 b-v (8-24 m³). In queste condizioni di carico estremo, il tempo di esercizio del filtro era solamente di 7-20 ore; in condizioni più realistiche e con un EBCT di 10 min., il tempo di funzionamento viene stimato in 90-250 giorni (FALCONER *et al.*, 1989).

Studi di laboratorio (KEIJOLA *et al.*, 1988; HIMBERG *et al.*, 1989) con coagulazione con allume, filtrazione su sabbia, GAC e clorazione in cui l'EBCT era di 1,4 min, la velocità di 1 m/h ed il volume trattato corrispondente ad 1 litro di soluzione contenente 30-56 µg di tossine congelate e seccate estratte da *Oscillatoria* e *Microcystis*, ottennero la rimozione del 100%. A causa dei contributi limitati attribuibili al trattamento convenzionale, gran parte della rimozione delle tossine osservata in questi studi finlandesi può essere attribuita con sicurezza all'adsorbimento su GAC.

Test effettuati su pilot-scale (DRIKAS, 1994; BERNAZEAU, 1994) con GAC con EBCT di 7,5 min, alimentati con acqua naturale contenente 5-6 mg/l di carbonio disciolto e inoculata con 30-50 µg/l di microcistina, hanno portato ad un 90% di rimozione di tossine con 7000-12000 b-v ma subito dopo tale capacità scende al 63-49%, probabilmente a causa della saturazione dei GAC con le sostanze disciolte.

Un impianto canadese in scala reale (LAMBERT *et al.*, in stampa) con un trattamento tradizionale e GAC ha ottenuto un 40-60% di rimozione di tossicità (test della fosfatasi) a partire da 0,6-1,2 µg/l confermando l'importanza della saturazione dei carboni in quanto questi erano già in servizio da più di un anno con acque ricche di DOC.

Studi australiani di laboratorio (FALCONER *et al.*, 1989) effettuati con estratti di *Anabaena* fatti passare su colonna di GAC di 70 g, hanno evidenziato che la tossicità acuta saggiata su topo scompariva dopo 35 b-v corrispondenti a soli 5 litri di volume testato.

In impianto pilota con filtrazione su sabbia e 7-8 cm di GAC, il breakthrough di tossicità acuta si ebbe dopo 600-750 b-v.

Esperimenti finlandesi (KEIJOLA *et al.*, 1988) con anatoxina-a derivanti da un bloom tossico di *Anabaena* su GAC con $v=1$ m/h ed EBCT di 1,4 min, trovarono una rimozione del 90-94% rispettivamente a partire da concentrazioni di 200 e 20 µg/l.

Ossidazione

CLORO

Dalle prime prove di laboratorio emerse che la clorazione con 8,4 e 100 mg/l di cloro per 12 ore applicata su campioni concentrati di *M. aeruginosa*, non era in grado di rimuovere la tossicità acuta su topini nemmeno in presenza di quantità sostanziali di disinfettante residuo (WHEELER *et al.*, 1942).

Allo stesso modo HOFFMAN (1976) usando calcio ipoclorito, non ottenne alcuna rimozione di tossicità né con 5 mg/l applicati per 30 min in preclorazione (0,8 mg/l di residuo), né con 5 mg/l per 10 min in postclorazione.

Studi finlandesi con 0,5 mg/l di cloro inseriti in una sequenza convenzionale di trattamento, non evidenziarono la rimozione della tossicità di *Microcystis* e di *Oscillatoria*.

LAMBERT *et al.* (in stampa) ottennero una riduzione trascurabile della microcistina attiva misurata mediante test della fosfatasi, con 0,3-0,5 µg/l.

In contrasto, recenti lavori australiani (NICHOLSON *et al.*, 1994) ottennero ad una distruzione molto efficace di epatotossina, microcistina-LR e nodularina purché in presenza di 0,5 mg/l di cloro residuo dopo 30 min di contatto; l'efficienza era in dipendenza del pH (sotto pH 8).

Le clorammine si sono mostrate completamente inadatte alla rimozione di epatotossine.

La clorazione è risultata fallimentare anche nei confronti di neurotossine ed anatoxina-a in quanto 15 mg/l a pH 7 dopo 30 min di contatto hanno rimosso solo il 16% (ROSITANO e NICHOLSON, 1994).

OZONO

Studi finlandesi (KEIJOLA *et al.* 1988; HIMBERG *et al.*, 1989) trovarono una rimozione completa della tossicità di *Microcystis* ed *Oscillatoria* con 1 mg/l di ozono in una sequenza di trattamento convenzionale.

Studi analoghi con *Anabaena* mostrarono il 96-100% di rimozione a partire da 20 e 200 µg/l rispettivamente.

Studi australiani (ROSITANO e NICHOLSON, 1994) confermarono che la distruzione di microcistina-LR è molto rapida: con 0,07 mg/l di ozono applicati per 15 sec su 155 µg/l si ottenne il 99% di abbattimento delle tossine. Risultati analoghi sono stati ottenuti con nodularina e con neurotossine.

A causa della presenza di sostanza organica naturale che incrementa la domanda di ossidanti, occorre 1 mg/l di ozono per distruggere la microcistina-LR in acque con livelli di DOC di 8,5 mg/l.

ALTRI OSSIDANTI

Recenti studi australiani hanno valutato l'efficacia del potassio permanganato, del perossido d'idrogeno e della combinazione di UV con acqua ossigenata quali distruttori della microcistina-LR.

ROSITANO e NICHOLSON (1994) con 1 mg/l di permanganato applicato per 30 min su una concentrazione di tossine di 200 µg/l ottennero una riduzione del 95% che saliva al 100% con dosi maggiori di ossidante. Non furono eseguiti studi sulla pH-dipendenza.

Si sottolinea che deve essere usata particolare attenzione all'utilizzo del permanganato così come per gli altri ossidanti, nella fase di pretrattamento, prima della rimozione della biomassa algale poiché il 40-80% del rilascio di microcistina intracellulare è successivo al dosaggio di 10 mg/l di permanganato (LAM *et al.*, 1995).

20 mg/l di H₂O₂ dopo 60 min hanno prodotto solo una distruzione trascurabile di microcistina-LR; se applicati insieme agli UV per 30 min determinano una riduzione del 50% ma studi precedenti con solo raggi UV, avendo prodotto risultati analoghi, portano a concludere che il contributo del perossido è nullo (ROSITANO e NICHOLSON, 1994).

Tecnologie emergenti

I filtri lenti a sabbia sono stati usati con successo in impianti di trattamento acque scandinavi: più dell'80% di rimozione della tossicità di microcistina-LR, 30-65% di tossine di *Oscillatoria* ed il 70% di anatoxina-a (KEIJOLA *et al.*, 1988).

Nonostante nessun lavoro riporti in modo specifico i risultati ottenuti con carboni attivati biologicamente, au-

tori finlandesi sostengono che la rimozione biologica si potrebbe instaurare in filtri lenti a sabbia.

LAMBERT *et al.* (in stampa) attribuirono la rimozione di microcistina a meccanismi di rimozione biologica in quanto ottenuta in filtri a doppio strato sabbia-GAC funzionanti in scala reale e il cui GAC era già saturato con DOC naturale e quindi potenzialmente inattivo.

D'altra parte utilizzando un GAC da un impianto full-scale con biofilm maturo, non si è ottenuta alcuna riduzione di microcistina nell'arco di 1 mese.

Nessun lavoro riporta l'utilizzo di sistemi a membrana ma si deve supporre siano efficaci alla rimozione delle cellule algali e delle loro tossine intracellulari; tuttavia la rimozione di queste ultime sembrerebbe essere limitata a sistemi di osmosi inversa anche se con acque grezze con tenori elevati di sostanza organica si verificano problemi di sporcamento veloce.

Conclusioni

Generalmente i processi di trattamento convenzionali, quali la coagulazione e la filtrazione, garantiscono una riduzione limitata delle tossine anche se rimangono di grande utilità per la rimozione delle cellule di cianoficee in grado di produrre tossine che vengono poi rilasciate mediante lisi.

La flottazione con aria disciolta sembra offrire buone prospettive per la rimozione di cellule algali integre, ma necessitano ulteriori studi sulla sua efficacia.

L'adsorbimento su carboni attivi è risultato essere piuttosto efficace anche se le dosi di PAC devono essere superiori rispetto a quelle utilizzate per l'eliminazione degli odori. I risultati sono comunque comparabili con quelli ottenuti per l'abbattimento di microinquinanti tipo atrazina.

I GAC si sono dimostrati molto efficaci nella rimozione di tossicità algale, ma si saturano velocemente con la materia organica quando funzionanti in scala reale.

L'ozono distrugge rapidamente le tossine, ma ha lo svantaggio di dover essere impiegato a dosaggi molto elevati a seguito di tenori elevati di DOC dell'acqua da trattare. Comunque le stesse applicazioni che consentono la disinfezione e l'eliminazione di microinquinanti quali i pesticidi, portano anche all'eliminazione delle tossine più comuni.

Il perossido d'idrogeno è invece risultato inefficace, mentre l'ossidazione con raggi UV e permanganato di potassio ha dato buoni abbattimenti.

La clorazione ha prodotto risultati apparentemente variabili, ma facilmente riconducibili alle diverse condizioni operative valutate ed ai livelli di materia organica presente nell'acqua da trattare. Una distruzione efficace

richiede 0,5 mg/l di cloro libero residuo, un tempo di contatto di 30 min ed un pH inferiore a 8. L'uso di alti dosaggi di cloro in acque con elevata clororichiesta introduce però il problema della formazione di trialometani.

Le clorammine sono inefficaci costituendo un problema notevole in quelle acque che tendono a formare clorammine a seguito di processi di clorazione.

Il punto di applicazione di molti ossidanti costituisce una variabile fondamentale nella riduzione del livello di tossicità: la preossidazione rimuove solo le alghe flagellate mentre quelle coloniali si frazionano solamente e superano così più facilmente le barriere o causano la lisi delle cellule algali rilasciando le tossine nell'acqua.

L'uso di ossidanti a monte della rimozione cellulare dovrebbe essere usato con molta cautela.

Un notevole contributo alla rimozione dei peptidi tossici giunge da parte dell'attività biologica ma questo approccio necessita di ulteriori approfondimenti e ricerche specifiche che ne quantifichino l'efficacia.

Il derivare acqua grezza a livelli variabili da bacini potrebbe risultare vantaggioso, sebbene alcune specie di cianobatteri colonizzino diversi livelli della colonna d'acqua grazie alla loro abilità ad utilizzare vacuoli di gas per il controllo della galleggiabilità.

Bibliografia

- A.W.W.A. - 1995. Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide. 145-158.
- BERNAZEAU F., BAUDIN I., PIERONNE P., BRUCHET A., ANSELME C. - 1995. Traitement des problèmes des toxines générées par les algues. *T.S.M.*, **10**: 747-748.
- BERNAZEAU F. - 1994. Can Microcystins Enter Drinking Water Distribution Systems? In *Proc. of Toxic Cyanobacteria: Current Status of Research and Management*. Salisbury, Australia: Australian Centre for Water Quality Research.
- BRENTON C., NICHOLSON B.C., ROSITANO J., BURCH D. - 1994. Destruction of cyanobacterial peptide hepatotoxins by chlorine and chloramine. *Water Research*, **28** (6): 1297-1303.
- DONATI C., DRIKAS M., HAYES R., NEWCOMBE G. - 1993. Adsorption of Microcystin-LR by Powered Activated Carbon. *Water J. Australian & Wastewater Assoc.*, **20** (3): 25-28.
- DONATI C., DRIKAS M., HAYES R., NEWCOMBE G. - 1994. Microcystin-LR adsorption by powered activated carbon. *Water Research*, **28** (8): 1735-1742.
- DRIKAS M. - 1994. Control and/or Removal of Algal Toxins. In *Proc. of Toxic Cyanobacteria: Current Status of Research and Management*. Salisbury, Australia: Australian Centre for Water Quality Research.
- FALCONER I.R., RUNNEGAR M., BUCKLEY T., HUYN V., BRADSHAW P. - 1989. Using Activated Carbon to Remove Toxicity from Drinking Water Containing Cyanobacterial Blooms. *Jour. AWWA*, **81** (2): 102-105.
- HIMBERG K., KEIJOLA A.M., HSVIRTA L., PYYSSALO H., SIVONEN K. - 1989. The Effect of Water Treatment Processes on the Removal of Hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* Cyanobacteria: a Laboratory Study, *Water Research*, **23** (8): 979-984.
- HOFFMAN J.R.H. - 1976. Removal of Microcystis Toxins in Water Purification Processes. *Water SA.*, **2** (2): 58-60.
- KEIJOLA A.M., HIMBERG K., HSVIRTA L., SIVONEN K., HIISSVIRTA L. - 1988. Removal of Cyanobacterial Toxins in water Treatment Processes: Laboratory and Pilot-Scale Experiments. *Toxicity Assessment*, **3**: 643-656.
- KENEFICK S.L., HRUDEY S.E., PETERSON H.G., PREPAS E.E. - 1993. Toxin Release from *Microcystis aeruginosa* After Chemical Treatment. *Water Sci. Technol.* **27** (3/4): 433-440.
- LAM A., PREPAS E., SPINK D., HRUDEY S.E. - 1995. Control of Hepatotoxic Phytoplankton Blooms: Implications for Human Health. *Water Research*, **29**: 1845-1854.
- LAMBERT T.W., HOLMES C:F.B., HRUDEY S.E. - Forthcoming. Adsorption of Microcystin-LR by Activated Carbon and Microcystin Removal in Full Scale Water Treatment. *Water Research*, (in stampa).
- LAMBERT T.W., BOLAND M.P., HOLMES C:F.B., HRUDEY S.E. - 1994. Quantitation of the Microcystin Hepatotoxins in Water at Environmentally Relevant Concentration with the Protein Phosphatase Bioassay. *Environ. Sci. Technol.*, **28** (4): 753-755.
- ROSITANO J., NICHOLSON B.C. - 1994. *Water Treatment Techniques for the Removal of Cyanobacterial Toxins from Water*. Salisbury, South Australia: Australian Centre for Water Treatment and Water Quality Research.
- WHEELER R.E., LACKEY J.B., SCHOTT S. - 1942. A Contribution on the Toxicity of Algae. *Public Health Rep.*, **57** (45): 1695-1701.

Corso di Formazione *Criteri e metodologie per lo studio ed il controllo delle alghe in acque destinate alla potabilizzazione*.
AGAC - Reggio Emilia, 2-5 giugno 1997.

Esperienze sul controllo e la rimozione delle alghe da acque destinate alla potabilizzazione

Oswaldo Conio¹, Franca Palumbo¹

Introduzione

La crescente richiesta di acque destinate a scopo potabile ha portato sempre più frequentemente all'utilizzazione di acque superficiali di fiumi e di laghi, le cui acque possono avere elevati livelli trofici. I livelli di nutrienti, soprattutto azoto e fosforo, possono derivare dal semplice dilavamento di terreni agricoli o di aree disboscate, ma anche dall'impatto di acque reflue da insediamenti civili e produttivi.

Nelle acque superficiali il numero di alghe presenta variazioni da poche unità a milioni di organismi per litro, ma quando le condizioni ambientali lo consentono, le alghe presenti nelle riserve d'acqua possono riprodursi in modo abnorme e dare luogo a fioriture di vasta entità.

Gli inconvenienti che possono derivare da queste fioriture riguardano soprattutto le qualità organolettiche dell'acqua di distribuzione e la sua stessa igienicità. Numerose sono infatti le segnalazioni di intossicazioni o manifestazione di allergie dovute alla presenza di Cianofitee (*Microcystis* spp., *Anabaena* spp., *Oscillatoria* spp.).

Le cianotossine più spesso riscontrate sono: epatotosine, prodotte da molte specie e ceppi dei generi *Microcystis* spp., *Oscillatoria* spp., *Anabaena* spp. e *Nostoc* spp. (PELANDER, 1996), microcistine (MCYST) e nodularina (NODLN) e un alcaloide neurotossina anatoossina-a (ANTX-a) (CARMICHAEL, 1992).

La presenza di alghe nelle acque gregge utilizzate a scopo potabile comporta una serie di problematiche nella gestione degli impianti di potabilizzazione, quali:

- presenza in piccole quantità di composti organici d'origine algale che provocano gusti e odori indesiderabili;
- rilascio di composti organici capaci di inibire la flocculazione e di interferire con la disinfezione ad opera del cloro;

culazione e di interferire con la disinfezione ad opera del cloro;

- formazione, dovuta alla decomposizione organica, di materia simile alle sostanze umiche e la cui biodegradazione biologica è mediocre. Queste sostanze rappresentano dei precursori di THMs nei casi in cui l'ossigeno è utilizzato come agente ossidante;
- sviluppo di condizioni favorevoli ai processi di riduzione a livello dell'interfaccia acqua-sedimento, che provocano un aumento della concentrazione degli ioni ferro e manganese nell'acqua greggia. Conseguente necessità di eliminare il manganese;
- riduzione del solfato a livello del sedimento;
- produzione di metano, che modifica sensibilmente la qualità dell'acqua greggia;
- formazione di ioni NH_4 nell'acqua, che interferiscono con la disinfezione con cloro. Livelli elevati di ammoniaca possono dare luogo alla formazione di nitriti nella rete di distribuzione;
- sviluppo di organismi nella rete di distribuzione quali nematodi, spugne d'acqua dolce, briozoi, idrozoi, larve d'insetti, etc, dovuti alla accresciuta quantità di sostanza organica presente nell'acqua e alla crescita di un film algale sulle pareti delle condutture;
- intasamento dei contatori, raccordi e rubinetti a causa della presenza di microrganismi che sopravvivono al trattamento dell'acqua e che si sviluppano nella rete di distribuzione o nelle cisterna di riserva d'acqua sotto pressione. (SLADECKOVA, 1993).

Trattamenti di rimozione di microalghe

I sistemi di trattamento più utilizzati per la rimozione delle alghe presenti nelle acque destinate al consumo umano, e per i quali è stato fatto un significativo numero di sperimentazioni in Italia e all'estero, sono essenzial-

¹ Azienda Mediterranea Gas e Acqua - AMGA S.p.A. Genova

mente la coagulazione/flocculazione-filtrazione, la flottazione-filtrazione e la microsetacciatura.

COAGULAZIONE/FLOCCULAZIONE - FILTRAZIONE

Il successo delle operazioni di rimozione mediante i processi di coagulazione/flocculazione (CF) e filtrazione, è strettamente legato al tipo di alghe presenti nell'acqua.

La struttura della parete cellulare e la forma delle alghe giocano un ruolo decisivo nelle percentuali di rendimento del processo. Si possono eliminare infatti le grandi diatomee fino a una percentuale di rimozione del 99.9% in un impianto con una sola fase di chiariflocculazione. Al contrario, l'alga filamentosa, *Oscillatoria rubescens* è molto difficile da eliminare con questa unica fase di trattamento (BERNHARD, 1988).

La percentuale di rimozione che normalmente ci si può aspettare da un'unica fase di chiariflocculazione è del 90-99%, ma se nell'acqua greggia la concentrazione di alghe è compresa o supera le 10^4 - 10^6 cellule/ml, non si riesce ad ottenere acque distribuite in rete di qualità accettabile.

Come si può infatti osservare al microscopio, i filamenti dell'*Oscillatoria* hanno dimensioni più grandi dei flocculi di alluminio, e quindi difficilmente possono essere inglobati da loro. I fiocchi possono essere distrutti da una modesta turbolenza durante il trasporto verso i filtri e le alghe rilasciate dai fiocchi attraversano così i filtri.

La flocculazione di grandi alghe mediante l'utilizzo di sali di ferro e idrossido d'alluminio è, in generale, decisamente più efficace aggiungendo un polimero debolmente anionico, tipo un prodotto a base di amido modificato, a causa di legami che si creano tra i fiocchi di idrossido d'alluminio e i filamenti di alghe.

È possibile eliminare quasi completamente i filamenti di *Oscillatoria*, così come ottenere la rimozione del 99% delle piccole alghe blu e verdi usando due dosi consecutive di flocculante, esempio solfato d'alluminio (1-3 mg/l Al), più un polimero debolmente anionico a base d'amido, o un polielettrolita di peso molecolare elevato.

DAF (DISSOLVED AIR FLOTTATION)

Sebbene la sedimentazione sia ancora il sistema più diffuso per la chiarificazione primaria dell'acqua, la flottazione sta diventando sempre più diffusa per la separazione di particelle naturalmente poco dense (ad esempio le alghe) o di particelle flocculate analogamente leggere (ad esempio quelle che si formano durante la rimozione del colore o nella deferrizzazione). Il principio della flottazione consiste nel separare le particelle utilizzando sostanze più leggere dell'acqua che, aderendo alle particelle stesse, le trasportano perciò in superficie.

Tuttavia, proprio a causa del principio di funziona-

mento, non è applicabile a particelle molto dense e quindi ad acque con elevata torbidità naturale.

La DAF è in pratica un trattamento che consiste di due fasi: la prima è la dissoluzione di aria compressa in acqua, la seconda consiste nell'aggiunta di tale acqua satura di aria all'acqua da trattare, previamente addizionata di coagulante/flocculante: la diminuzione di pressione fa sì che si formino delle microbolle di aria che agiscono da "galleggiante" per le particelle sospese che, di conseguenza, vengono a galla e successivamente asportate.

In piccoli impianti la rimozione del fango raccolto in superficie può avvenire con sistemi ad "allagamento" consistenti nell'innalzare artificialmente il livello dell'acqua rispetto allo sfioro o nell'abbassare quest'ultimo ad intervalli regolari. Più comune è invece la raschiatura meccanica superficiale anche perché consente di raccogliere un fango molto concentrato cosa che è uno dei vantaggi più rilevanti della flottazione.

Un altro sistema consiste in un nastro, dotato di numerose lame trasversali, che ruota sopra la superficie della vasca.

La flottazione è particolarmente adatta al trattamento di acque con elevato contenuto algale. MOUCHET (1984) documenta prove di flocculazione eseguite su acque ricche di alghe (>50000 individui/litro, di cui il 50% alghe blu-verdi): le percentuali di abbattimento ottenute sono comprese tra il 95% e 99%. Una fase di filtrazione finale aumenta il rendimento al 99,9%.

Nella figura 1 vengono illustrati i risultati ottenuti da VAN CRAENENBROECK (1993) nell'impianto di Notmeir (AWW, Anversa) utilizzando un impianto di flottazione, nel periodo 1990-91. Mediamente viene rimosso l'80% delle alghe presenti, ma si può osservare che l'efficienza minima si osserva per le Pyrrophyta, principalmente per le alghe di ridotte dimensioni del genere *Cryptomonas* spp. (60%), mentre le percentuali salgono sensibilmente specialmente per le alghe verdi (Chlorophyta: *Ulothrix* spp. 93%).

MICROSETACCIATURA

La tecnologia separativa più comunemente utilizzata è costituita dalla microsetacciatura.

Il setaccio è costituito da un tamburo rotante in maglia di acciaio inossidabile chiuso alle estremità e parzialmente sommerso all'interno di una vasca. Nella sua rotazione, una porzione di tamburo emerge e viene continuamente "lavata" con spruzzi di acqua. L'acqua di lavaggio è raccolta in una canaletta ed evacuata allo scarico. Il criterio di dimensionamento del microsetaccio deve tenere conto della portata d'acqua rispetto alla superficie della maglia del tamburo, della luce di passaggio della maglia e delle caratteristiche dell'acqua (torbidità, numero di al-

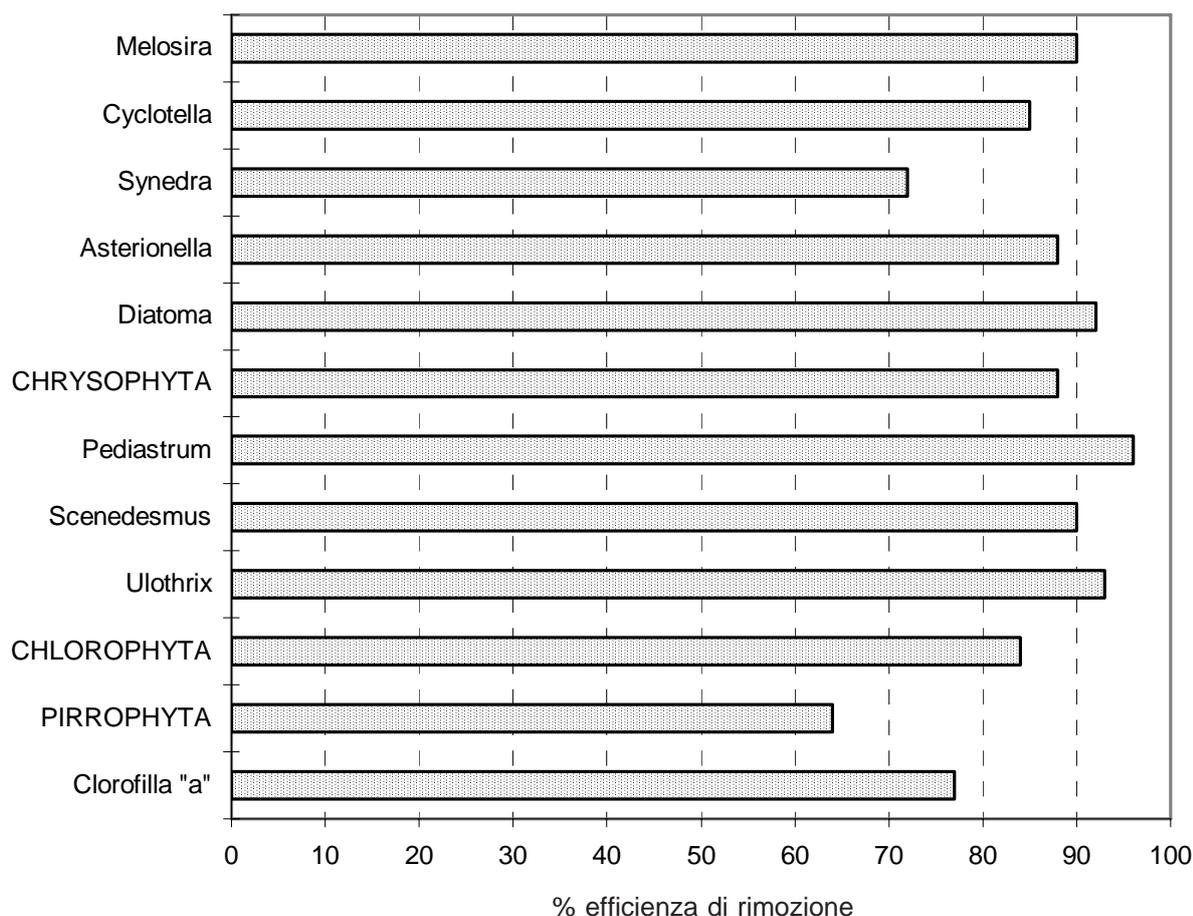


Fig. 1. Efficienza di rimozione alghe impianto di flottazione di Notmeir (Anversa) (da VAN CRAENENBROECK *et al.*, 1993)

ghe e tipologia).

Le variabili su cui si può operare per ottimizzare l'impianto sono la velocità di passaggio (ossia la superficie o numero di tamburi) e la luce di passaggio delle maglie. Quest'ultima variabile è quella più difficile da valutare dal momento che la capacità di rimozione delle alghe è correlata a vari fattori quali la varietà di specie presenti, il tipo predominante, la forma. Infatti le alghe presentano forme molte diverse, e possono essere costituite da tessuti non rigidi, così che non si può dire che una determinata luce di passaggio sicuramente consenta di eliminare le alghe di una dimensione o di tutte le dimensioni più grandi della luce stessa. Pertanto assume una maggiore importanza pratica il tipo di "pellicola" algale che si forma alla superficie delle maglie.

Una immediata rappresentazione dell'efficacia dei vari sistemi di trattamento è riportata nella figura 2. Si può osservare infatti che per acque ricche di alghe, ma caratterizzate da una bassa torbidità totale, il trattamento di flottazione risulta essere quello più efficace.

Al contrario, quando la torbidità totale aumenta oltre certi limiti (>50 NTU), anche il classico trattamento di chiariflocculazione risulta essere idoneo alla rimozione delle alghe.

Esperienze di rimozione delle alghe nelle acque del Brugneto

L'invaso artificiale del Brugneto è situato nella parte alta del bacino del Torrente Brugneto in provincia di Genova. L'analisi dei dati pluviometrici della zona evidenzia che il bacino idrografico del Brugneto ha valori di piovosità tra i più alti d'Italia (circa 1900 mm/anno).

La capacità massima dell'invaso è di 25.136.000 m³ con una superficie di 0.968 km², la profondità massima è di 77 m e l'altezza del pelo libero dell'acqua sul livello del mare è di 777 m.

Sul bacino insistono diversi insediamenti urbani per un totale di alcune centinaia di abitanti. Il lago ha caratteristiche alpine, e le colline che lo circondano presentano pendenze piuttosto ripide con presenza predominante di

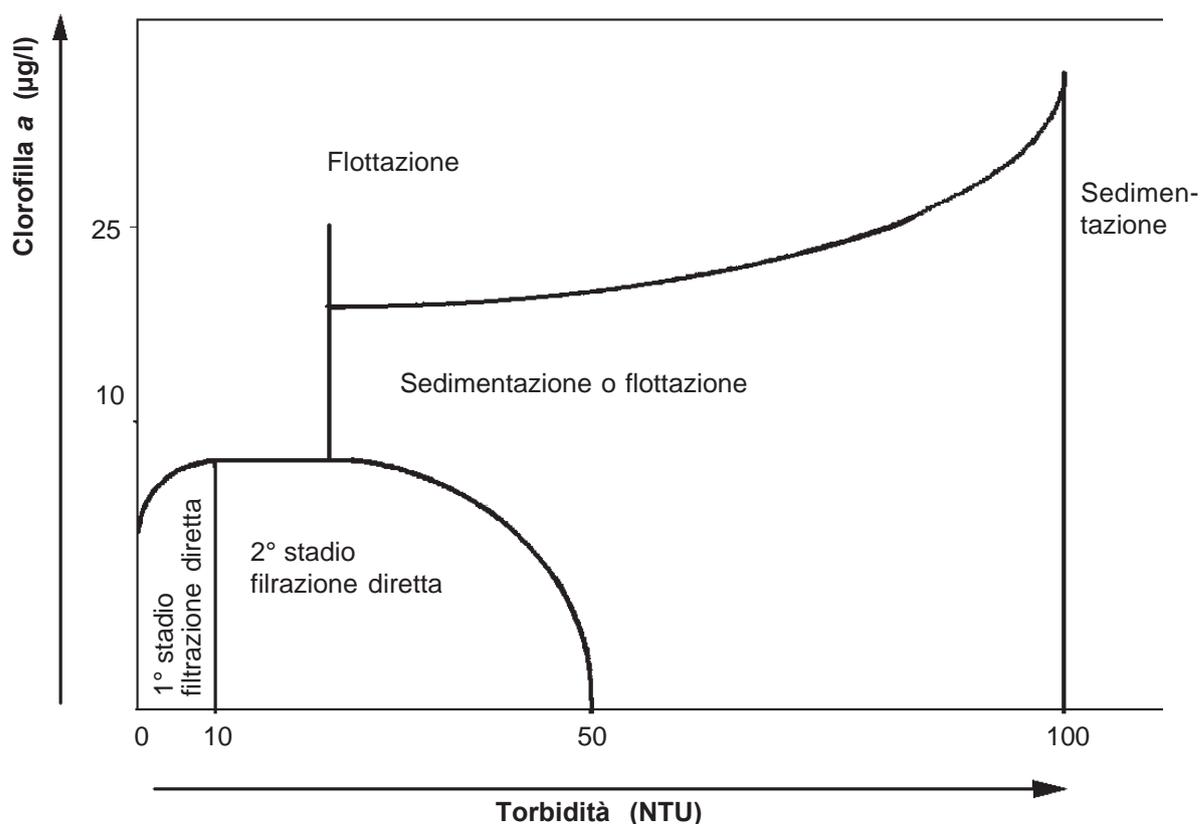


Fig. 2 - Scelta del tipo di trattamento in funzione del rapporto clorofilla "a" / torbidità (da JANSSENS, 1992)

faggio e di castagno.

L'acqua del Brugneto è utilizzata per scopi idropotabili: l'opera di derivazione è costituita da tre bocche di presa poste a quota 717, 737, 757 metri utilizzabili a seconda del livello dell'acqua.

L'impianto di potabilizzazione ha una capacità nominale di trattamento di 1800 l/s, è costituito da quattro bacini rettangolari con fondo a tramoggia destinati alla chiariflocculazione e da 12 filtri rapidi a sabbia quarzifera sistemati all'interno di un apposito edificio. Tale soluzione è stata adottata per ridurre al minimo l'apporto di luce solare e limitare di conseguenza lo sviluppo di alghe sui filtri. L'acqua viene disinfettata con biossido di cloro.

Le acque del lago del Brugneto vengono campionate ed analizzate con frequenza quindicinale nel periodo compreso tra maggio e settembre e con cadenza mensile nei mesi di ottobre/aprile in un'unica stazione di prelievo ubicata a 6 metri dalla diga di sbarramento ed in posizione centrale.

I campioni di acqua sono prelevati alle varie profondità (dalla superficie sino a 30 metri ogni 5 metri, ed alle quote successive fino al fondo del lago ogni 10 metri) mediante sonda a rovesciamento di 2 litri di capacità.

Sui campioni di acqua vengono eseguite analisi fisico-chimiche (torbidità, temperatura, solidi sospesi, pH, Ossigeno disciolto, ammoniaca, fosforo solubile, fosforo totale, silice solubile, TOC, ferro e manganese) e parametri biologici quali la clorofilla "a" e il conteggio algale.

Studi recenti, in collaborazione con l'Istituto di Anatomia Comparata dell'Università di Genova, hanno riguardato il grado di eutrofizzazione del lago del Brugneto.

È noto che esiste una sostanziale differenza di comportamento del bacino idrico di un lago naturale e di quello di un lago artificiale, soprattutto per quello che riguarda gli aspetti limnologici.

Per le acque dei laghi artificiali, infatti, il tempo di permanenza medio della massa d'acqua è minore, i punti di effluenza delle acque sono numerosi e a differenti profondità, e quindi il regime idrico della massa d'acqua diventa irregolare. Tali situazioni si ripercuotono in modo considerevole sui fenomeni di tipo fisico-chimico e biologico del lago Brugneto, sulle sue specifiche caratteristiche trofiche, per cui il bacino del Brugneto può essere considerato modestamente mesotrofico (DE GROSSI, 1992). Il fosforo (ortofosfati) rappresenta l'elemento limitante il

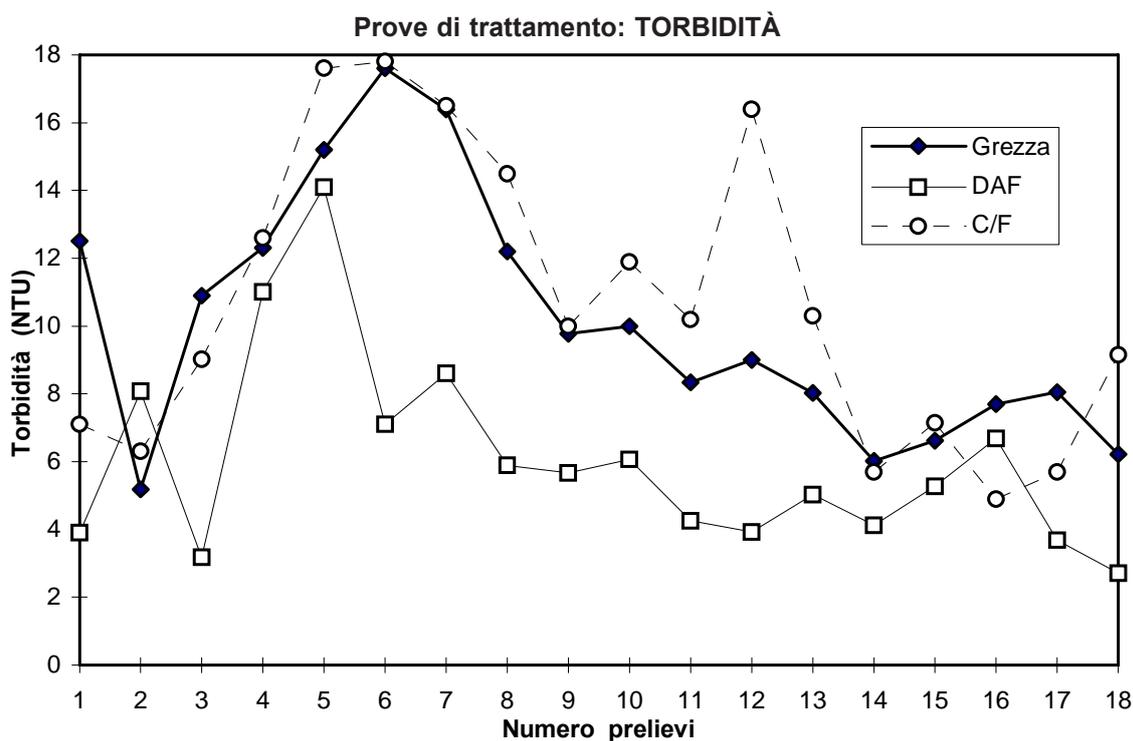


Fig. 3 - Prove di flottazione: parametro torbidità

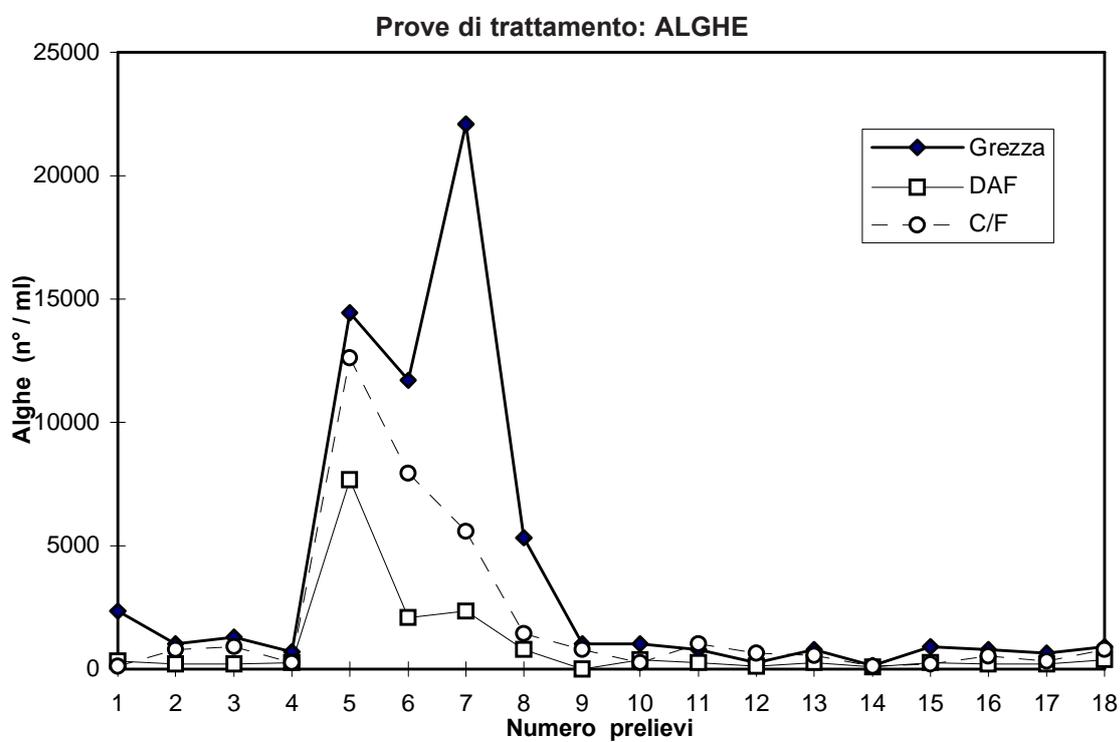


Fig. 4 - Prove di flottazione: parametro alghe

grado di eutrofizzazione del bacino. Ciò è una conseguenza delle caratteristiche geologiche dalla zona entro la quale si trova il bacino, zona ricca di carbonati che provocano la formazione di composti insolubili e conseguente precipitazione di fosforo.

Il Brugneto è un lago di tipo monomittico, con un solo periodo di piena circolazione autunno-invernale. Le temperature nell'acqua oscillano tra i 4 e 23 gradi centigradi. Il rimescolamento inizia verso ottobre-novembre ed in dicembre si può considerare completo. In maggio si nota già fenomeni di stratificazione, essendo possibile individuare il termoclino. In agosto il termoclino è stabile a una profondità media tra 10 e 15 metri.

Per quanto riguarda la clorofilla "a" nel periodo luglio-settembre si rilevano i valori più elevati, che coincidono con il termoclino e quindi con le temperature annuali più elevate. Le specie maggiormente rappresentate e che provocano i problemi più seri nella gestione della riserva idrica sono *Oscillatoria spp.*, *Ceratium spp.*, *Dinobryon spp.*, *Cyclotella spp.*.

Le acque del lago del Brugneto hanno presentato fioriture algali di una certa importanza negli anni 1977 e 1983.

La soluzione radicale del problema è quella di prevenire l'eutrofizzazione riducendo, ad esempio, l'apporto di fosforo programmando interventi di risanamento al punto d'arrivo degli affluenti nel bacino.

Gli interventi routinari che l'Azienda si è trovata a dover applicare per tamponare situazioni di allarme relative alla presenza di alghe sono stati:

- utilizzare la bocca di presa in corrispondenza del livello minimo di concentrazione algale;
- aumentare il dosaggio del flocculante;
- aumentare la frequenza di controlavaggio dei filtri.

Come soluzione più strutturale l'Azienda ha valutato di trasformare i bacini di chiariflocculazione attualmente in uso in un impianto di flottazione.

A tal fine sono state eseguite prove utilizzando un impianto pilota DAF nel periodo 1995-1996.

Le prove sono state eseguite nel periodo estate-autunno del 1995 ed inverno 1996, utilizzando un impianto pilota fornito dalla ditta Krofta, con portata massima di 20 m³/ora.

Nel corso di tali prove, sono state sperimentate varie configurazioni di trattamento di flottazione che hanno comportato l'utilizzo di differenti reattivi: solfato di alluminio; solfato di alluminio più flocculante organico; policlorigli di alluminio (PAC); policlorigli di alluminio più flocculante organico; coagulante organico.

I migliori risultati sono stati ottenuti con il trattamento

PAC più flocculante organico.

Dall'esame dei grafici riportati nelle fig. 3 e 4, riferiti alle prove eseguite utilizzando PAC e flocculante organico, si evince che il trattamento DAF risulta essere più efficace del sistema attualmente in uso di chiariflocculazione.

Alla luce di quanto riportato in letteratura, il risultato era piuttosto scontato, ma l'Azienda ha voluto documentare tali risultati utilizzando un impianto pilota, prima di procedere all'effettiva applicazione del sistema.

Bibliografia

- BERHARDT H. - 1988. Etudes sur le traitement de l'eau éutrophi- que. Sujet Special 12 - 17th International Water Supply Congress and Exhibition, Rio 12-16 September.
- BERHARDT H. *et al.* - 1993. Eutrophication control as an essential condition for an optimum disinfection. *Water Supply*, **11** (3/4): 89-108.
- CARMICHAEL W.W. - 1992. Cyanobacteria secondary metabolites-the cyanotoxins. *J. Appl. Bacteriol.*, **72**: 445-459
- DE GROSSI P. *et al.* - 1992. Il lago del Brugneto in Liguria. Indagine sullo stato trofico. Atti Accademia Ligure di Scienze e Lettere, Vol. XLIX
- MOUCHET, P. *et al.* - 1984. Design and management of reservoirs and for water works: case studies. *Water Supply*, **2**: 1-21
- PELANDER A. *et al.* - 1996. Screening for cyanobacterial toxins in bloom and strain samples by thin layer chromatography. *Wat. Res.*, **30** (6): 1464-1470
- SLADECKOVA A. - 1993. Biofilm and periphyton formation in storage tanks. *Water Supply*, **12** (1/2): 12-15.
- VAN CRAENENBROECK, J. *et al.* - 1993. The use of dissolved air flotation for the removal of algae the Antwerp experience. *Water Supply*, **11** (3/4): 123-133.

Corso di Formazione *Criteri e metodologie per lo studio ed il controllo delle alghe in acque destinate alla potabilizzazione*.
AGAC - Reggio Emilia, 2-5 giugno 1997.

Esperienze sul controllo e la rimozione delle alghe da acque destinate alla potabilizzazione

Lorenza Meucci¹, Donatella Giacosa¹

Introduzione

Le problematiche che possono essere causate dalle alghe negli acquedotti sono principalmente legate alla loro presenza nell'acqua grezza; alcuni trattamenti, in particolare quelli che prevedono processi di tipo biologico, possono favorire il loro ulteriore sviluppo all'interno del ciclo di potabilizzazione e della rete di distribuzione. In genere la problematica principale generata dalla presenza di alghe è l'insorgenza di gusti ed odori sgradevoli, causati dal rilascio di alcune molecole sia da parte degli organismi viventi, sia da parte di quelli morti o in decomposizione; tali molecole sono rimosse dall'acqua mediante i successivi trattamenti, ma spesso l'abbattimento non risulta completo e quindi, essendo la soglia di percezione molto bassa, il problema permane a meno che non si adottino particolari accorgimenti.

Un altro inconveniente causato dalle alghe che si può verificare negli impianti di trattamento è l'eccessivo intasamento dei filtri; infatti un'ingente fioritura algale, in particolare di diatomee, può dar luogo ad una pellicola sulla superficie filtrante che accorcia in modo sostanziale l'intervallo di controlavaggio e che comporta un maggiore spreco di acqua pulita per l'esecuzione di tale operazione. Inoltre, all'interno dei bacini di accumulo un'eccessiva proliferazione algale può produrre un rapido consumo dell'ossigeno durante la fase di decadimento, provocando talvolta addirittura moria di pesci; in alcuni casi si assiste anche alla produzione di particolari tossine che, secondo la letteratura, hanno causato la morte di mucche, cavalli e altri animali che si abbeveravano da tali invasi, tossine

per le quali esiste qualche evidenza di pericolosità anche per l'uomo (AWWA, 1995).

Negli acquedotti gli studi su questo argomento sono stati mirati per lo più in due direzioni, ovvero la valutazione del carico algale presente attraverso la misura della clorofilla o della conta algale e la successiva stima della rimozione operata dai vari trattamenti di potabilizzazione oppure, soprattutto negli ultimi anni, l'identificazione delle alghe possibili produttrici di tossine e la ricerca mediante analisi chimica di queste molecole.

In generale il metodo più utilizzato dagli acquedotti per il controllo del fitoplancton all'interno di laghi o bacini dai quali si preleva per la potabilizzazione è stata l'applicazione di solfato di rame in quantità funzione del pH e dell'alcalinità dell'acqua (esistono in particolare valori tipici di dosaggio del sale per unità di superficie). Va peraltro evidenziato che quantità eccessive di rame, una volta incorporate nei sedimenti, possono risultare tossiche per gli organismi bentonici necessari per la vita dell'invaso, e pertanto opportuni programmi di monitoraggio in tal senso devono essere condotti. La strategia preventiva del controllo dei nutrienti, ad esempio attraverso la precipitazione dei fosfati, dovrebbe risultare la scelta migliore ma spesso è quella meno attuabile; viceversa, il ricorso alla destratificazione –ottenuta con varie tecnologie– può risultare costosa ma tecnicamente fattibile.

La rimozione del fitoplancton all'interno degli impianti di trattamento può avvenire in vari modi ed è in genere completata attraverso gli stadi successivi previsti nella filiera; il trattamento ritenuto più efficiente nella rimozione delle alghe è la coagulazione, che però non sembra essere efficace per l'abbattimento delle tossine

¹ Azienda Acque Metropolitane Torino S.p.A.,
Corso XI Febbraio, 14 - 10100 Torino

prodotte dalle Cianobatteriacee; fra gli ossidanti, quello che sembra produrre i migliori risultati è il biossido di cloro in confronto con il cloro e l'ozono. I trattamenti di filtrazione in genere sono efficaci, con differenze anche importanti a seconda del tipo di alghe da rimuovere, ma va detto che, qualora il carico algale sia rilevante, tali processi, se non preceduti da uno stadio di coagulazione, possono risultare troppo onerosi dal punto di vista economico. Un processo che può risultare estremamente promettente soprattutto per la rimozione delle Cianofitee è la flottazione.

L'Azienda Acque Metropolitane Torino S.p.A. distribuisce acqua potabile in quantità pari ad oltre 150 milioni di metri cubi all'anno ad una popolazione di 1.200.000 abitanti comprendente, oltre alla città di Torino, circa 30 comuni limitrofi; per il 70% l'acqua captata è di origine sotterranea (della quale una frazione importante è sottoposta a trattamenti per la rimozione del ferro e del manganese o di erbicidi o di solventi clorurati), per il 20-25% di origine superficiale (fiume Po), mentre la restante, con percentuale variabile compresa fra il 5 ed il 10%, proviene dai due primi acquedotti torinesi ad acqua sorgiva di Sangano e di Pian della Mussa. Tutta l'acqua erogata è sottoposta a trattamento di disinfezione finale; in particolare, l'acqua di origine superficiale è trattata con biossido di cloro mentre quella di origine sotterranea prevalentemente con ipoclorito di sodio ed in alcune applicazioni

con raggi ultravioletti. L'acqua di origine superficiale viene trattata in tre impianti, che captano l'acqua del fiume Po, per una potenzialità complessiva di erogazione di oltre 216.000 m³/d. Gli impianti –denominati Po 1, Po 2 e Po 3 secondo l'ordine di realizzazione– hanno subito nel corso degli anni delle modifiche anche sostanziali per poter far fronte all'evolversi delle esigenze di qualità; in particolare, il ciclo di trattamento dell'impianto Po 3 è stato modificato rispetto al ciclo utilizzato al momento della realizzazione, soprattutto negli ultimi anni, con l'introduzione di processi di tipo biologico (in Fig. 1 sono riportati gli schemi attuali di trattamento). In particolare, nell'impianto Po 3 due terzi della produzione sfruttano per la rimozione dell'ammoniaca i processi biologici che avvengono all'interno dei letti a carbone attivo, mentre l'altro terzo della portata influente viene tuttora trattato in modo chimico, ovvero mediante clorazione nel bacino di chiariflocculazione. Recentemente è stato avviato un progetto di rilocalizzazione della derivazione fluviale alcuni chilometri a monte rispetto all'attuale opera di presa (situata alle porte della città di Torino) allo scopo di migliorare la qualità dell'acqua grezza; è stato inoltre deciso di avviare una sperimentazione, della durata di due anni ed iniziata alla fine del 1995, relativa ai vantaggi ottenibili in termini di conduzione dei processi di potabilizzazione dallo sfruttamento di un bacino preesistente (derivato dall'attività di estrazione di sabbia) come bacino

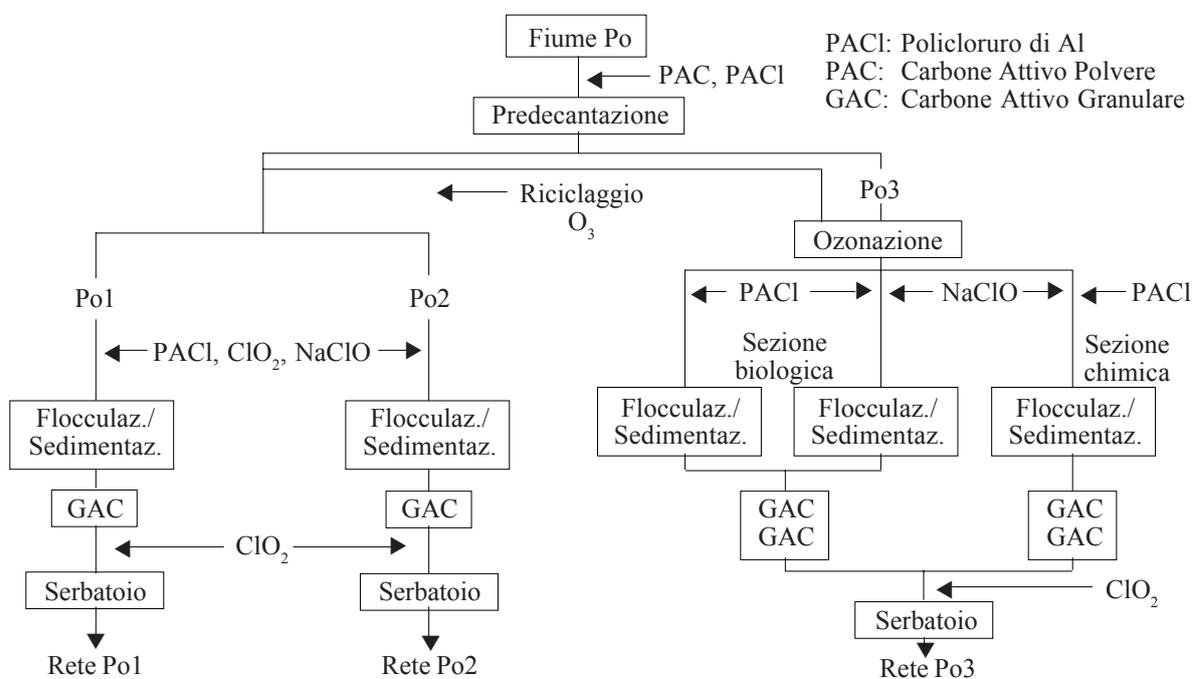


Fig. 1. Schema dei trattamenti operati dagli impianti di acqua di origine superficiale

di prelagunaggio dell'acqua grezza captata dal fiume.

Ormai da alcuni anni sono state intraprese presso la nostra Azienda alcune indagini nel campo del controllo e della rimozione delle alghe dalle acque grezze e dalle acque potabilizzate (MERLO *et al.*, 1995), indagini che possono essere riassunte nei seguenti punti:

- valutazione del carico algale presente nelle acque grezze di origine superficiale, sia in termini numerici totali che di classi dominanti;
- abbattimento del carico algale realizzato dai singoli stadi di potabilizzazione nei processi di trattamento delle acque di origine superficiale (differenza fra processi di tipo chimico e biologico);
- valutazione della potenzialità di un'acqua a favorire la crescita algale mediante test di simulazione su acque di origine superficiale e sotterranea trattate con tipi diversi di ossidanti disinfettanti;
- simulazione mediante prove batch di laboratorio di alcuni processi di potabilizzazione per la valutazione del rendimento nella rimozione del carico algale;
- studio dell'evoluzione dello stato trofico di un bacino di lagunaggio utilizzato in fase di pretrattamento degli impianti di potabilizzazione di acqua superficiale;
- influenza della proliferazione algale all'interno del bacino di lagunaggio sopra nominato sui successivi processi di potabilizzazione.

Nel seguito sono sinteticamente descritte le indagini condotte ed i risultati ottenuti nell'ambito dei punti sopra indicati; va detto che le indagini previste per la sperimen-

tazione del bacino di lagunaggio sono tuttora in corso, e che pertanto i risultati nel seguito riportati sono da ritenersi parziali ed in via di approfondimento (AZZI e DI NATALE, 1997); è inoltre prevista nel corso del 1997 la valutazione della presenza di tossine algali nell'acqua effluente da tale bacino sia mediante test di tipo immunoenzimatico, sia mediante analisi in gascromatografia di massa ed in cromatografia liquida ad alta pressione.

Valutazione del carico algale presente nelle acque di origine superficiale

La presenza di alghe nell'acqua grezza risulta complessivamente contenuta, nonostante i valori piuttosto elevati di nutrienti riscontrati praticamente durante tutto l'anno (Tab. 1); tale osservazione risulta evidente sia attraverso la conta delle alghe, sia attraverso la determinazione della clorofilla. Si assiste talvolta a qualche episodio di fioritura, soprattutto riguardante le Diatomee, ma complessivamente la qualità dell'acqua in tal senso può essere considerata buona.

Negli anni di particolare siccità si sono riscontrati problemi nella conduzione del processo di chiariflocculazione, attribuibili probabilmente proprio ad una maggior proliferazione algale causata dal maggior ristagno dell'acqua. L'esame dei campioni raccolti ha portato a classificare oltre 60 specie algali distribuite in 38 generi, appartenenti alle seguenti classi: Diatomee con 16 specie, Cloroficee con 12 specie, Cianoficee con 8 specie ed infine Crisoficee con 2 specie.

Tab. 1. Caratteristiche dell'acqua grezza di origine superficiale (fiume Po)

PARAMETRO	UNITA'	MIN	MED	MAX
pH	unità pH	7,28	7,63	8,00
Cond. Elettrica	$\mu\text{S/cm}$	200	405	520
Torbidità	NTU	1,5	21,1	1400
Temperatura	$^{\circ}\text{C}$	5,0	13,8	23,0
Ossigeno	$\text{mg O}_2/\text{L}$	8,0	9,9	11,5
Durezza	$^{\circ}\text{F}$	9,2	20,2	27,0
T.O.C.	mg C/L	0,9	1,9	8,5
Ammoniaca	$\mu\text{g NH}_4/\text{L}$	80	270	940
Nitriti	$\mu\text{g NO}_2/\text{L}$	60	170	380
Nitrati	$\mu\text{g NO}_3/\text{L}$	7,6	12,6	19,4
Ferro	$\mu\text{g Fe/L}$	10	150	700
Manganese	$\mu\text{g Mn/L}$	18	21	26
Solfati	$\text{mg SO}_4/\text{L}$	48,8	77,2	103,0
Fosforo	$\mu\text{g P}_2\text{O}_5/\text{L}$	80	230	960
Clorofilla a	$\mu\text{g/L}$	0,8	2,4	6,9
alghe	cellule/ml	327	1226	2920

Abbattimento del carico algale realizzato dai singoli stadi di potabilizzazione nei processi di trattamento delle acque di origine superficiale

La presenza di fitoplancton nell'acqua trattata (intendendo con tale termine l'acqua effluente dai bacini di chiariflocculazione) e nell'acqua filtrata (che può essere considerata in prima approssimazione coincidente con quella erogata) risulta complessivamente contenuta, come peraltro già osservato per quanto riguarda l'acqua grezza. Il trattamento più efficace in termini di rimozione algale è la chiariflocculazione (range 85-95% di abbattimento); un'ulteriore rimozione (fino ad ottenere oltre il 99% rispetto al valore dell'acqua grezza) si osserva nella fase di filtrazione su carbone attivo granulare.

La contaminazione dell'acqua filtrata (prodotta esclusivamente da Diatomee) risulta essere molto contenuta (inferiore a 10 cell/mL). Nella Tab. 2 sono riportati i valori di alghe riscontrati nei singoli stadi dei trattamenti durante il periodo di monitoraggio e la relativa ripartizione in classi. Nel bacino di chiariflocculazione "biologico", ovvero senza presenza di ossidante residuo, sono risultate in quantità superiore rispetto a quello chimico tutte e tre le classi delle Diatomee, delle Cloroficee e delle Cianoficee; le Cloroficee, in particolare, sono presenti in numero assai limitato nel bacino chimico, mentre costituiscono la classe dominante in quelli biologici.

Particolare attenzione è stata dedicata alla contaminazione algale effluente dagli stadi dei trattamenti chimici e biologici; a questo proposito si è osservato che per quanto riguarda le classi delle Cloroficee e delle Cianoficee (presenti queste ultime in numero maggiore) non si è rilevata differenza nelle acque effluenti dai filtri chimici e biologici; viceversa le Diatomee, che sono la classe dominante, sono presenti in alcuni filtri biologici in numero superiore.

Nella Fig. 2 sono diagrammati i risultati ottenuti rapportando i valori relativi alla contaminazione di ogni singolo filtro con il minimo (contaminazione algale più bassa) ed il massimo (contaminazione algale più elevata) riscontrati in ogni campionamento ed effettuando quindi la media relativa ai 10 campionamenti eseguiti (i valori di

maggior contaminazione evidenti per il filtro 1 sono connesse con problematiche durante la prima fase di lavaggio).

Valutazione della potenziale ricrescita algale all'interno della rete di distribuzione

Allo scopo di valutare la stabilità nel tempo di tipologie di acque diverse nei confronti di alcuni parametri chimici e biologici, è stata realizzata una simulazione prelevando alcuni campioni della stessa acqua nello stesso momento, campioni che sono stati conservati e successivamente analizzati con scadenze prestabilite (fino ad alcuni mesi). Questa indagine è stata eseguita su otto acque erogate diverse, ovvero un'acqua di origine superficiale sottoposta al ciclo di trattamento già descritto con disinfezione finale a biossido di cloro e sette acque di origine sotterranea, in alcuni casi sottoposte a disinfezione con ipoclorito di sodio, in altri con raggi ultravioletti, in un caso con biossido di cloro ed in un altro caso senza disinfezione finale (MEUCCI *et al.*, 1996).

Pur essendo la quantità di alghe presente al momento del prelievo estremamente contenuta e confrontabile in tutti i campioni (<50 cellule/mL), alcuni campioni a distanza di alcuni mesi hanno presentato una notevole proliferazione algale (evidente a occhio nudo), in particolare un campione trattato con UV e il campione nel quale non era stato dosato alcun disinfettante; in entrambi i casi queste acque erano di provenienza sotterranea, mentre l'acqua di origine superficiale, caratterizzata dalla presenza di alghe ovviamente più elevata nella relativa acqua grezza, non ha mostrato alcuna crescita. Ciò conferma l'efficienza del trattamento operato sulle acque di origine superficiale nel suo complesso per la rimozione del carico algale, ed in particolare le prestazioni come algicida del biossido di cloro dosato in disinfezione finale.

Simulazione mediante prove batch di laboratorio di alcuni processi di potabilizzazione

Le prove effettuate laboratorio tramite jar-test hanno evidenziato una maggiore efficienza dei trattamenti coagulazione e flocculazione (rimozioni superiori al 90%)

Tab. 2. Presenza di fitoplancton negli stadi dei trattamenti di potabilizzazione delle acque di origine superficiale (impianti Po1/Po2 e Po3).

PRELIEVO	Range n./ml	Diatomee %	Cloroficee %	Cianoficee %
Grezza	200-2000	87	8	5
Trattata Po1/2	50-200	77	6	17
Trattata Po3	20-150	73	3	24
Filtrata Po1/2	<10	51	32	17
Filtrata Po3	<10	72	4	24

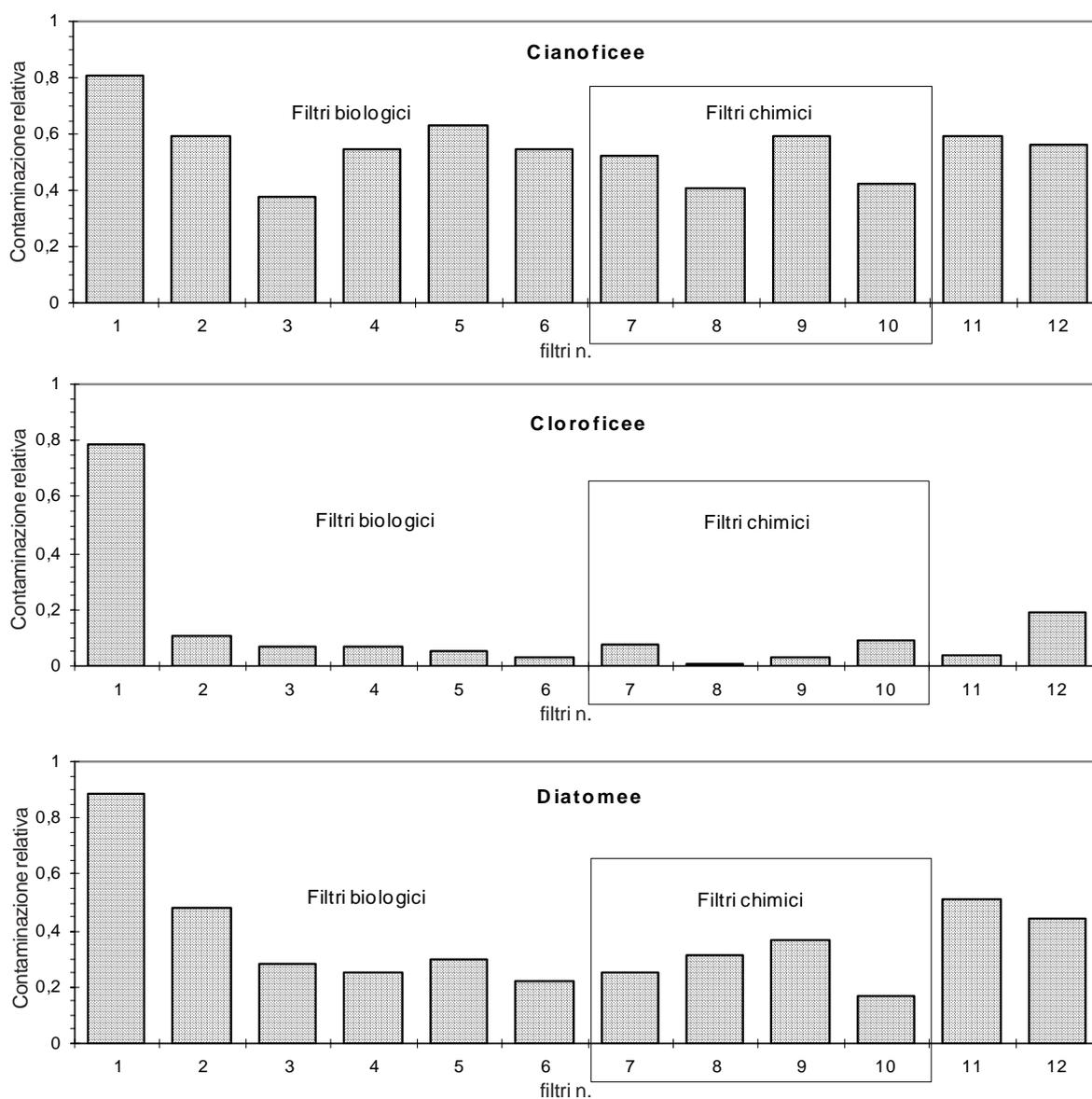


Fig. 2. Contaminazione algale effluente dai filtri chimici e biologici

rispetto a quelli di ossidazione; fra gli ossidanti testati, il più efficace è risultato il biossido di cloro con rimozioni del 30% sulle quali non hanno avuto influenza né il tempo di contatto (sono sufficienti tempi inferiori a 20') né il dosaggio. Quasi del tutto ininfluenti sono risultati i trattamenti con ozono e con ipoclorito, come anche il trattamento ozono/perossido di idrogeno. Fra i coagulanti testati (policloruri e policlorosolfati di alluminio) non sono state evidenziate differenze rilevanti tranne per quelli a concentrazione di principio attivo (Al_2O_3) al 18%, che sono risultati i più scarsi (rimozione inferiore al 90%).

Evoluzione dello stato trofico di un bacino di lagunaggio

Nell'ambito della valutazione dell'evoluzione delle caratteristiche delle acque sottoposte a pretrattamento di lagunaggio, particolare attenzione è stata rivolta allo studio dello stato trofico del bacino utilizzato. L'eutrofizzazione di un invaso destinato a fornire acqua per potabilizzazione costituisce infatti il principale deterrente contro l'adozione di tale pretrattamento a causa dei problemi che può generare, sia in termini di qualità della risorsa idrica che in fase di trattamento.

Lo stato trofico di un corpo idrico può essere valutato,

in prima approssimazione, attraverso alcuni indici. Gli indici più diffusi sono basati su parametri che valutano la presenza di nutrienti (solitamente il fosforo che è considerato in genere il nutriente limitante) o di biomassa algale attraverso l'analisi del pigmento fotosintetico più comune, cioè la clorofilla *a*, o, più specificamente, lo spessore dello strato fotico (disco Secchi).

Gli indici di stato trofico TSI (Trophic State Index), pur fornendo indicazioni rapide e di semplice esecuzione, rappresentano una valutazione istantanea della qualità dell'invaso e sono poco informativi sull'evoluzione della qualità del corpo idrico e sulle eventuali strategie da adottare per limitare le fioriture algali. Molti parametri possono quindi essere utilizzati per verificare la presenza di condizioni adatte all'instaurarsi di fioriture algali quali, ad esempio, la temperatura, la profondità, la morfologia del bacino e le sue condizioni idrodinamiche.

Lo stato trofico può essere valutato in modo più approfondito anche attraverso lo studio della variazione di altri parametri collegati alla crescita o alla decomposizione della biomassa algale quali l'ossigeno disciolto, che aumenta con l'attività fotosintetica e diminuisce in seguito all'ossidazione della biomassa; l'ammoniaca, che presenta valori elevati in condizioni di ipossia; lo ione nitrato, che diminuisce in seguito ad ipossia; il pH, che aumenta in seguito ad elevata attività fotosintetica. La variazione di questi parametri, tuttavia, è sempre abbastanza contenuta e richiede pertanto un numero elevato di rilievi lungo gli assi verticale ed orizzontale del bacino.

Gli invasi artificiali inoltre, spesso a causa delle condizioni idrologiche imposte, presentano degli ecosistemi atipici rispetto ai laghi naturali essendo infatti caratterizzati da una maggiore instabilità, da bassi indici di diversità biologica, e dalla presenza di organismi cosmopoliti e di ecosistemi ibridi lacustri-fluviali.

La conoscenza della composizione della biocenosi fitoplanctonica, pur essendo di più complessa determinazione, fornisce in genere la miglior valutazione sia dello stato trofico del corpo idrico, che della sua idoneità al trattamento per la produzione di acqua destinata al consumo umano. Nel caso in oggetto, il bacino di lagunaggio presentava in condizioni statiche uno stato di mesotrofia avanzata, con dominanza numerica di Cianofite e frequenti fioriture di specie diverse, alcune delle quali indicatrici di eutrofia. Anche la determinazione degli indici TSI, valutati attraverso il rilievo con il disco Secchi ed il contenuto di fosforo totale, portavano alle stesse conclusioni (valori di TSI intorno a 50).

Con la variazione delle condizioni idrodinamiche—ovvero durante il periodo di sperimentazione nel corso del quale una portata di acqua, pari a circa 1000 L/s, veniva prelevata dal fiume Po e, dopo una permanenza

teorica all'interno del bacino di 18 giorni, veniva reimessa nel corso d'acqua—si è riscontrata una diminuzione del biovolume annuo medio e delle Cianofite e, viceversa, un aumento dell'ultraplancton e del numero delle specie fito e zooplanctoniche, indicando sia una regressione che una maggiore variabilità dello stato trofico del bacino considerato.

Basandosi su campionamenti a frequenza circa mensile, si è potuto osservare la corrispondenza dei TSI calcolati attraverso i singoli parametri (ovvero clorofilla, fosforo totale e disco Secchi) soltanto nei mesi estivi (giugno, luglio e agosto), individuando in tali periodi il fosforo come fattore limitante. Nei mesi di novembre, dicembre, gennaio, marzo e aprile, il fattore limitante è risultata la luce solare. Dalle informazioni desunte da questa serie di indagini, attribuendo un maggior peso all'informazione ottenuta attraverso il TSI calcolato sulla clorofilla *a*, si è rilevato uno stato di eutrofia nel campionamento del mese di maggio, una condizione di oligotrofia nei mesi di ottobre, novembre, dicembre, aprile e giugno, ed infine una di mesotrofia negli altri campionamenti.

Influenza della proliferazione algale sulla conduzione dei processi di potabilizzazione

Numerosi sono gli inconvenienti collegati all'incremento della biomassa algale, sia in termini di costo di produzione di acqua potabile che di qualità del prodotto finale. Di seguito vengono riportate le osservazioni di alcuni effetti causati dalla proliferazione algale all'interno del bacino di lagunaggio (ROVERI *et al.*, 1997); tali osservazioni sono state ricavate tramite test di simulazione dei trattamenti di potabilizzazione condotti sulle acque prelevate all'ingresso ed all'uscita del bacino in oggetto.

RIDUZIONE DELLA FILTRABILITÀ.

La presenza di alghe ostacola la filtrazione, riducendone la velocità. L'entità di tale rallentamento osservato sui campioni effluenti dal bacino rispetto a quelli influenti, è stata quantificata nell' 11% nonostante la misura della torbidità sui medesimi campioni mostri mediamente un valore decisamente inferiore (65%) in uscita dal bacino rispetto all'ingresso, il che conferma l'effetto negativo prodotto dalla presenza delle alghe.

AUMENTO DEL POTENZIALE DI FORMAZIONE DI COMPOSTI ORGANOALOGENATI.

Attraverso i parametri TTHMFP (ovvero Trihalomethane Formation Potential) e AOXFP (Adsorbable Organic Halides Formation Potential), che forniscono una stima della possibile produzione di sottoprodotti della disinfezione, si è evidenziato nell'acqua effluente dal bacino un aumento contenuto (attorno al 4%) dei trihalometani ed un

aumento più cospicuo (del 17%) degli organoalogenati adsorbibili, rispetto all'acqua influente. Tale incremento, segnalato in letteratura, è collegato alla presenza sia di metaboliti algali che di molecole della matrice extracellulare.

INFLUENZA SULLA CHIARIFLOCCULAZIONE.

La presenza di alghe può influenzare la resa di questo processo: nel presente caso si è osservato, a fronte di un abbattimento della torbidità quantificabile nel 65% circa, una riduzione media solo del 25% della dose ottimale di flocculante richiesta per trattare l'acqua sottoposta a lagunaggio rispetto all'acqua grezza del fiume. L'entità del peggioramento del processo della coagulazione varia comunque con i diversi tipi di alghe, ed è solitamente più marcata con le alghe verdi rispetto alle Diatomee.

INFLUENZA SULLA CLORORICHIESTA.

I campioni prelevati in uscita dal bacino di lagunaggio hanno mostrato in media un contenuto di ammoniaca inferiore del 53% rispetto a quelli prelevati in ingresso. Tale riduzione comporta teoricamente una diminuzione proporzionale della dose di cloro richiesta per assicurare l'ossidazione dell'ammoniaca e delle altre sostanze ossidabili presenti. La riduzione della cloro richiesta, osservata mediante la misura del cloro residuo effettuata ad opportuni intervalli di tempo di contatto, è risultata variabile dal 12 al 20%, quindi decisamente inferiore al valore atteso in base all'abbattimento dell'ammoniaca evidenziando pertanto nella acqua effluente dal bacino la presenza di una maggior quantità di materiale ossidabile, diverso dall'ammoniaca, rispetto all'influente.

Ringraziamenti

Gli studi descritti sinteticamente in questo elaborato sono stati condotti con la preziosa collaborazione della Dott. Cinzia Zugolaro e dei p.c. Gianluca Bocina ed Emilia Di Nardo.

Riferimenti bibliografici

AMERICAN WATER ASSOCIATION - 1995. Problem Organism in Water: identification and Treatment. American Water Association Manual.

AZZI L., DI NATALE F. - 1997. Indagine sui popolamenti fito- e zooplanctonici del bacino di lagunaggio di La Loggia. *Centro Ricerche in Ecologia e scienze del Territorio*, Torino.

MERLO G., ZUGOLARO C., BOCINA G., MEUCCI L. - 1995. Presenza di fitoplancton negli impianti di potabilizzazione di acqua superficiale. Atti Convegno "*Biologo oggi: una realtà scientifica professionale in evoluzione*", Torino.

MEUCCI L., GIACOSA D., DI NARDO E. - 1996. La formazione di sottoprodotti indesiderabili a seguito dei trattamenti di potabilizzazione di acque superficiali. Atti Convegno "*Trattamenti delle acque primarie*", Bressanone.

ROVERI C., GENON G., MEUCCI L., - 1997. Primi risultati della sperimentazione di un pretrattamento di lagunaggio. Atti Convegno dell'*Associazione Ingegneria Sanitaria*, (accettato per la pubblicazione), Ravello.