

# PROGETTO “UN MARE... DI RISORSE!”

## Lato scientifico svolto all'ARPA-Puglia

Di Caricchia Gaia, Cordisco Francesca, d'Errico Fabiola, Frisoli Ilaria, Tenore Martina

### INTRODUZIONE:

Durante l'anno scolastico 2012/2013 il Liceo Scientifico G. Marconi ha proposto, e inserito nel POF, il progetto “Un mare di... risorse”, all'iniziativa hanno aderito 22 alunni di classi diverse. I requisiti principali per frequentare il corso sono stati:

- Interesse verso la conoscenza del mare visto come ambiente naturale da proteggere e salvaguardare;
- Abilità nel nuoto;
- Interesse verso gli sport marinareschi, in particolar modo diving e vela.

Il progetto è stato articolato in tre fasi: un lato scientifico, uno sportivo e un campo scuola nell'isola di Favignana (TP), come applicazione delle competenze acquisite.

Il lato scientifico si è articolato in quattro incontri con lezioni teorico-pratiche, presso l'ARPA Puglia-DAP di Foggia (Agenzia Regionale per la Prevenzione e Protezione dell'Ambiente), che ha come obiettivo principale la prevenzione e la tutela dell'ambiente ai fini della salvaguardia delle condizioni ambientali, quindi, dei cittadini. Il lato sportivo è stato svolto presso i locali della scuola con lezioni teorico-pratiche di vela e diving.

## 1°INCONTRO:

Durante la parte teorica del primo incontro abbiamo appreso cos'è l'ARPA-Puglia e il campo di indagine di cui si occupa: monitoraggio e tutela delle quattro matrici ambientali (acqua, aria, terra e aree naturali). Per quanto riguarda l'aria, alcune attività specifiche svolte dall'ARPA sono:

- Supporto processi decisionali a livello locale e regionale nella gestione della qualità dell'aria;
- Pianificazione per il risanamento e la tutela della qualità dell'aria;
- Verifica degli eventuali interventi di risanamento.

Con la rivoluzione industriale si è avuto una variazione della composizione dell'aria nella bassa troposfera a causa dell'aumento di gas e polveri sottili dovuti prevalentemente alla combustione del carbonio. Infatti, in questo periodo, in Inghilterra, si inizia ad assistere ad una variazione genetica di alcune specie di farfalle notturne, come la Biston-Betularia, originariamente di colore chiaro, variano geneticamente il colore, per sfuggire ai predatori che le individuavano con facilità su tronchi ormai scuri per la presenza della polvere di carbone dovute alla combustione. La variazione genetica della Biston-Betularia prende il nome di variazione carbonaria.

Riguardo alla matrice ambientale suolo, l'ARPA si occupa di:

- Elaborazione di linee guida per le attività di monitoraggio dell'inquinamento delle acque e del suolo, del ciclo di rifiuti e dei siti contaminati;
- Supporto tecnico alla regione e agli enti locali per la definizione di piani di risanamento ambientale.

Per quanto riguarda il monitoraggio delle acque, l'ARPA si occupa, non solo della ricerca degli inquinanti, ma anche dell'elaborazione di linee guida per la buona riuscita di tali attività.

Un problema delle acque costiere è quello dell'eutrofizzazione. L'eutrofizzazione è un processo che porta ad un aumento dell'arricchimento organico, dovuto generalmente ad una maggiore disponibilità di nutrienti che causa la morte di organismi bentonici (pesci di fondo, molluschi, crostacei, ecc...), con impatti negativi per importanti settori dell'economia. L'aumento della disponibilità di nutrienti è dovuto a:

- Attività umane;
- Fognature;
- Agricoltura;
- Acquacoltura;
- Scarichi industriali;
- Eventi meteorologici e oceanografici;
- Upwelling (fenomeno di risalita in superficie delle acque fredde oceaniche di profondità causata dall'azione dei venti che soffiano verso l'equatore e dalla rotazione terrestre);
- Tempeste e inondazioni,
- Input atmosferici.

Per quanto riguarda la parte pratica, questo incontro è stato dedicato alla ricerca e al conteggio delle colonie batteriche di *Escherichia coli*.



Come prima cosa è stato preso un campione di 100 ml di acqua marina ed effettuata una filtrazione su membrana. Secondo la procedura standard di filtrazione, sono state poste, con apposita pinza, le membrane filtranti sulla base di un imbuto filtrante e

fissato il bicchiere con il volume da analizzare. Le membrane impiegate sono di *acetato di cellulosa*. Una volta effettuata la filtrazione, le membrane sono state sollevate dal supporto della rampa filtrante



mediante una seconda pinzetta sterile e adagiate direttamente sui terreni di coltura preventivamente preparati. Al termine le piastre sono state messe ad incubare, capovolte, nel termostato alla temperatura di 44°C . Dopo l'incubazione sono state contate tutte le colonie che si sono sviluppate. Le colonie di

*Escherichia-Coli* sviluppate, erano ben evidenti per una colorazione gialla in netto contrasto con il terreno di coltura. Il batterio ha formato le colonie perché il tempo e la temperatura, durante l'incubazione, sono stati sufficienti per la riproduzione di batteri già presenti nell'acqua campionata. Quando le piastre sono



state riportate a temperatura ambiente, è stato possibile l'isolamento e la differenziazione dell'Escherichia coli.

## 2°INCONTRO:

Il secondo incontro è stato dedicato interamente alla matrice ambientale acqua, a cui siamo interessati ai fini del nostro progetto. Per la salvaguardia di questa matrice si attuano due tipologie di monitoraggio:

- Monitoraggio delle acque di balneazione attraverso l'analisi microbiologica e monitoraggio dell'Ostreopsis (microalga marina);
- Monitoraggio delle acque marino costiere attraverso l'analisi chimica e biologica di acque, sedimenti e biota.

Il protocollo che determina il controllo delle acque di balneazione ha subito una variazione con l'introduzione della direttiva 2006/7/CE. Con questa direttiva, sono stati diminuiti i punti di monitoraggio e, per mantenere costante il livello di tutela sanitaria e ambientale sono state introdotte le aree omogenee, aree cioè con stesse caratteristiche fisiche e chimiche. La regione Puglia con il supporto di ARPA ha individuato 252 aree omogenee (più 15 di Margherita di Savoia) ed altrettanti punti di monitoraggio per la provincia di Foggia. Tra i punti già previsti per il monitoraggio 'Balneazione', 20 vengono anche sottoposti ad un campionamento quindicinale per determinare la presenza di microalghe bentoniche tossiche (alghe di piccole dimensione, che vivono a stretto contatto con il fondale marino o fissate ad un supporto solido e possono essere dannose per l'essere umano. Es: Ostreopsis Ovata). La direttiva prevede, inoltre, la delimitazione di un tratto di costa da vietare alla balneazione nel caso in cui siano presenti immissioni di acque come: fiumi, torrenti, fossi, canali, collettori di scarico, ecc..., qualunque ne sia l'andamento (continuo, discontinuo), la natura (civile, industriale, agricola, mista) e la portata. Inoltre, nel monitoraggio delle acque è importante tenere sotto controllo la presenza di due parametri microbiologici: Escherichia Coli (il cui limite accettato per le acque marine è di 500 UFC (Unità Formanti Colonie, /100 ml) e Enterococchi intestinali (il limite accettato per le acque marine è di 200 UFC/100 ml). Se sono presenti queste due specie di batteri, ciò significa che nelle immediate vicinanze sono presenti degli scarichi fognari. Successivamente viene effettuata una classificazione delle acque sulla base degli esiti di quattro anni di monitoraggio, seguendo una scala di qualità che si distingue in:

- Scarsa;

- Sufficiente;
- Buona;
- Eccellente.

Infine viene stilato un bollettino in cui vengono indicate le date di monitoraggio, i punti di campionamento e i risultati analitici per ciascuno delle acque di balneazione designate, con l'indicazione di eventuali superamenti rispetto ai limiti di legge (inquinamenti di breve durata o situazioni anomale). La procedura che viene utilizzata per il campionamento dell'acqua prevede l'esame di un campione di 500 ml (volume tale che le sue proprietà possano rappresentare entro un limite accettabile quelle della matrice originaria) ad una profondità di 30 cm circa sotto il pelo dell'acqua, mensilmente, dalle ore 9:00 alle ore 16:00. E' necessario preservare questi campioni dall'esposizione alla luce solare diretta e conservarli a 4°C circa, per preservarne le condizioni.

Durante la parte pratica del secondo incontro, si è parlato della cromatografia come tecnica di separazione di molecole simili in base alle loro proprietà chimiche e fisiche. Essa si basa sulla diversa velocità di migrazione con cui più sostanze, depositate su un adatto supporto, detto fase stazionaria, vengono trasportate da un fluido detto fase mobile. A causa di diverse interazioni, queste sostanze si stratificano in posizioni differenti sul supporto permettendone il riconoscimento.

Due esempi di sistemi cromatografici che abbiamo potuto osservare sono:

- 1) Gas-cromatografia in cui la fase mobile è un gas (elio) e la fase stazionaria è un polimero distribuito su una colonna che fa da supporto;
- 2) Cromatografia liquida a scambio ionico in cui la fase mobile è un liquido e la fase stazionaria è una resina.

In seguito siamo andati in laboratorio per rilevare i risultati dell'attività svolta durante l'incontro precedente e abbiamo effettuato il test dell'indolo e dell'ossidasi.

L'indolo è un composto contenente azoto che si forma dalla degradazione del triptofano (amminoacido). Dopo l'incubazione a 37 °C, sono state aggiunte 2-3

gocce di reattivo di Kovacs

(dimetilamminobenzaldeide) per poter rilevare la presenza di Triptofanasi, ottenendo, entro pochi



secondi, una colorazione rossa ad anello sull'interfaccia, ossia una reazione positiva; infatti l'*Escherichia coli* è generalmente indolo-positivo.



Il secondo test effettuato è quello dell'ossidasi, che permette di differenziare i microrganismi in base alla presenza dell'enzima citocromossidasi. Esso si basa sulla produzione batterica di un enzima ossidasi



intracellulare. In presenza di ossigeno atmosferico e di citocromo C, questo enzima ossida il reattivo fenilendiamina, formando l'indofenolo, un composto di colore viola. È stata prelevata, con un'ansa sterile, la colonia cresciuta sul terreno



Agar soia triptone (TSA) e strisciata su una carta da filtro impregnata di reagente Ossidasi, non ottenendo sviluppo di colore, è stato possibile definire la reazione negativa, come accade usualmente per l'*Escherichia coli*.

coli.

### 3 INCONTRO:

Durante il terzo incontro, ci siamo dedicate allo studio del monitoraggio delle acque marino-costiere. In quest'ultima tipologia di controllo vengono considerate tre matrici con altrettanti parametri:

MATRICI	PARAMETRI
ACQUA	<ul style="list-style-type: none"><li>• FISICO-CHIMICI</li><li>• BIOLOGICI</li></ul>
SEDIMENTI	<ul style="list-style-type: none"><li>• CHIMICI</li><li>• ECOTOSSICOLOGICI</li><li>• BIOLOGICI</li></ul>
BIOTA	<ul style="list-style-type: none"><li>• CHIMICI</li><li>• BIOACCUMULI</li></ul>

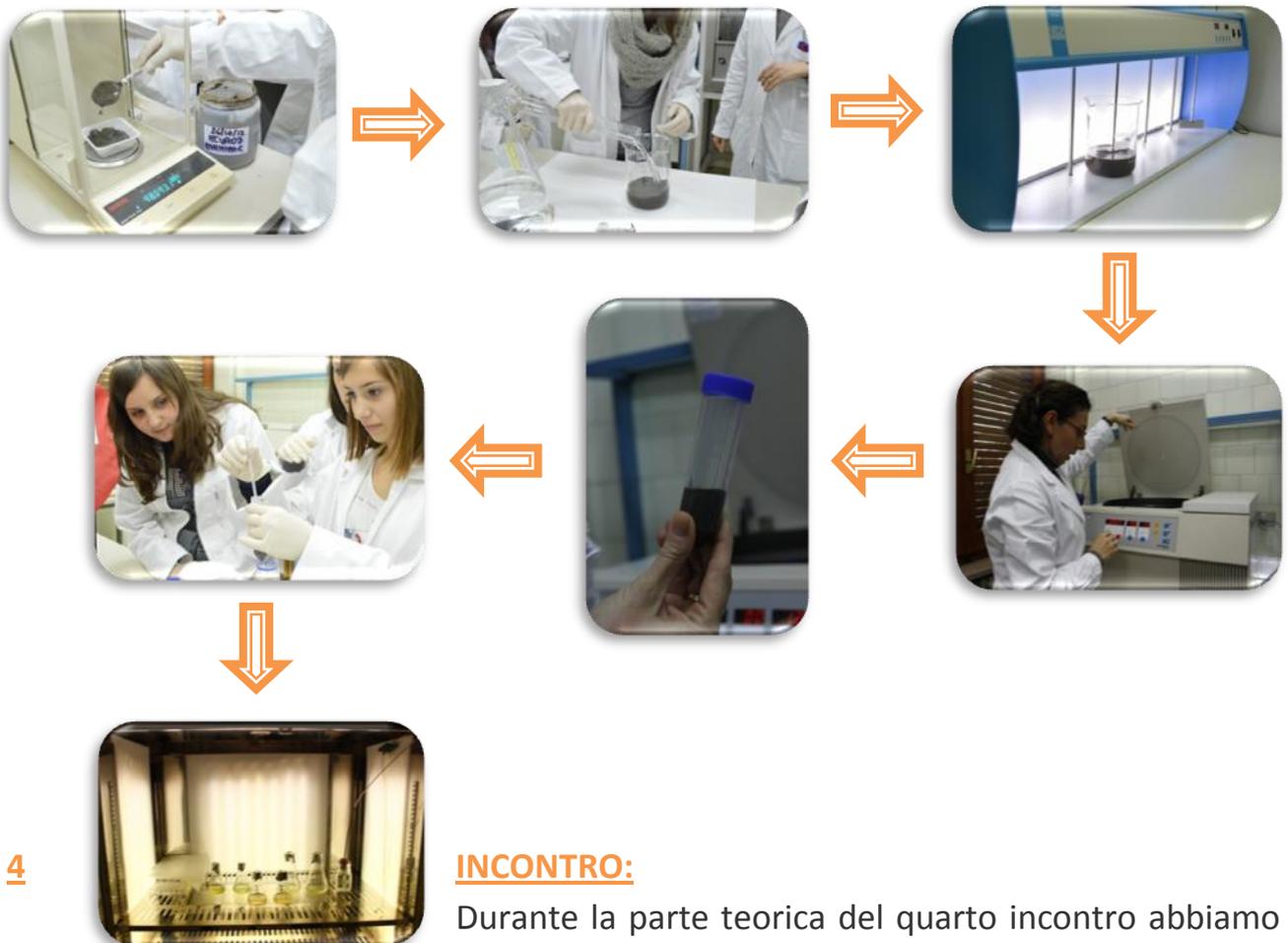
Per il monitoraggio delle acque marino-costiere l'ARPA-Puglia ha individuato 12 transetti. Ciascun transetto è costituito da 2 stazioni, distinte in base alla distanza dalla costa, una posta a 1750 m e l'altra a 500 m. Oltre alla matrice ambientale acqua, è importante il monitoraggio dei sedimenti, poiché il loro studio può determinare la presenza di inquinanti nell'ambiente. Inoltre, attraverso l'analisi dei sedimenti è possibile trarre informazioni sulle situazioni in atto e su quelle pregresse, questo perché i sedimenti conservano una sorta di "memoria storica" e possono essere letti come l'archivio delle attività umane. Gli strumenti che è possibile utilizzare per questa tipologia di campionamento sono:

- Benna Van Veen (consente di prelevare un campione di grandi dimensioni anche in sedimenti grossolani);
- Carotatore (consente di campionare alla profondità voluta e studiarne la stratificazione);
- Draghe (per campionamenti su vaste aree).

Dopo aver prelevato il sedimento dal fondale, vengono effettuate una serie di analisi:

- Analisi chimiche (analisi granulometrica, carbonio organico, metalli pesanti ecc...)
- Test ecotossicologici (per stabilire quanto è tossico per l'ambiente ciò che è presente).

Per quanto riguarda la parte pratica dell'incontro, abbiamo sperimentato in prima persona il lavoro svolto all'interno dei laboratori dell'ARPA dopo il prelievo dei sedimenti. Come prima cosa sono stati pesati 100 g di un campione di sabbia e successivamente trasferito in un bacher di vetro a cui sono stati aggiunti 200 ml di acqua, il tutto è stato agitato, con l'utilizzo di un flocculatore, a 230 rpm (giri al minuti) per 24 h e conservato in una cella termostatica alla temperatura di 4°C con un tempo di sedimentazione di 1 h. Il passaggio successivo è stato quello di suddividere il campione in 5 provette più piccole, che sono state posizionate nella centrifuga. Una volta terminata questa operazione, all'interno di ogni provetta, la sabbia si è depositata sul fondo e l'acqua al di sopra. Poi con una pompetta è stata prelevata l'acqua e depositata in un contenitore di vetro che abbiamo riposto in frigorifero.



**4**

**INCONTRO:**

Durante la parte teorica del quarto incontro abbiamo parlato della biodiversità, ossia l'insieme di tutte le

forme viventi geneticamente diverse e degli ecosistemi ad essi correlati. Per la classificazione dei corpi idrici marino costieri è importante considerare:

- Composizione, abbondanza e biomassa del fitoplancton (insieme di organismi autotrofi fotosintetizzanti presenti nel plancton);
- Elementi chimico-fisici;
- Composizione e abbondanza della flora acquatica;
- Composizione e abbondanza dei macroinvertebrati bentonici.

Per macroinvertebrati bentonici si intendono tutti quegli organismi animali, che vivono a stretto contatto con il fondale marino e che superano i 0,5 mm di dimensione. Essi si distinguono in:

- Sessili (organismi fissi al substrato, come coralli, spugne, mitili, ecc...);
- Sedentari (organismi in grado di compiere movimenti attivi ma su scala molto ridotta, come gasteropodi, bivalvi, isopodi, ecc...);
- Vagili (organismi che si muovono molto velocemente, come molluschi, decapodi, echinodermi, ecc...).

La loro importanza è dovuta al loro utilizzo come indicatori biologici. Un indicatore biologico è un organismo o gruppi di organismi che caratterizza lo stato di un ecosistema e ne evidenzia le probabili alterazioni. La metodologia si distingue in attività di campo (campionamento con benna Ekman + setacciatura dei campionamenti raccolti) e attività in laboratorio. In quest'ultimo incontro abbiamo sperimentato in prima persona l'attività in laboratorio. Come prima cosa abbiamo ripulito il campione con l'aiuto di un setaccio e dell'acqua. In seguito è stato effettuato lo smistamento del campione (separazione degli organismi da individuare dal materiale inorganico) procedura nota come "sorting" e l'identificazione tassonomica (fino a livello di specie), riconoscendo i seguenti organismi campionati:



Tellina Pulchella



Rissoa marginata



Nephtys part.  
proboscide estroflessa



*Neanthes succinea*



*Nassarius cuvieri*



*Mysella* sp.



*Lumbrinereis*



*Liocarcinus depurator*FS02



*Eunice vittata* 1



*D. pugilator* in  
conch di *Nassarius*



*Tricolia pullus*