

Allegato 1: Saggi di ecotossicità per la determinazione della qualità delle acque del canale Lorno e della canaletta Vescovado e del suolo nei pressi della Centrale Termoelettrica Edison S.p.A. di San Quirico

RELAZIONE TECNICA

SAGGI DI ECOTOSSICITA' PER LA DETERMINAZIONE DELLA QUALITÀ DELLE ACQUE DEL CANALE LORNO E DELLA CANALETTA VESCOVADO E DEL SUOLO NEI PRESSI DELLA CENTRALE TERMOELETTRICA EDISON S.P.A. DI SAN QUIRICO

Committente

TAUW Italia S.r.l.
Galleria Giovan Battista Gerace 14
56124 Pisa
Italia

Laboratorio Incaricato

ChemService S.r.l. Controlli e Ricerche
Via F.lli Beltrami 15,
20026 Novate Milanese (MI)
Italia

Sommario

OBIETTIVO DEL PROGETTO	3
IDENTIFICAZIONE DEI CAMPIONI.....	3
LINEE GUIDA E METODI UTILIZZATI.....	6
DEFINIZIONI	6
Test di Inibizione della Crescita Algale	6
Test di Tossicità Acuta su <i>Daphnia magna</i>	7
Test di Tossicità su Embrioni di Pesce <i>Danio rerio</i>	7
COMPOSIZIONE DELLE MATRICI TEST	8
Test di Inibizione della Crescita Algale	8
Test di Tossicità Acuta su <i>Daphnia magna</i>	8
Test di Tossicità su Embrioni di Pesce <i>Danio rerio</i>	9
Saggio di Tossicità Acuta su <i>Eisenia fetida</i>	9
METODO DI SVOLGIMENTO DEI SAGGI.....	9
Test di inibizione della crescita algale.....	10
Saggio di Tossicità Acuta su <i>Daphnia magna</i>	10
Saggio di Tossicità Acuta su embrioni di pesce (<i>Danio rerio</i>)	11
Saggio di Tossicità Acuta su <i>Eisenia foetida</i>	11
Analisi statistica dei dati	12
FASE SPERIMENTALE	12
Test di Inibizione della Crescita Algale	12
Saggio di Tossicità Acuta su <i>Daphnia magna</i>	13
Saggio di Tossicità Acuta su embrioni di pesce (<i>Danio rerio</i>)	15
Test di Inibizione della Crescita Algale	17
Saggio di Tossicità Acuta su <i>Daphnia magna</i>	18
Saggio di Tossicità Acuta su embrioni di pesce (<i>Danio rerio</i>)	19
Preparazione dell'elutriato	22
Saggio di Tossicità Acuta su <i>Daphnia magna</i> :.....	22
Saggio di Tossicità Acuta su <i>Eisenia foetida</i>	24
RISULTATI E CONCLUSIONI.....	25

OBIETTIVO DEL PROGETTO

L'obiettivo del progetto è stato la caratterizzazione ecotossicologica delle acque del canale Lorno e della canaletta Vescovado e del suolo presenti nelle immediate vicinanze della centrale termoelettrica Edison S.p.A di San Quirico (Parma).

Per effettuare l'indagine ecotossicologica, sono stati prelevati un campione di acqua in ciascuno dei due canali ed un campione di suolo di un campo limitrofo. Sui due campioni di acqua è stata eseguita una batteria di saggi rappresentativi di diversi livelli trofici. Gli studi di ecotossicità sono stati svolti sull'alga verde unicellulare *Pseudochirkneriella subcapitata* (per la valutazione degli effetti tossici cronici ed acuti), sul crostaceo cladocero *Daphnia magna* Strauss (per la valutazione degli effetti tossici acuti) e su embrioni di pesce della specie *Danio rerio* (per la valutazione degli effetti tossici acuti).

Sul campione di suolo si è valutato l'impatto sugli organismi terrestri ed i possibili effetti della lisciviazione del suolo sugli organismi acquatici.

A questo scopo è stato svolto uno studio di tossicità sul verme *Eisenia fetida* (per la valutazione degli effetti tossici acuti sul comparto terrestre) e uno studio sul crostaceo cladocero *Daphnia magna* Strauss (per la valutazione degli effetti tossici acuti sul comparto acqua (elutriato)).

IDENTIFICAZIONE DEI CAMPIONI

Identificazione campione	Acqua Canale Lorno	Acqua Canaletta Vescovado	Suolo
Codice interno ChemService	2102446-001	2102446-002	2102446-003
Data di prelievo e ricevimento in laboratorio	29/03/2021		
Quantità	5 L cad.		~20 kg
Contenitore	Bottiglia in HDPE		Sacco

I campioni acquatici sono stati trasportati in contenitore refrigerato, mentre i campioni di suolo a temperatura ambiente. I campioni sono stati stoccati a 4°C all'arrivo in laboratorio fino al momento dell'analisi.

PUNTI DI CAMPIONAMENTO – IMMAGINI



Immagine 1 - Panoramica dell'area di campionamento nei pressi della centrale termoelettrica Edison S.p.A



Immagine 2 - Punto di campionamento Canale Lorno (coordinate: 44°55'12.58"N 10°18'19.20"E)



Immagine 3 - Punto di campionamento Canaletta Vescovado (coordinate: 44°55'44.66"N 10°18'22.97"E)



Immagine 4 - Punto di campionamento Suolo (coordinate: 44°55'45.04"N 10°17'56.90"E)

LINEE GUIDA E METODI UTILIZZATI

- OECD No. 236, 2013 - “Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test”
- UNI EN ISO 15088:2009 “Determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish eggs (*Danio rerio*).
- OECD No. 202, 2014 - “Daphnia sp., Acute Immobilization Test”
- APAT CNR IRSA 8020 b man 29 2003 “Metodi di valutazione della tossicità con Daphnia “
- UNI EN ISO 6341:2004 “Determination of the inhibition of the mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea)”.
- OECD No. 201, 2011 - “Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test”
- UNI EN ISO 8692:2012 “Fresh water algal growth inhibition test with unicellular green algae”.
- OECD No. 207, 1984: Earthworm, Acute Toxicity Tests
- UNI EN 12457-2:2004: Characterisation of waste; Leaching – Compliance test for leaching of granular waste materials and sludges.

DEFINIZIONI

TQ: campione tal quale (acqua o suolo non diluito).

Controllo negativo: gruppo di organismi non esposti al campione da testare, ma mantenuti in un terreno standard (acqua o suolo) che ne garantisca la buona salute.

LOEC: la più bassa concentrazione saggiata alla quale il campione dà un effetto avverso sugli organismi esposti durante il test.

NOEC: la più alta concentrazione saggiata alla quale il campione non dà effetti avversi sugli organismi esposti durante il test.

Test di Inibizione della Crescita Algale

Biomassa: numero di cellule per millilitro (densità cellulare).

Crescita: incremento della densità cellulare durante il periodo dello studio.

Tasso di crescita: incremento in scala logaritmica dell'aumento della biomassa durante il periodo dello studio.

Yield: valore della densità cellulare alla fine del periodo di esposizione a cui viene sottratta la densità cellulare all'inizio dello studio, per esprimere l'incremento della biomassa durante lo studio.

E_{vC_x} : concentrazione calcolata della sostanza testata che provoca una riduzione dell'X% della concentrazione di cellule (yield), rispetto al controllo, entro il periodo di esposizione

E_rC_x : concentrazione calcolata della sostanza testata che provoca una riduzione dell'X% della velocità/tasso di crescita algale (growth rate), rispetto al controllo, entro il periodo di esposizione.

Test di Tossicità Acuta su *Daphnia magna*

Immobilizzazione: tutti gli organismi che non sono in grado di muoversi entro 15 secondi dopo leggera agitazione sono considerati immobili.

Test di Tossicità su Embrioni di Pesce *Danio rerio*

Effetto acuto: la tossicità acuta è rappresentata dalla morte degli organismi esposti. Gli embrioni vengono considerati morti nei seguenti casi:

- Coagulazione dell'uovo
- Mancata presenza di somiti
- Mancato distaccamento della coda
- Mancanza di battito cardiaco

LID_{egg} : la più bassa diluizione tra quelle testate alla quale almeno il 90% degli embrioni non presenta effetti tossici.

COMPOSIZIONE DELLE MATRICI TEST

Viene qui riportata la composizione delle matrici acquose e solide, utilizzate come controllo negativo durante i test di tossicità.

Test di Inibizione della Crescita Algale

Per la preparazione del controllo negativo e per le diluizioni del campione ricostituito, è stato utilizzato il terreno di coltura "OECD medium" preparato secondo linea guida OECD 201, 2011, di seguito viene riportata la composizione:

<u>Composizione</u>	<u>Concentrazione finale</u>
NH ₄ Cl	15 mg/L
MgCl ₂ *6H ₂ O	12 mg/L
CaCl ₂ *2H ₂ O	18 mg/L
MgSO ₄ *7H ₂ O	15 mg/L
KH ₂ PO ₄	1.6 mg/L
FeCl ₃ *6H ₂ O	64 µg/L
Na ₂ EDTA*2H ₂ O	100 µg/L
H ₃ BO ₃	185 µg/L
MnCl ₂ *4H ₂ O	415 µg/L
ZnCl ₂	3 µg/L
CoCl ₂ *6H ₂ O	1.5 µg/L
CuCl ₂ *2H ₂ O	0.01 µg/L
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	7 µg/L
NaHCO ₃	50 mg/L

Test di Tossicità Acuta su *Daphnia magna*

Per la preparazione del controllo negativo, è stata utilizzata acqua ricostituita preparata in accordo alla linea guida OECD 202, 2004:

<u>Composizione</u>	<u>Concentrazione finale</u>
CaCl ₂ 2H ₂ O	294.0 mg/L
MgSO ₄ 7H ₂ O	123.3 mg/L
NaHCO ₃	64.8 mg/L
KCl	5.8 mg/L

Test di Tossicità su Embrioni di Pesce *Danio rerio*

Per la preparazione del controllo negativo è stata utilizzata acqua di diluizione standard preparata come riportato nella ISO 7346-1 e 7346-2:

<u>Composizione</u>	<u>Concentrazione finale</u>
CaCl ₂ 2H ₂ O	294.0 mg/L
MgSO ₄ 7H ₂ O	123.3 mg/L
NaHCO ₃	63.0 mg/L
KCl	5.5 mg/L

Saggio di Tossicità Acuta su *Eisenia fetida*

Il terreno artificiale per la preparazione del controllo negativo è stato costituito come descritto nella linea guida OECD 207,1984:

- 10% torba di sfagno (pH 3,5 - 4,5);
- 20% caolino;
- 70% sabbia silicea essiccata a granulometria fine.

I componenti sono stati seccati utilizzando una stufa a 105 °C e poi uniti nelle corrette proporzioni. Per miscelare il terreno artificiale è stato utilizzato il miscelatore BakerMix 80. Alla miscela di terreno artificiale è stata aggiunta un'aliquota di acqua demineralizzata in modo da ottenere un'umidità di circa 35% del peso secco.

Il campione di suolo è stato setacciato a 4 mm prima dell'utilizzo.

METODO DI SVOLGIMENTO DEI SAGGI

Test di inibizione della crescita algale

I test di inibizione della crescita algale utilizzati per la valutazione degli effetti acuti e cronici dei campioni di acque è stato condotto seguendo il metodo descritto nella linea guida OECD No. 201, "Fresh water alga and cyanobacteria, growth inhibition test" del 2011, utilizzando l'alga verde unicellulare della specie *Pseudokirchneriella subcapitata* acquistata originariamente da "Institute of Plant Physiology" dell'Università di Göttingen in Germania e mantenuta in coltura in laboratorio.

Per lo svolgimento di questo test il campione tal quale è stato ricostituito con la stessa miscela di sali del controllo negativo prima di effettuare le diluizioni.

Tre repliche per ogni diluizione effettuata (dil. 16, 8, 4 e 2) e per il campione tal quale (TQ), e sei repliche contenenti il solo terreno algale (controllo negativo) sono state inoculate con un volume noto di una coltura in crescita esponenziale in modo da avere una concentrazione iniziale di cellule pari a 10000 cellule/mL.

Le beute così preparate sono state incubate in condizioni controllate per un periodo di 72 ore in continua agitazione all'interno di una camera climatica.

Al termine del periodo di esposizione è stata misurata la densità cellulare mediante un contacellule elettronico. L'inibizione della crescita è stata determinata rispetto alla coltura di controllo.

Durata dello studio:	72 ore
Intensità luminosa:	tra 4400 e 8800 Lux (illuminazione continua)
Temperature:	tra 21 e 24 °C (conforme al range raccomandato dalla OECD 201, 2011)

Saggio di Tossicità Acuta su *Daphnia magna*

I test di tossicità acuta su *Daphnia magna* dei campioni di acque e dell'elutriato sono stati condotti seguendo il metodo descritto nella linea guida OECD 202 "Daphnia sp., Acute Immobilization Test.", utilizzando organismi provenienti dall'allevamento interno al laboratorio, acquistati originariamente da MicroBioTests Inc., con sede in Belgio nel dicembre del 2011 (numero di batch: DM290911).

Sono state preparate quattro repliche contenenti il campione tal quale da testare (TQ) e quattro repliche contenenti la sola acqua ricostituita (controllo negativo). In ogni replica sono stati introdotti 5 dafnidi di età inferiore a 24 ore.

I beaker così preparati sono stati incubati in condizioni controllate all'interno di una camera climatica.

Dopo 24 e dopo 48 ore dall'inizio dell'esposizione, è stata registrata l'immobilizzazione.

Durata dello studio:	48 ore
Fotoperiodo:	16 ore di luce / 8 ore di buio
Intensità luminosa:	tra 1000 e 1500 Lux
Temperatura:	tra 18 e 22 °C (conforme al range raccomandato dalla OECD 202, 2004)

Saggio di Tossicità Acuta su embrioni di pesce (*Danio rerio*)

I test di tossicità acuta su embrioni di *Danio rerio* sono stati condotti seguendo il metodo descritto nella linea guida OECD No. 236, utilizzando uova di pesce fecondate con una divisione cellulare compresa tra le 4 e le 128 cellule. Le uova vengono ottenute da pesci riproduttori mantenuti nell'allevamento sito nei laboratori di Chemservice.

Sono stati preparati 20 pozzetti di una piastra multi-pozzetto da 24 per ogni diluizione effettuata (dil. 32, 24, 16, 12, 8, 6, 4, 3, e 2), per il campione tal quale (TQ), per la sola acqua ricostituita (controllo negativo), e per la soluzione di riferimento di 3,4-dichloroaniline a concentrazione 3,7 mg/L (controllo positivo).

Gli ultimi 4 pozzetti disponibili per ogni piastra sono stati utilizzati come controllo della piastra, ovvero riempiti di acqua ricostituita e servono a valutare lo stato della piastra (se più di un embrione dovesse morire in questi pozzetti, la piastra verrebbe esclusa dal calcolo dei risultati finali).

Le piastre multi-pozzetto così preparate sono state incubate in condizioni controllate all'interno di una camera climatica.

All'inizio del test sono stati registrati i parametri di pH e ossigeno.

Giornalmente, è stata registrata la mortalità degli embrioni. I dati registrati alla fine del test (96 ore) sono stati utilizzati per determinare la LID.

Durata del test: 96 ore
Temperature dello studio: tra 25 e 27°C per tutte le soluzioni del saggio
(conforme al range raccomandato dalla UNI EN ISO 15088:2009)

Saggio di Tossicità Acuta su *Eisenia foetida*

Il test di tossicità acuta su *Eisenia foetida* è stato condotto seguendo il metodo descritto nella linea guida OECD 207, utilizzando organismi provenienti da Bias Labs Ltd.

24 ore prima dell'inizio del test i vermi sono stati trasferiti nello stesso terreno utilizzato come controllo negativo del test al fine di permetterne l'acclimatazione.

Per lo svolgimento del saggio sono state preparate quattro repliche contenenti il campione tal quale di suolo (TQ) e quattro repliche contenenti il solo terreno artificiale (controllo negativo).

L'umidità del terreno (H) del controllo negativo e del terreno TQ è stata corretta fino a circa il 35% del peso secco aggiungendo acqua deionizzata come richiesto dalla linea guida OECD 207,1984.

Ogni replica era costituita da un contenitore di vetro contenente circa 750 g di terreno (controllo negativo o campione) e 10 organismi con peso compreso tra 0,3 g e 0,6 g.

I contenitori così preparati sono stati incubati in condizioni controllate all'interno di una camera climatica. Dopo 14 giorni dall'inizio dell'esposizione, è stata registrata la mortalità.

Durata dello studio: 14 giorni
Temperature dello studio: 20 ± 2°C;
(conforme al range raccomandato dalla linea guida OECD 207,1984)

Analisi statistica dei dati

I dati ottenuti nei saggi ecotossicologici eseguiti sono stati elaborati e analizzati statisticamente mediante software CETIS v. 1.8.7.7 al fine di determinare i valori di NOEC/LOEC, EyC50 ed ErC50. Il valore di LID è stato estrapolato direttamente dai dati ottenuti.

FASE SPERIMENTALE

CAMPIONE	Acqua Canale Lorno
CODICE CHEMSERVICE	2102446-001

Test di Inibizione della Crescita Algale

Il saggio di Inibizione della crescita algale è stato condotto sul campione tal quale (TQ) ricostituito con la stessa miscela di sali del controllo negativo e su quattro diluite progressive con un rapporto pari a 2.

pH delle soluzioni:

Diluizione del campione	Valori Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	8.22 – 9.24
dil. 16	7.99 – 9.16
dil. 8	7.90 – 9.13
dil. 4	7.86 – 9.07
dil. 2	7.80 – 9.07
TQ	7.77 – 8.92

(
conforme al massimo incremento per il controllo negativo di 1.5 punti durante il saggio OECD 201, 2011)

Criteri di validità del controllo: Fattore di crescita della biomassa: 474
(accettabile se ≥ 16);
Variazione media della rata di crescita: 2.5 %
(accettabile se ≤ 7)

Lo studio risulta valido in quanto tutti i criteri di validità sono stati rispettati.

Risultati biologici:

Tasso di crescita e Yield dopo 72 ore di esposizione.

Diluizione del campione – Percentuale di campione nella soluzione	Risultati dopo 72 ore			
	Yield	% inibizione della Yield	Tasso di crescita	% inibizione del tasso di crescita
Controllo neg.	4739333	-	2,0503	-
dil. 16 – 6,2%	4444267	6,2	2,0308	0,9
dil. 8 – 12,5%	3703400	21,9	1,9711	3,9
dil. 4 – 25%	3737533	21,2	1,9739	3,7
dil. 2 - 50%	3454600	27,2	1,9472	5,0
TQ – 100%	2376933	50,0	1,8234	11,1

Analisi statistica dei risultati degli endpoint:

Biomassa e Tasso di crescita

Valore ricercato	Diluizione del campione – Percentuale di campione
NOEC	16 - 6.2%
LOEC	8 - 12.5%
EyC50	>TQ - >100%
ErC50	>TQ - >100%

NOEC = concentrazione di non effetto

LOEC = la più bassa concentrazione ad avere un effetto sugli organismi

EyC50 = concentrazione alla quale si ha l'inibizione del 50% della biomassa algale

ErC50 = concentrazione alla quale si ha l'inibizione del 50% del tasso di crescita algale

Saggio di Tossicità Acuta su *Daphnia magna*

Il saggio di Tossicità acuta su *Daphnia magna* è stato condotto sul campione tal quale (TQ) senza ricostituzione della soluzione.

pH delle soluzioni:

Diluizione del campione	Valori Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	7.81 – 7.99
TQ	6.78 – 7.91

(conforme al range raccomandato 6 – 9 (OECD 202, 2004))

Concentrazione di ossigeno:

Diluizione del campione	Valori (mg/L) Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	6.94 – 6.04
TQ	5.58 – 5.78

(conforme al range raccomandato ≥ 3 mg/L OECD 202, 2004)

Criteri di validità del test:

*Nel controllo negativo l'immobilizzazione non deve superare il 10%

*Il pH non deve variare più di 1.5 unità al termine del test

*La concentrazione dell'ossigeno disciolto deve essere ≥ 3 mg/l alla fine del saggio

Lo studio risulta valido in quanto tutti i criteri di validità sono stati rispettati.

Risultati biologici: Immobilizzazione

Tempo di esposizione (ore)	Campione	Organismi esposti	Organismi immobilizzati	Percentuale di immobilizzazione (%)
24	controllo neg.	20	0	0
	TQ	20	0	0
48	controllo neg.	20	0	0
	TQ	20	0	0

Analisi statistica dei risultati dell'endpoint:

Immobilizzazione

Valore ricercato	Diluizione – percentuale di campione
NOEC	TQ – 100%
LOEC	>TQ - >100%

NOEC = concentrazione di non effetto

LOEC = la più bassa concentrazione ad avere un effetto sugli organismi

Saggio di Tossicità Acuta su embrioni di pesce (*Danio rerio*)

Il saggio di Tossicità acuta su embrioni di pesce (*Danio rerio*) è stato condotto sul campione tale quale (TQ) senza ricostituzione della soluzione e su 9 diluite progressive con un rapporto pari a 2.

pH della campione:

Diluizione del campione	Valori Inizio test
Controllo neg.	7.09
dil. 32	7.11
dil. 24	7.18
dil. 16	7.24
dil. 12	7.29
dil. 8	7.34
dil. 6	7.44
dil. 4	7.49
dil. 3	7.39
dil. 2	7.56
* TQ	7.62

Concentrazione di ossigeno:

Diluizione del campione	Valori (mg/LO ₂) Inizio test
Controllo neg.	8.26
dil. 32	8.12
dil. 24	7.97
dil. 16	7.71
dil. 12	7.76
dil. 8	7.68
dil. 6	7.18
dil. 4	7.31
dil. 3	7.21
dil. 2	7.24
(TQ	7.31

c

Conforme al range raccomandato > 4 mg/LO₂ UNI EN ISO 10588:2009)

Criteria di validità

*Nel controllo negativo la sopravvivenza degli embrioni deve essere almeno il 90% nelle 96 ore.

*Nel controllo positivo la mortalità degli embrioni deve essere > 30% alla fine del test.

Lo studio risulta valido in quanto tutti i criteri di validità sono stati rispettati.

Risultati biologici: Mortalità

Tempo di esposizione (h)	Diluizione del campione	Embrioni esposti	Embrioni morti	Percentuale di mortalità (%)
96	Controllo neg.	24	0	0
	Controllo pos.	20	20	100
	32	20	0	0
	24	20	0	0
	16	20	1*	5
	12	20	0	0
	8	20	0	0
	6	20	4	20
	4	20	0	0
	3	20	0	0
	2	20	0	0
	TQ	20	0*	0

*embrione/i malformato/i

Analisi statistica dei risultati dell'endpoint: Mortalità

Valore ricercato	Diluizione - percentuale di campione
NOEC	TQ - 100%
LOEC	>TQ - >100%

NOEC = concentrazione di non effetto

LOEC = la più bassa concentrazione ad avere un effetto sugli organismi

CAMPIONE	Acqua Canaletta Vescovado
CODICE CHEMSERVICE	2102446-002

Test di Inibizione della Crescita Algale

Il saggio di Inibizione della crescita algale è stato condotto sul campione tal quale (TQ) ricostituito con la stessa miscela di sali del controllo negativo e su quattro diluite progressive con un rapporto pari a 2.

pH delle soluzioni:

Diluizione del campione	Valori Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	8.22 – 9.24
dil. 16	8.16 – 9.14
dil. 8	8.24 – 8.90
dil. 4	8.21 – 9.15
dil. 2	8.16 – 9.05
TQ	8.15 – 9.03

(
conforme al massimo incremento di 1.5 punti per il controllo negativo durante il saggio OECD 201, 2011)

Criteri di validità del controllo: Fattore di crescita della biomassa: 474
(accettabile se ≥ 16);
Variazione media della rata di crescita: 2.5 %
(accettabile se ≤ 7)

Lo studio risulta valido in quanto tutti i criteri di validità sono stati rispettati.

Risultati biologici: Tasso di crescita e Yield dopo 72 ore di esposizione.

Diluizione del campione – percentuale di campione nella soluzione	Risultati dopo 72 ore			
	Yield	% inibizione della Yield	Tasso di crescita	% inibizione del tasso di crescita
Controllo neg.	4739333	-	2,0503	-
dil. 16 – 6,2%	4421067	6,7	2,0305	1,0
dil. 8 – 12,5%	3229133	31,9	1,9191	6,4
dil. 4 – 25%	2435733	48,7	1,8162	11,4
dil. 2 -50%	1919000	59,6	1,7495	14,7
TQ – 100%	637067	86,7	1,3839	32,5

Analisi statistica dei risultati degli endpoint:

Biomassa e Tasso di crescita

Valore ricercato	Diluizione – percentuale di campione
NOEC	16 – 6.2%
LOEC	8 – 12.5%
EyC50	3.7 – 27.2%
ErC50	>TQ – >100 %

NOEC = concentrazione di non effetto

LOEC = la più bassa concentrazione ad avere un effetto sugli organismi

EyC50 = concentrazione alla quale si ha l'inibizione del 50% della biomassa algale

ErC50 = concentrazione alla quale si ha l'inibizione del 50% del tasso di crescita algale

Saggio di Tossicità Acuta su *Daphnia magna*

Il saggio di Tossicità acuta su *Daphnia magna* è stato condotto sul campione tal quale (TQ) senza ricostituzione della soluzione.

pH delle soluzioni:

Diluizione del campione	Valori Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	7.81 – 7.99
TQ	8.20 – 8.39

(conforme al range raccomandato 6 – 9 (OECD 202, 2004))

Concentrazione di ossigeno:

Diluizione del campione	Valori (mg/L) Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	6.94 – 6.04
TQ	5.48 – 5.95

(conforme al range raccomandato ≥ 3 mg/L OECD 202, 2004)

Criteri di validità del test:

*Nel controllo negativo l'immobilizzazione delle dafnie non deve superare il 10%

*Il pH non deve variare più di 1.5 unità al termine del test

*La concentrazione dell'ossigeno disciolto deve essere ≥ 3 mg/l alla fine del saggio

Lo studio risulta valido in quanto tutti i criteri di validità sono stati rispettati.

Risultati biologici:

Immobilizzazione

Tempo di esposizione (ore)	Campione	Organismi esposti	Organismi immobilizzati	Percentuale di immobilizzazione (%)
24	controllo neg.	20	0	0
	TQ	20	0	0
48	controllo neg.	20	0	0
	TQ	20	0	0

Analisi statistica dei risultati dell'endpoint:

Immobilizzazione

Valore ricercato	Diluizione – percentuale di campione
NOEC	TQ – 100%
LOEC	>TQ – >100%

NOEC = concentrazione di non effetto

LOEC = la più bassa concentrazione ad avere un effetto sugli organismi

Saggio di Tossicità Acuta su embrioni di pesce (*Danio rerio*)

Il saggio di Tossicità acuta su embrioni di pesce (*Danio rerio*) è stato condotto sul campione tal quale (TQ) senza ricostituzione della soluzione e su 9 diluite progressive con un rapporto pari a 2.

pH della campione:

Diluizione del campione	Valori Inizio test
Controllo neg.	7.12
dil. 32	7.24
dil. 24	7.33
dil. 16	7.49
dil. 12	7.51
dil. 8	7.61
dil. 6	7.85
dil. 4	8.09
dil. 3	8.15
dil. 2	8.35
* TQ	8.47

Concentrazione di ossigeno:

Diluizione del campione	Valori (mg/L) Inizio test
Controllo pos.	7.09
dil. 32	7.08
dil. 24	7.23
dil. 16	7.41
dil. 12	7.62
dil. 8	7.71
dil. 6	8.21
dil. 4	7.79
dil. 3	7.86
dil. 2	7.49
(TQ	8.07

c

Conforme al range raccomandato > 4 mg/LO₂ UNI EN ISO 10588:2009)

Criteri di validità

*Nel controllo negativo la sopravvivenza degli embrioni deve essere almeno il 90% nelle 96 ore.

*Nel controllo positivo la mortalità degli embrioni deve essere > 10% alla fine del test.

Lo studio risulta valido in quanto tutti i criteri di validità sono stati rispettati.

Risultati biologici: Mortalità

Tempo di esposizione (h)	Diluizione del campione	Embrioni esposti	Embrioni morti	Percentuale di mortalità (%)
96	Controllo neg.	24	0	0
	Controllo pos.	20	20	100
	32	20	0	0
	24	20	0	0
	16	20	0	0
	12	20	0*	0
	8	20	1	5
	6	20	0*	0
	4	20	0	0
	3	20	0	0
	2	20	2	10
	TQ	20	0	0

*embrione/i malformato/i

Analisi statistica dei risultati dell'endpoint: Mortalità

Valore ricercato	Diluizione – percentuale di campione
NOEC	TQ – 100%
LOEC	>TQ – >100%

NOEC = concentrazione di non effetto

LOEC = la più bassa concentrazione ad avere un effetto sugli organismi

CAMPIONE	Suolo
CODICE CHEMSERVICE	2102446-003

Preparazione dell'elutriato

La preparazione dell'elutriato è stata effettuata utilizzando il metodo descritto nella UNI EN 12457-2 "UNI EN 12457-2:2004: Characterisation of waste; Leaching – Compliance test for leaching of granular waste materials and sludges".

Il contenuto di umidità presente all'interno del suolo è stato determinato tramite essiccamento di un'aliquota di campione per 24 ore a 105°C (umidità pari a 33.0% del peso secco).

L'elutriato è stato preparato trasferendo un'aliquota di 119.7 g di suolo (equivalente a 0.090 kg di campione secco) setacciato a < 4mm di diametro all'interno di una bottiglia di vetro insieme a 870 mL di acqua deionizzata (corrispondente ad un rapporto L/S pari a 10 L/kg).

La bottiglia è stata posta in agitazione all'interno di un miscelatore a rovesciamento settato a 10 giri al minuto per 24 ore.

Al termine dell'agitazione si è lasciato sedimentare la sospensione per 20 minuti prima di separare la fase liquida da quella solida.

Il campione è stato posto in centrifuga per 10 minuti a 80000 rpm per permettere una migliore separazione delle due fasi e successivamente filtrato con filtri 0,45 µm.

La soluzione risultante appariva leggermente torbida e presentava una colorazione marrone.

Saggio di Tossicità Acuta su *Daphnia magna*:

Il saggio di Tossicità acuta su *Daphnia magna* è stato condotto sul campione tal quale (TQ) senza ricostituzione della soluzione.

pH delle soluzioni:

Diluizione del campione	Valori Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	7.81 – 7.99
TQ	8.35 – 8.34

(conforme al range raccomandato 6 – 9 (OECD 202, 2004))

Concentrazione di ossigeno:

Diluizione del campione	Valori (mg/L) Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	6.94 – 6.04
TQ	6.07 – 5.96

(conforme al range raccomandato ≥ 3 mg/L OECD 202, 2004)

Criteria di validità del test:

*Nel controllo negativo l'immobilizzazione delle dafnie non deve superare il 10%

*Il pH non deve variare più di 1.5 unità al termine del test

*La concentrazione dell'ossigeno disciolto deve essere ≥ 3 mg/l alla fine del saggio

Lo studio risulta valido in quanto tutti i criteri di validità sono stati rispettati.

Risultati biologici: Immobilizzazione

Tempo di esposizione (h)	Campione	Organismi esposti	Organismi immobilizzati	Percentuale di immobilizzazione (%)
24	Controllo neg.	20	0	0
	TQ	20	0	0
48	Controllo neg.	20	0	0
	TQ	20	0	0

NOTA: la soluzione appariva leggermente torbida con un colore tendente al marrone.

Analisi statistica dei risultati dell'endpoint: Immobilizzazione

Valore ricercato	Diluizione – percentuale di campione
NOEC	TQ – 100%
LOEC	>TQ – >100%

NOEC = concentrazione di non effetto

LOEC = la più bassa concentrazione ad avere un effetto sugli organismi

Saggio di Tossicità Acuta su *Eisenia foetida*

Il saggio di Tossicità acuta su *Eisenia foetida* è stato condotto sul campione tal quale (TQ) con aggiunta di acqua demineralizzata al fine di ottenere un'umidità del terreno di circa il 35%

pH del campione:

Tipologia di suolo	Valori Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	5.6 – 7.45
TQ	8.15 – 8.39

Umidità % del campione:

Tipologia di suolo	Valori (%) Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	34.6 – 30.3
TQ	34.6 - 33.2

Criteri di validità del test:

Alla fine del test, la mortalità degli animali del controllo negativo non deve essere superiore al 10%.

Lo studio risulta valido in quanto il criterio di validità è stato rispettato.

Risultati biologici:

Mortalità

Tempo di esposizione (giorni)	Campione	Organismi morti / Organismi esposti				Totale morti/ Totale esposti	Percentuale di mortalità (%)
		A	B	C	D		
14	Controllo neg.	0/10	0/10	1/10	0/10	1/40	2.5
	TQ	0/10	0/10	0/10	0/10	0/40	0

Analisi statistica dei risultati dell'endpoint:

Mortalità

Valore ricercato	Diluizione – percentuale di campione
NOEC	TQ – 100%
LOEC	>TQ – >100%

NOEC = concentrazione di non effetto

LOEC = la più bassa concentrazione ad avere un effetto sugli organismi

RISULTATI E CONCLUSIONI

I risultati ottenuti sono qui riassunti:

Risultati acqua canale Lorno - 2102446-001

Metodo	Risultati	Inizio - Fine prova
Saggio di tossicità su crostaceo <i>Daphnia magna</i>	NOEC: TQ	30/03/2021 – 01/04/2021
Saggio di tossicità su alga <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	NOEC: 16 - 6.2% LOEC: 8 - 12.5% EyC50: >TQ - >100% ErC50: >TQ - >100%	30/03/2021 – 02/04/2021
Saggio di tossicità su embrioni di pesce <i>Danio rerio</i>	LID_{egg}: TQ	30/03/2021 – 03/04/2021

Risultati acqua canaletta Vescovado - 2102446-002

Metodo	Risultati	Inizio - Fine prova
Saggio di tossicità su crostaceo <i>Daphnia magna</i>	NOEC: TQ	30/03/2021 – 01/04/2021
Saggio di tossicità su alga <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	NOEC: 16 - 6.2% LOEC: 8 - 12.5% EyC50: 3.7 – 27.2% ErC50: >TQ - >100%	30/03/2021 – 02/04/2021
Saggio di tossicità su embrioni di pesce <i>Danio rerio</i>	LID_{egg}: TQ	30/03/2021 – 03/04/2021

Risultati suolo/elutriato - 2102446-003

Metodo	Risultati	Inizio - Fine prova
Saggio di tossicità su crostaceo <i>Daphnia magna</i>	NOEC: TQ	31/03/2021 – 02/04/2021
Saggio di tossicità su verme <i>Eisenia foetida</i>	NOEC: TQ	31/03/2021 – 14/04/2021

TQ = campione tal quale

n.a. = non applicabile

NOEC = concentrazione di non effetto

LOEC = la più bassa concentrazione ad avere un effetto sugli organismi

EyC50 = concentrazione alla quale si ha l'inibizione del 50% della biomassa algale

ErC50 = concentrazione alla quale si ha l'inibizione del 50% del tasso di crescita algale

LID_{egg} = la più bassa diluizione tra quelle testate per il quale almeno il 90% degli embrioni non presenta effetti negativi

I risultati dei test eseguiti sui campioni di acqua del Canale Lorno e della Canaletta Vescovado e di suolo prelevati nei pressi della centrale termoelettrica Edison S.p.A di San Quirico indicano che non ci sono effetti tossici statisticamente significativi nei campioni prelevati nel sito, eccetto per una blanda tossicità manifestata nei campioni acquosi sull'alga verde

Firma del tecnico


Stefano Ceriati

08.06.2021
Data

ChemService S.r.l.
Controlli e Ricerche
Via F.lli Beltrami, 15 - 20026 Novate M.se (MI)
C.F e P: IVA 07020820150