

**Appendice 3: Saggi di ecotossicità per la determinazione della qualità
del Canale Muzza a monte e a valle della Centrale A2A di Cassano d'Adda**

RELAZIONE TECNICA

SAGGI DI ECOTOSSICITA' PER LA DETERMINAZIONE DELLA QUALITÀ DEL CANALE MUZZA A MONTE E A VALLE DELLA CENTRALE A2A DI CASSANO D'ADDA:

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

OBIETTIVO DEL PROGETTO

L'obiettivo del progetto è stato la caratterizzazione ecotossicologica dell'acqua del Canale Muzza, situato nelle immediate vicinanze della Centrale A2A gencogas di Cassano d'Adda, che costituisce il corpo recettore degli scarichi idrici della Centrale nella configurazione attuale autorizzata, e in quella futura, a seguito della realizzazione del progetto. Per effettuare l'indagine ecotossicologica, l'acqua del canale Muzza è stata campionata in due punti a monte e a valle degli scarichi idrici della Centrale stessa: con questi punti sarà possibile verificare in futuro mediante gli stessi test ecotossicologici l'eventuale incidenza della Centrale sul Canale Muzza a valle della realizzazione del progetto. Su entrambi i campioni è stata eseguita una batteria di ecotest rappresentativi di diversi livelli trofici. Gli studi di ecotossicità sono stati svolti sull'alga verde unicellulare *Pseudochirkneriella subcapitata* (per la valutazione degli effetti ecotossici cronici), sul crostaceo cladocero *Daphnia magna* Strauss (per la valutazione degli effetti ecotossici acuti) e su embrioni di pesce della specie *Danio rerio* (per la valutazione degli effetti ecotossici acuti).

IDENTIFICAZIONE dei CAMPIONI


Identificazione campione	Acqua canale Muzza a monte dell'impianto	Acqua canale Muzza a valle dell'impianto
Codice interno ChemService	2004701-001	2004701-002
Data di prelievo e ricevimento in laboratorio	28/09/2020	
Orario di prelievo	14:55	15:45
Quantità	1L	
Contenitore	Bottiglia in HDPE	


Il prelievo di entrambi i campioni è stato effettuato a centrale attiva. I campioni sono stati trasportati in contenitore refrigerato e stoccati a 4°C all'arrivo in laboratorio fino al momento dell'analisi.

PUNTI DI CAMPIONAMENTO - IMMAGINI

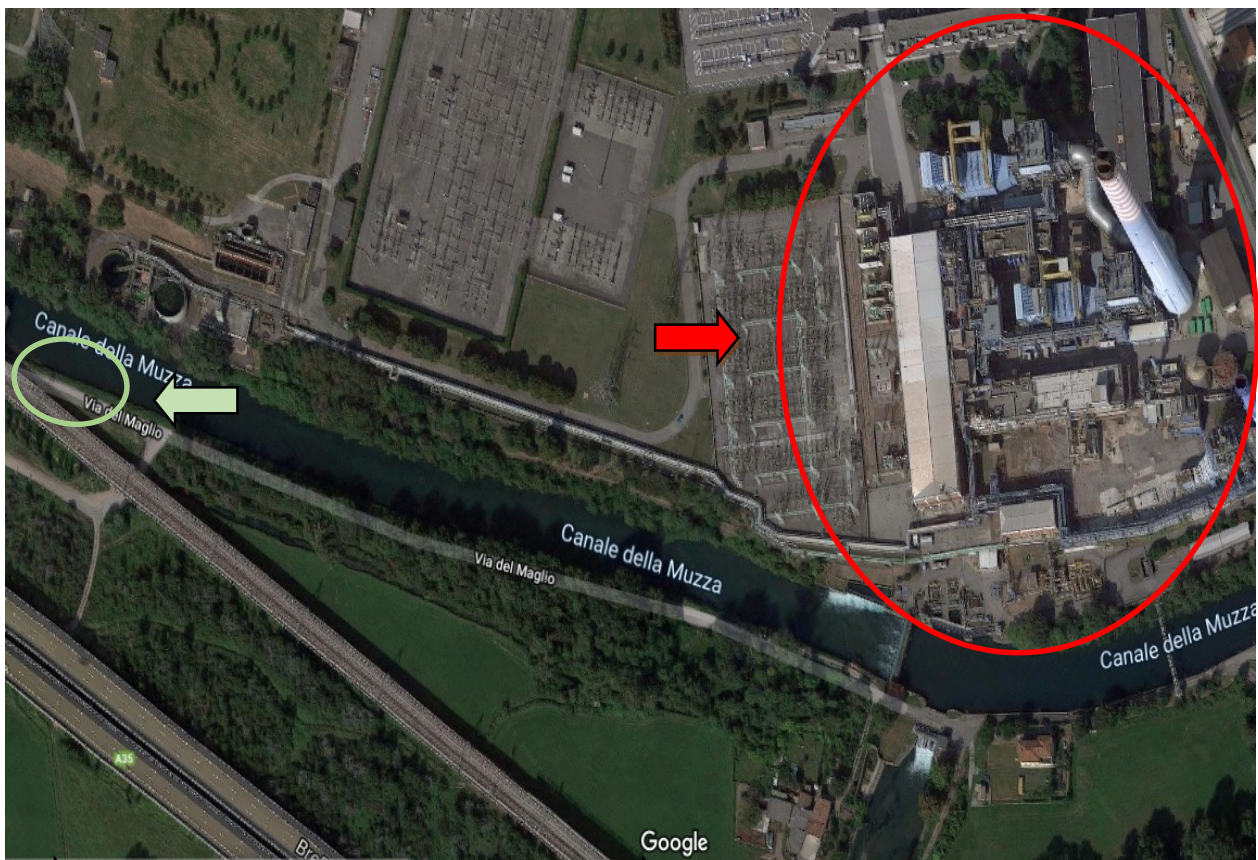
Punto di campionamento a monte della Centrale (coordinate: 45°30'28.5"N 9°30'21.2"E)





 Centrale A2A gencogas di Cassano d'Adda

 Punto di campionamento a monte dell'impianto.

Punto di campionamento a valle della Centrale (coordinate: 45°30'28.5"N 9°30'21.2"E)



 Centrale A2A gencogas di Cassano d'Adda

 Punto di campionamento a valle dell'impianto

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"
- 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".

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE E DELLE DILUIZIONI DI ESPOSIZIONE

Il campione, prima di essere utilizzato, è stato filtrato su lana di vetro al fine di eliminare il particolato grossolano presente, successivamente sono state preparate le diluizioni per ogni saggio biologico.

Come previsto dalle linee guida, per l'organismo *Pseudochirkneriella subcapitata*, prima dell'inizio del saggio biologico il campione acquoso è stato ricostituito con la stessa miscela di sali con cui è preparato il terreno di coltura algale.

Per gli organismi *Daphnia magna* e per gli embrioni di *Danio rerio* non è stata effettuata alcuna ricostituzione del campione prima del suo utilizzo.

Le diluizioni effettuate per le tre tipologie di saggio sono state preparate nel mezzo specifico per ogni organismo.

COMPOSIZIONE DEL TERRENO ACQUOSO

Alga - *Pseudochirkneriella subcapitata*

Per la coltura algale utilizzata come inculo per il test 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>Nutrienti</u>	<u>Concentrazione nelle soluzioni stock</u>
Soluzione stock 1	
NH ₄ Cl	1.5 g/L
MgCl ₂ *6H ₂ O	1.2 g/L
CaCl ₂ *2H ₂ O	1.8 g/L
MgSO ₄ *7H ₂ O	1.5 g/L
KH ₂ PO ₄	0.16 g/L
Soluzione stock 2	
FeCl ₃ *6H ₂ O	64 mg/L
Na ₂ EDTA*2H ₂ O	100 mg/L
Soluzione stock 3	
H ₃ BO ₃	185 mg/L
MnCl ₂ *4H ₂ O	415 mg/L
ZnCl ₂	3 mg/L
CoCl ₂ *6H ₂ O	1.5 mg/L
CuCl ₂ *2H ₂ O	0.01 mg/L
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	7 mg/L
Soluzione stock 4	
NaHCO ₃	50 g/L

A partire dalle soluzioni stock, il terreno algale è stato preparato aggiungendo a 500 mL di acqua demineralizzata:

- 10 mL di soluzione stock 1
- 1 mL di soluzione stock 2
- 1 mL di soluzione stock 3
- 1 mL di soluzione stock 4

E quindi portando a volume finale 1000 mL con acqua demineralizzata.

Crostaceo cladocero - *Daphnia magna*

Per l'allevamento e la preparazione delle concentrazioni diluite da testare, è stata utilizzata acqua ricostituita preparata in accordo alla linea guida OECD 202, 2004

<u>Soluzioni stock</u>	<u>Concentrazione nella soluzione stock</u>
CaCl ₂ 2H ₂ O	11.76 g/L
MgSO ₄ 7H ₂ O	4.93 g/L
NaHCO ₃	2.59 g/L
KCl	0.23 g/L

L'acqua ricostituita è stata preparata aggiungendo 25 mL di ogni soluzione stock in un volume finale di 1000 mL di acqua distillata (con conducibilità inferiore a 10 µS/cm).

Pesce – *Danio rerio*

Per la preparazione delle soluzioni diluite a cui è stato effettuato il saggio è stata utilizzata acqua di diluizione standard preparata come riportato nella ISO 7346-1 e 7346-2,

<u>Reagenti</u>	<u>Concentrazione in acqua</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

DEFINIZIONI

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.
LOEC:	la più bassa concentrazione alla quale il campione da un effetto avverso sull'organismo.
NOEC:	la concentrazione alla quale il campione non da effetti avversi sugli organismi.
TQ:	campione tal quale.

Test di Tossicità Acuta su *Daphnia m.*

Immobilizzazione:	tutti gli organismi che non sono in grado di muoversi entro 15 secondi dopo leggera agitazione sono considerati immobili.
NOEC:	la concentrazione alla quale il campione non da effetti avversi sugli organismi.
TQ:	campione tal quale.

Test di Tossicità su Embrioni di Pesce

Effetto acuto:	la tossicità acuta è rappresentata dalla morte degli organismi esposti. Le uova vengono considerate morte a 48h dall'inizio del test nei seguenti casi: <ul style="list-style-type: none">▪ Coagulazione dell'uovo▪ Mancata presenza di somiti▪ Mancato distaccamento della coda▪ Mancanza di battito cardiaco
LID _{egg} :	la più bassa diluizione tra quelle testate per il quale almeno il 90% degli embrioni non presenta effetti negativi.
TQ:	campione tal quale.

FASE SPERIMENTALE

CAMPIONE: Acqua canale Muzza a Monte dell'impianto
CODICE CHEMSERVICE: 2004701-001

Test di Inibizione della Crescita Algale

Il test di inibizione della crescita algale utilizzato per la valutazione degli effetti cronici è stato condotto seguendo il metodo descritto nella linea guida OECD No. 201, "Fresh water alga and cyanobacteria, growth inhibition test", 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.

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)

pH delle soluzioni:

Diluizione del campione	Valori Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	7.35 – 7.77
dil. 16	8.14 – 9.22
dil. 8	8.10 – 9.15
dil. 4	8.16 – 9.08
dil. 2	8.12 – 9.12
TQ	8.33 – 9.08

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

Criteri di validità del controllo: Fattore di crescita della biomassa: 591
(accettabile se ≥ 16);
Variazione media della rata di crescita: 1.3 %
(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	Risultati a 72 ore			
	Yield	% inibizione della Yield	Tasso di crescita	% inibizione del tasso di crescita
Controllo neg.	5903900	-	2.1265	-
dil. 16	6326500	0	2.1494	0
dil. 8	6260367	0	2.1460	0
dil. 4	6047367	0	2.1351	0
dil. 2	6177633	0	2.1420	0
TQ	6591900	0	2.1594	0

Saggio di Tossicità Acuta su *Daphnia magna*

Il test di tossicità acuta sulla *Daphnia magna* è stato condotto 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 ed i risultati sono stati analizzati per calcolare il valore di NOEC.

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)

pH delle soluzioni:

Diluizione del campione	Valori Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	7.45 – 7.12
TQ	7.35 – 6.95

(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.	7.23 – 6.85
TQ	8.85 – 7.54

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

Criteria di validità del test:

*Nel controllo 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)	Concentrazione del campione (mg/L)	Organismi esposti	Organismi immobilizzati	Percentuale di immobilizzazione (%)
24	0.0 (controllo neg.)	20	0	0
	TQ	20	0	0
48	0.0 (controllo neg.)	20	0	0
	TQ	20	0	0

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

Il test di tossicità acuta su uova di *Danio rerio* è stato condotto seguendo il metodo descritto nella linea guida UNI EN ISO 10588:2009, 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.

Vengono preparati 10 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.

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 viene esclusa dal calcolo dei risultati finali.

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

All'inizio del test sono stati registrati i parametri di pH e ossigeno per ogni diluita effettuata.

Giornalmente, è stata registrata la mortalità delle uova secondo i parametri definiti dalla linea guida (UNI EN ISO 15088:2009).

I dati registrati alla fine del test (48 ore) sono stati utilizzati per determinare la LID.

Durata del test: 48 ore

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

pH della campione:

Diluizione del campione	Valori Inizio test
Controllo neg.	7.45
dil. 32	7.40
dil. 24	7.43
dil. 16	7.47
dil. 12	7.48
dil. 8	7.53
dil. 6	7.56
dil. 4	7.49
dil. 3	7.43
dil. 2	7.52
TQ	7.53*

*pH del TQ corretto con HCl 0.1M fino a pH 7.18

(il pH del campione tal quale all'inizio del test deve essere 7.0 ± 0.2 come raccomandato dalla UNI EN ISO 15088:2009)

Concentrazione di ossigeno:

Diluizione del campione	Valori (mg/LO ₂) Inizio test
Controllo pos.	7.26
dil. 32	7.12
dil. 24	7.07
dil. 16	6.58
dil. 12	7.05
dil. 8	7.09
dil. 6	6.64
dil. 4	6.61
dil. 3	7.02
dil. 2	7.15
TQ	6.74

(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 48 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	Uova esposte	Uova morte	Percentuale di mortalità (%)
48	Controllo neg.	10	0	0
	Controllo pos.	10	10	100
	32	10	0	0
	24	10	1	10
	16	10	1*	10
	12	10	0	0
	8	10	0	0
	6	10	0	0
	4	10	1*	10
	3	10	3*	30
	2	10	0	0
	TQ	10	1	10

*embrione/i malformato/i

CAMPIONE: Acqua canale Muzza a Valle dell'impianto
CODICE CHEMSERVICE: 2004701-002

Test di Inibizione della Crescita Algale

Il test di inibizione della crescita algale utilizzato per la valutazione degli effetti cronici è stato condotto seguendo il metodo descritto nella linea guida OECD No. 201, "Fresh water alga and cyanobacteria, growth inhibition test", 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.

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)

pH delle soluzioni:

Diluizione del campione	Valori Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	7.45 – 7.98
dil. 16	8.25 – 8.99
dil. 8	8.17 – 8.91
dil. 4	8.32 – 9.03
dil. 2	8.39 – 8.85
TQ	8.27 – 8.83

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

Criteri di validità del controllo: Fattore di crescita della biomassa: 591
(accettabile se ≥ 16);
Variazione media della rata di crescita: 1.3 %
(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	Risultati a 72 ore			
	Yield	% inibizione della Yield	Tasso di crescita	% inibizione del tasso di crescita
Controllo neg.	5248900	-	2,0884	-
dil. 16	6142900	0	2,1407	0
dil. 8	5591300	0,3	2,1094	0
dil. 4	5871300	0	2,1256	0
dil. 2	6765300	0,8	2,1728	0,1
TQ	5803700	7,5	2,1218	1,2

Saggio di Tossicità Acuta su *Daphnia magna*

Il test di tossicità acuta sulla *Daphnia magna* è stato condotto 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 ed i risultati sono stati analizzati per calcolare il valore di NOEC.

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

pH delle soluzioni:

Diluizione del campione	Valori Inizio test – fine test (media delle repliche)
Controllo neg.	7.45 – 7.12
TQ	8.10 – 7.99

(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.	7.23 – 6.85
TQ	9.25 – 8.36

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

Criteria di validità del test:

*Nel controllo 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)	Concentrazione del campione (mg/L)	Organismi esposti	Organismi immobilizzati	Percentuale di immobilizzazione (%)
48	0.0 (controllo neg.)	20	0	0
	TQ	20	0	0

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

Il test di tossicità acuta su uova di *Danio rerio* è stato condotto seguendo il metodo descritto nella linea guida UNI EN ISO 10588:2009, 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.

Vengono preparati 10 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.

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 viene esclusa dal calcolo dei risultati finali.

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

All'inizio del test sono stati registrati i parametri di pH e ossigeno per ogni diluita effettuata.

Giornalmente, è stata registrata la mortalità delle uova secondo i parametri definiti dalla linea guida (UNI EN ISO 15088:2009).

I dati registrati alla fine del test (48 ore) sono stati utilizzati per determinare la LID.

Durata del test: 48 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)

pH della campione:

Diluizione del campione	Valori Inizio test
Controllo neg.	7.45
dil. 32	7.43
dil. 24	7.41
dil. 16	7.40
dil. 12	7.42
dil. 8	7.43
dil. 6	7.48
dil. 4	7.37
dil. 3	7.42
dil. 2	7.39
TQ	7.68*

*pH del TQ corretto con HCl 0.1M fino a pH 7.15

(il pH del campione tal quale all'inizio del test deve essere 7.0 ± 0.2 come raccomandato dalla UNI EN ISO 15088:2009)

Concentrazione di ossigeno:

Diluizione del campione	Valori (mg/L) Inizio test
Controllo pos.	7.26
dil. 32	7.59
dil. 24	7.03
dil. 16	7.28
dil. 12	7.12
dil. 8	6.96
dil. 6	7.09
dil. 4	7.15
dil. 3	7.12
dil. 2	7.33
TQ	7.21

(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 48 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	Uova esposte	Uova morte	Percentuale di mortalità (%)
48	Controllo neg.	10	0	0
	Controllo pos.	10	10	100
	32	10	0	0
	24	10	0	0
	16	10	0	0
	12	10	2*	20
	8	10	0	0
	6	10	3*	30
	4	10	1*	10
	3	10	1*	10
	2	10	0	0
	TQ	10	1	10

*embrione/i malformato/i

RISULTATI E CONCLUSIONI

I dati ottenuti nei tre saggi ecotossicologici eseguiti sui campioni di acqua del canale Muzza sono stati elaborati e analizzati statisticamente mediante software CETIS v. 1.8.7.7 al fine di determinare i valori di NOEC/LOEC. Il valore di LID è stato estrapolato direttamente dai dati ottenuti.

I risultati ottenuti sono qui riportati:

Metodo	U.M.	Risultati campione a monte dell'impianto	Risultati campione a valle dell'impianto	Inizio - Fine prova
Saggio di tossicità su crostaceo <i>Daphnia magna</i>	NOEC	TQ	TQ	29/09/2020 – 01/10/2020
Saggio di tossicità su alga <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	NOEC	TQ	TQ	29/09/2020 – 02/10/2020
	LOEC	n.a.	n.a.	29/09/2020 – 02/10/2020
Saggio di tossicità su uova di pesce <i>Danio rerio</i>	LID _{egg}	TQ	TQ	29/09/2020 – 01/10/2020

U.M. = unità di misura

TQ = campione tal quale

n.a. = non applicabile

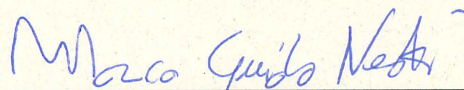
NOEC = concentrazione di non effetto

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

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 Muzza prelevati a Monte e a Valle della Centrale indicano che **non ci sono effetti tossici significativi sugli organismi analizzati.**

Firma del tecnico



Marco Guido Neotti



Data

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