


	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 1 di 24	Rev. 0

DM 2021-0000234
Parere n. 36 del 21 dicembre 2020
della Commissione tecnica VIA e VAS

Monitoraggio ecotossicologico fase *Ante operam*
Campagna di Monitoraggio 1/2

0	Emissione per commenti	ERM Italia	Belloni	Lozio	26/07/22
Rev.	Descrizione	Elaborato	Verificato	Approvato	Data

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 2 di 24	Rev. 0

Sommario

1	Premessa	3
2	Breve descrizione del Progetto	5
3	Metodologia	8
3.1	Campionamento	8
3.1.1	Descrizione dei punti di campionamento	8
3.1.2	Metodiche di campionamento	11
3.2	Analisi di laboratorio e certificazioni	13
4	Risultati	16
4.1	Comparto Suolo	16
4.1.1	Saggio di tossicità acuta su <i>Daphnia magna</i>	16
4.1.2	Saggio di tossicità acuta su <i>Eisenia fetida</i>	16
4.1.3	Saggio di genotossicità Ames test su suolo	17
4.2	Comparto Acqua	18
4.2.1	Saggio di inibizione dell'emissione luminosa su <i>Vibrio fischeri</i>	18
4.2.2	Saggio di inibizione della crescita di alghe marine su <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18
4.2.3	Saggio di tossicità acuta su <i>Acartia tonsa</i>	19
4.2.4	Saggio di genotossicità Ames test su acqua marina	21
4.3	Comparto Sedimenti marini	22
4.3.1	Saggio di tossicità acuta su <i>Corophium orientale</i>	22
5	Conclusioni	23
6	Allegato I – Relazione di laboratorio	23
7	Allegato II – TEST di laboratorio	23
8	Riferimenti bibliografici	24

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 3 di 24

Acronimi

LOEC	La più bassa concentrazione ad avere un effetto significativo sugli organismi
LCx/ECx:	La concentrazione calcolata di sostanza test che causa la mortalità dei x % degli organismi esposti, ad esempio LC50 è la concentrazione calcolata di sostanza test che causa la mortalità del 50% degli organismi esposti.
NOEC	Concentrazione di effetto statisticamente non significativo
TQ	Tal Quale
WHC	Maximum Water Holding Capacity, è la capacità di ritenzione di acqua del terreno.

1 Premessa

Il presente documento costituisce, da parte della società Enipower, la relazione tecnica della prima campagna di campionamento per il monitoraggio ecotossicologico in fase *ante operam*, delle due previste, in ottemperanza alla Condizione ambientale n. 2 del Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS allegato al DM 2021-0000234, che esprime giudizio positivo di compatibilità ambientale per il progetto “Centrale termoelettrica di Ravenna – Sostituzione del ciclo combinato TG-501 con nuovi turbogeneratori TG- Capacity Strategy Italia”, localizzato nel Comune di Ravenna.

In particolare, il parere citava:

“[...] Secondo quanto indicato dall’ISS nella propria nota prot. n.2224 del 21/02/2020, deve essere effettuata un’indagine ecotossicologica, così come prevista dalle Linee Guida, nelle fasi di “scoping” e di “monitoring” per individuare possibili impatti negativi non attesi derivanti da una esposizione multipla a fattori di rischio, e in ultimo per prevenire un possibile trend sfavorevole e per adottare tempestivamente le opportune misure correttive. In particolare, nella fase di “scoping” dovranno essere acquisite le informazioni sui dati esistenti (dati ecotossicologici e sullo stato ecologico e chimico) negli ecosistemi, al fine di ottenere una analisi del contesto rappresentativo e di individuare gli elementi di attenzione del territorio interessato. [...]”

Nella presente relazione tecnica si fa riferimento al Piano di Monitoraggio Ecotossicologico redatto ai sensi dell’art. 2 del DM n.234 trasmesso all’ Istituto Superiore di Sanità (di seguito ISS) con nota in data 5/04/2022 e approvato in data 6/04/2022 tramite nota prot. 13443 DAS 01.00 il quale citava:

*“Relativamente all’indagine ecotossicologica, il proponente ha presentato un piano di monitoraggio accettabile in risposta alle richieste del parere espresso dall’Istituto. In particolare, sul comparto acque superficiali (di transizione) saranno condotti i seguenti test: test di tossicità acuta con *Vibrio fischeri*, il test di*

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 4 di 24	Rev. 0

tossicità acuta con gameti di Paracentrotus lividus, tossicità cronica con l'alga marina Phaeodacrylum tricornutum, il test con crostaceo copepode Acartia tonsa, il test di genotossicità Ames test; sul comparto sedimenti verrà condotto il test acuto con Corophium orientale. Sul comparto terrestre verranno effettuati il test di tossicità acuta su verme, il saggio di genotossicità (Ames test) e sull'elutriato del suolo il test di tossicità acuta con Daphnia magna. Nella fase ante operam sono previste due campagne di campionamento semestrali, in fase di esercizio si effettueranno due campagne di monitoraggio semestrali per i primi due anni, trascorsi i quali il monitoraggio verrà ridotto a una cadenza annuale previa condizione che nessuna tendenza di cambiamento rilevante delle condizioni ecotossicologiche e genotossicologiche venga riscontrata o in assenza di avviso o richieste dalle autorità competenti"

Di seguito si riportano le specificità delle indagini, le date, i luoghi di campionamento e le metodologie di indagini con i risultati analitici riferiti alla prima campagna semestrale di 2 per la fase *ante operam* del progetto.

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 5 di 24	Rev. 0

2 Breve descrizione del Progetto

L'intervento oggetto dello Studio di Impatto Ambientale sarà realizzato nello Stabilimento Enipower di Ravenna, situato all'interno del sito petrolchimico multi-societario e localizzata nell'Area Industriale di Ravenna in via Baiona a circa 5 km di distanza dalla città.

Come si vede dalla figura seguente le aree di interessate del progetto saranno completamente immerse in un contesto produttivo, avranno estensione limitata e non interesseranno aree a destinazione d'uso differente da quella industriale.

La matrice produttiva industriale è molto fitta e le realtà produttive co-insediate contribuiscono a generare potenziali effetti sull'ambiente, che potrebbe essere difficile separare da eventuali contributi dovuti agli impianti Enipower.



Figura 2.1 - Ubicazione delle aree interessate dal "progetto Peakers" di Ravenna -Sito petrolchimico multisocietario di Ravenna (linea azzurra) e Stabilimento Enipower (evidenziato in giallo)

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 6 di 24

L'area di cantierizzazione delle imprese dedicata al progetto Peakers sarà ubicata nell'area ad ovest del fabbricato della CTE Enipower (Figura 2.2 in verde area 1), a nord-ovest dell'area di intervento. In tale area saranno ubicati gli uffici di cantiere, le aree di lavorazione e di prefabbricazione

L'area 2 sarà dedicata al deposito dei materiali di risulta degli scavi e l'area 3 sarà adibita a stoccaggio materiali.

Gli uffici, il magazzino e le officine saranno montati in loco facendo uso di strutture prefabbricate temporanee.

Le maestranze adibite al progetto utilizzeranno le aree di parcheggio già disponibili all'esterno del petrolchimico.

Non è prevista occupazione temporanea e/o saltuaria di suolo pubblico.

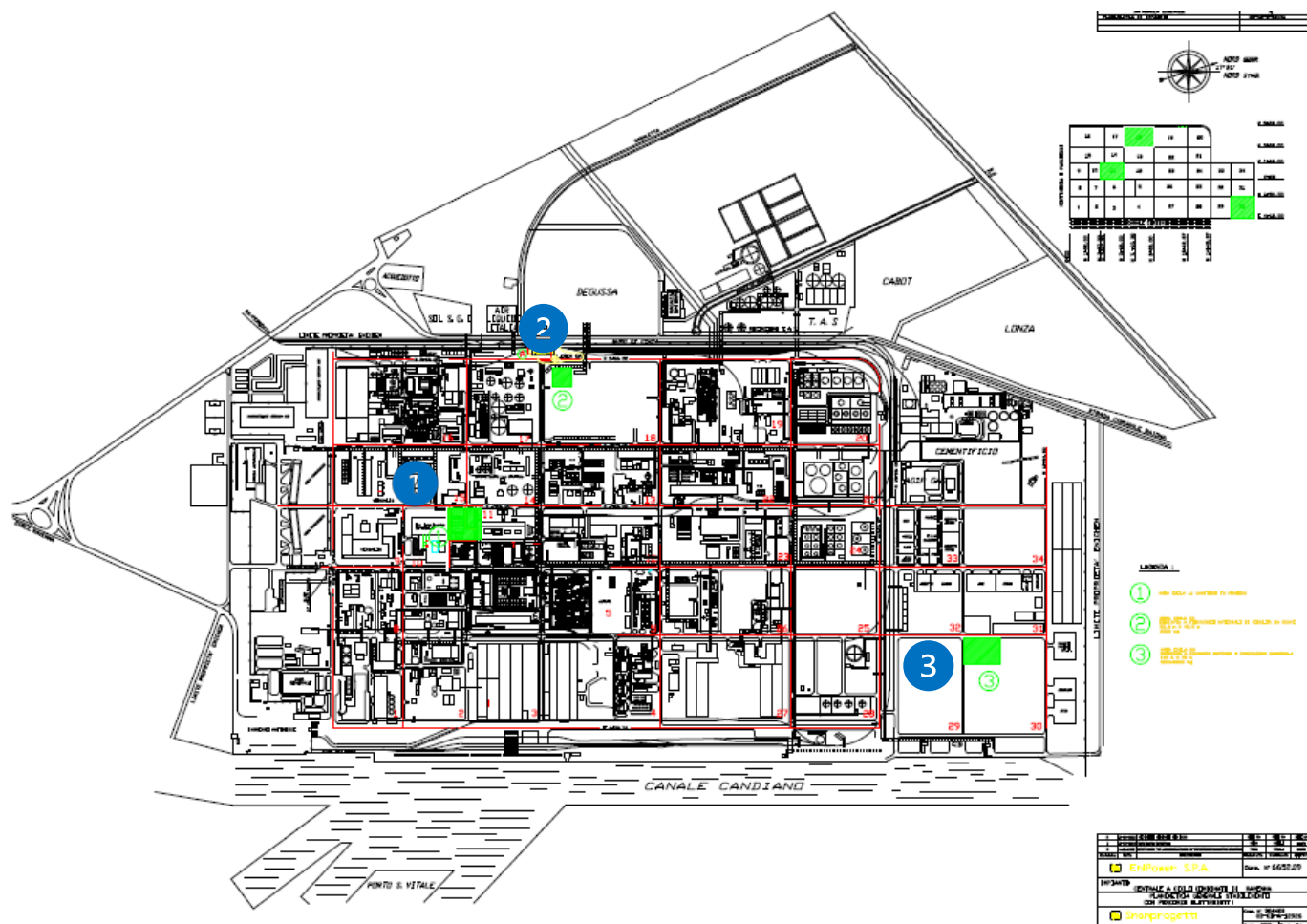


Figura 2.2 - Aree di cantierizzazione (rettangoli verdi), 1 area cantiere nuove TG, 2 area materiali di risulta da scavo, 3 area cantieri imprese e stoccaggio materiali

Come si vede dalla figura anche le aree di cantiere del progetto saranno completamente immerse in un contesto industriale e avranno estensione limitata.

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 7 di 24

Il progetto consiste nella sostituzione dell'esistente turbina a gas TG-501 con due nuovi turboalternatori a gas in ciclo aperto (OCGT), con potenza termica complessiva inferiore, migliorando nel contempo il quadro emissivo del sito.

Oltre ai due nuovi turbogeneratori a gas, denominati 20-TG-1701 e 20-TG-1801, saranno installati i relativi sistemi ausiliari e i nuovi sistemi di controllo e monitoraggio ambientale ad esse associati.

Le nuove turbine saranno caratterizzate da un maggiore rendimento elettrico con migliori prestazioni ambientali, permettendo tempi di avvio e stop molto rapidi e a elevati gradienti di carico, consentendo di soddisfare i picchi di maggiore richiesta energetica e contribuendo alla sicurezza della rete di trasmissione nazionale (RTN). Vengono inoltre ridotte le emissioni di NOx garantendo migliori prestazioni allineate con le BAT.

La configurazione impiantistica futura delle Centrale Enipower sarà dunque costituita da :

- due cicli combinati (CC1 e CC2) costituiti ognuno da turboalternatore a gas, caldaia a recupero e turboalternatore a vapore;
- una caldaia convenzionale a fuoco diretto (B-600);
- due nuovi turboalternatori a gas (20-TG-1701 e 20-TG-1801).

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 8 di 24

3 Metodologia

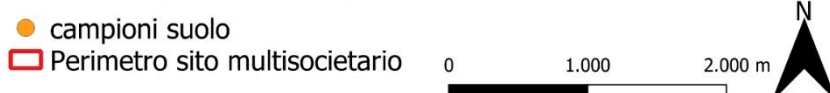
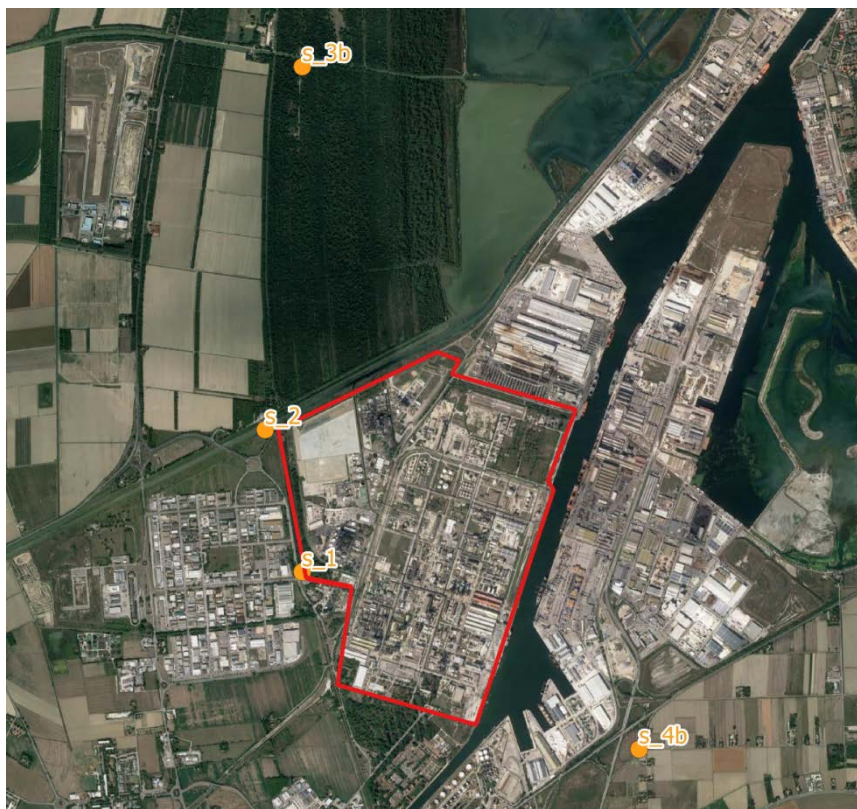
3.1 Campionamento

3.1.1 Descrizione dei punti di campionamento

I punti di campionamento su suolo superficiale per l'effettuazione delle indagini ecotossicologiche sono stati selezionati nella zona di ricaduta a massima concentrazione di inquinanti atmosferici risultata dallo studio di qualità dell'aria dello scenario emissivo di esercizio.

Lo scenario emissivo nella fase di operatività del progetto stima una riduzione di emissioni degli inquinanti rispetto alla situazione attuale, per tale motivo, sono stati selezionati anche due punti al di fuori dell'area di massima ricaduta come punti rappresentativi dello stato ambientale durante la fase *ante operam* con lo scopo di ottenere dati nella fase di scoping di una situazione di baseline e a cui fare riferimento nelle fasi successive di monitoraggio, prelevando campioni di suolo da terreni con simili caratteristiche, ma situati in punti distanti dall'area industriale. Di questi due punti, uno è situato nella pineta di pregio naturalistico San Vitale, parte del Parco Delta del Po, dove non dovrebbero essere riscontrati livelli di tossicità e genotossicità rilevante in organismi del suolo e dove, ricadendo in un'area soggetta a controlli e restrizioni, non ci si aspettano trend sfavorevoli di cambiamento dei livelli di tossicità nel suolo. La seguente Figura 3.1 mostra i punti di campionamento di suolo destinati alle indagini ecotossicologiche e genotossicologiche con le relative coordinate riportate in tabella Tabella 3.1.

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 9 di 24	Rev. 0



Nota: s_1 e s_2 fanno riferimento ai punti nelle aree di massime ricadute a terra di NOx calcolate come medie annue

Figura 3.1 Punti di campionamento per il suolo

Id Campione	Id Suolo Campione Laboratorio	Lat	Lon
s_1	2201416-001	44.44985	12.22379
s_2	2201416-002	44.45906	12.22045
s_3b	2201416-003	44.48259	12.22381
s_4b	2201416-004	44.43836	12.25428

Tabella 3.1 Coordinate dei punti di prelievo di suolo (WGS84)

Per quanto riguarda i corpi idrici superficiali, non sono previsti scarichi diretti in nessun corpo idrico da parte del progetto, cessando anche l'utilizzo dello scarico dell'acqua mare che prelevava acqua dal Candiano scaricando nel canale Magni con destino Pialassa Baiona. Gli scarichi vengono raccolti e indirizzati verso l'impianto di HERAmbiente (Herambiente, 2019) che raccoglie e tratta tutte le acque reflue industriali e meteoriche del sito chimico multi-societario. L'impianto di HERAmbiente scarica nel canale Candiano a circa

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 10 di 24	Rev. 0

600 m dalla centrale Enipower. Per le indagini sono stati selezionati 4 punti di campionamento nell'area del canale, di cui uno a monte dello scarico di HERAmbiente e tre a valle e un punto sul canale Magni in corrispondenza dell'attuale scarico acqua mare in Figura 2.2 e Tabella 3.2 sono riportati gli i punti di prelievo dei campioni per le indagini ecotossicologiche su acqua e sedimenti.



Figura 3.2 Punti di campionamento di acqua e sedimenti

Id Campione	Id Acqua Campione Laboratorio	Id Sedimento Campione Laboratorio	Lat	Lon
a_1	2201406-001	1765-22	44.44427	12.24183
a_2	2201406-002	1766-22	44.45572	12.24652
a_4	2201406-003	1767-22	44.45958	12.24843
a_3	2201406-004	1768-22	44.45764	12.24753
a_5	2201406-005	1769-22	44.46234	12.22891

Tabella 3.2 Coordinate dei punti di prelievo di acqua e sedimenti (WGS84, EPSG:4326)

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 11 di 24	Rev. 0

3.1.2 Metodiche di campionamento

Il prelievo di campioni destinati alle indagini ecotossicologiche e genotossicologiche è avvenuto in data 17/05/2022. I campioni hanno raggiunto i rispettivi laboratori per le analisi entro 24 h dal prelievo in scatole di polistirolo, nel caso di campioni di acqua e sedimenti refrigerate mediante piastre eutettiche. I campioni sono stati prelevati nei punti preselezionati mediante immagini satellitari sulle zone di massime ricadute degli inquinanti e ulteriormente confermati mediante un sopralluogo presso il sito del progetto avvenuto prima dell'avvio delle analisi.

Previo prelievo dei campioni di suolo, in ciascun punto, un'area di indicativamente 0.5 m² è stata ripulita dalla vegetazione superficiale, prettamente piante erbacee rade. Il terreno superficiale è stato prelevato con una pala, al terreno sono manualmente stati rimossi residui di vegetazione e piccole pietre ed è stato ulteriormente setacciato con un setaccio a maglie di 1 cm² prima di venire conservato in secchi a chiusura ermetica a loro volta inscatolati per il trasporto. 10 l di terreno sono stati prelevati per ciascun punto.

I campioni di acqua sono stati prelevati mediante una bottiglia di campionamento kemmerer calata dalla riva entro un metro dalla superficie per un totale di 1l di acqua per punto di campionamento.

I sedimenti sono stati prelevati mediante benna di Van Veen da 2.5 kg e conservati in contenitori ermetici per il trasporto previa annotazione della consistenza e odore. Circa 1 kg di campione per ogni punto è stato prelevato.

Il campionamento ha seguito il protocollo "UNI EN ISO 5667-16 Qualità dell'acqua - Campionamento - Parte 16: Guida al saggio biologico di campioni".

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 12 di 24	Rev. 0

Figura 3.3 Campionatore durante il prelievo di acqua con la bottiglia Kemmerer sul canale Candiano



Figura 3.4 Benna Van Veen

 eni power	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 13 di 24	Rev. 0

3.2 Analisi di laboratorio e certificazioni

Il laboratorio accreditato ChemService SRL ha condotto le analisi. Qui di seguito vengono riportati i tipi di test per ogni matrice da campionare, riassunti in tabella 3.3 con le corrispettive linee guida certificate e metodi seguiti. Il test su larve di *Paracentratus lividus* non è stato effettuato in quanto è un test con una precisa stagionalità che ricade al di fuori del periodo di questa prima campagna di indagini.

Acque superficiali e sedimenti marini

Sulla matrice acqua sono stati effettuati i seguenti test di tossicità acuta e cronica:

- saggio di tossicità acuta tramite test di inibizione di bioluminescenza con *Vibrio fischeri* (EC20, EC50), secondo protocollo ISO 11348-3:2007/Amd 1:2018;
- valutazione della tossicità cronica tramite saggio di inibizione della crescita di alghe marine con *Phaeodactylum tricorutum* (EyC₅₀, ErC₅₀, LOEC, NOEC), secondo protocollo UNI EN ISO 1053:2016;
- saggio di tossicità acuta sul crostaceo copepode *Acartia tonsa* secondo protocollo UNICHIM 2365:2012.

È stato inoltre effettuato il test di genotossicità Ames test per il potenziale mutagenico dei campioni di acque marine, secondo protocollo OECD 471 "Bacterial reverse mutation test (Ames test)".

Sulla matrice sedimenti marini (sedimento tal quale) è stato contestualmente effettuato:

- il saggio di tossicità acuta con test di mortalità a 10 giorni sul crostaceo anfipode *Corophium orientale* (ISO 16712:2005).

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 14 di 24

Suolo e elutriato

Per la matrice suolo sono stati eseguiti i seguenti test di tossicità acuta e genotossicità:

- saggio di tossicità acuta sul verme *Eisenia fetida* (per la valutazione degli effetti tossici acuti sul comparto terrestre), secondo protocollo OECD 207;

La preparazione dell'elutriato è stata eseguita seguendo il metodo UNI EN 12457-2:2004: "Characterization of waste; Leaching – Compliance test for leaching of granular waste materials and sludges". Sull'elutriato verrà eseguito il seguente test di tossicità acuta:

- saggio di tossicità acuta sul crostaceo cladocero *Daphnia magna* seguendo protocolli OECD 202 e APAT CNR IRSA 8020 B Man 29 2003.

Il potenziale mutagenico dei campioni di acque marine e da lisciviazione del suolo (elutriato) è stato valutato mediante

- Test di Ames su due ceppi cellulari di *Salmonella typhimurium* (TA98-TA100) in presenza e assenza di una miscela di enzimi attivatori metabolici (S9).

Comparto TERRESTRE (suolo e elutriato)		
N. 4 punti di prelievo	Test da eseguire su Matrice suolo	Test da eseguire su elutriato
	Tossicità acuta verme <i>Eisenia fetida</i> (OECD 207,1984)	Saggio di tossicità acuta con <i>Daphnia magna</i> (crostaceo appartenente allo zooplankton) (OECD 202 , 2004)
	Saggio di genotossicità (Ames test), OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Section 4, No. 471, "Bacterial Reverse Mutation Test", adopted 21st July, 1997, Corrected 26th June 2020	
Comparto Acque canale Candiano (sedimenti e acqua)		
N. 5 punti di prelievo	Test da eseguire su Matrice acqua	
	Test inibizione della mobilità di naupli dopo 24 e 48 h di esposizione con <i>Acartia tonsa</i> (crostaceo copepode appartenente allo zooplankton), UNICHIM Metodo n. 2365 QUALITA' DELL'ACQUA	

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 15 di 24

	Test di tossicità cronica su alga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> , UNI EN ISO 10253 Qualità dell'acqua Saggio di inibizione della crescita delle alghe marine <i>Skeletonema costatum</i> e <i>Phaeodactylum tricornutum</i>
	Saggio di tossicità acuta con test di su <i>Vibrio fischeri</i> (batterio Gram -), UNI EN ISO 11348-3 Qualità dell'acqua
	Saggio di genotossicità (Ames test), OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Section 4, No. 471, "Bacterial Reverse Mutation Test", adopted 21st July, 1997, Corrected 26th June 2020
	Test da eseguire su Matrice sedimenti
	Test acuto di mortalità a 10 giorni con <i>Corophium orientale</i> , ISO 16712 Water quality — Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediment to amphipods

Tabella 3.3 Batteria di test ecotossicologici e test genotossicologico da eseguire su ciascuna matrice ambientale e standard di riferimento.

L'Allegato I – Relazione di laboratorio riporta in dettaglio la metodologia per ciascun saggio ecotossicologico e per il test di genotossicità sopra elencati.

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 16 di 24

4 Risultati

4.1 Comparto Suolo

4.1.1 Saggio di tossicità acuta su *Daphnia magna*

Il test su elutriato rivela, dopo 24 e 48 ore dall'inizio dell'esposizione, l'immobilizzazione degli organismi (vengono definiti immobili gli organismi che non sono in grado di muoversi entro 15 secondi dopo leggera agitazione della soluzione).

Il saggio è stato eseguito sul campione tal quale (TQ). Il pH nei campioni variava tra 7,83-8,18 e le concentrazioni di O₂ disciolto tra 5,27 e 7,03, valori conformi a quanto richiesto da protocollo OECD 202, 2004.

Il test è considerato valido perché:

- Nel controllo negativo l'immobilizzazione delle dafnie non ha superato il 10%
- Il pH non è variato variare più di 1.5 unità al termine del test
- La concentrazione dell'ossigeno disciolto era ≥ 3 mg/l alla fine del saggio

Dopo 24 e 48 ore non è stata rilevata immobilizzazione di alcun organismo in nessun campione non rilevando alcuna tossicità. l'EC₅₀ risulta maggiore del campione tal quale (Tabella 4.1).

Valore ricercato	s_1	s_2	s_3	s_4
EC ₅₀	>TQ (>100%)	>TQ (>100%)	>TQ (>100%)	>TQ (>100%)

Note:

EC₅₀ = la concentrazione calcolata di sostanza test che causa l'immobilizzazione del 50% degli organismi esposti.

Tabella 4.1. Risultati dell'immobilizzazione di *D. magna* a 48 ore di esposizione

4.1.2 Saggio di tossicità acuta su *Eisenia fetida*



I quattro saggi di tossicità acuta su *Eisenia fetida* sono stati condotti sul campione tal quale (TQ) con aggiunta di acqua deionizzata al fine di ottenere un'umidità del terreno di circa il 40% della WHC (Maximum Water Holding Capacity) del campione setacciato a < 4mm. Il test indica tossicità acuta osservando la mortalità degli organismi esposti (%).

I valori di pH del mezzo variavano tra 6,02 e 8,11, i valori WHC (come % di peso secco) tra 73,8 e 88,6.

Il test viene considerato valido in quanto:

- Alla fine del test, la mortalità degli animali del controllo negativo non ha superato il 10%.

Non si è rilevata una tossicità nei campioni di suolo, si ha avuto mortalità solamente in un campione (s_2), ma non tale da rilevare tossicità (Tabella 4.2).

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 17 di 24

Valore ricercato	s_1	s_2	s_3	s_4
NOEC	TQ (100%)	TQ (100%)	TQ (100%)	TQ (100%)
LOEC	>TQ (>100%)	>TQ (>100%)	>TQ (>100%)	>TQ (>100%)
LC ₅₀	>TQ (>100%)	>TQ (>100%)	>TQ (>100%)	>TQ (>100%)

Tabella 4.2 Risultati di NOEC, LOEC, LC50 del test acuto di tossicità con *Eisenia fetida*

4.1.3 Saggio di genotossicità Ames test su suolo

L'obiettivo del test di Ames è la valutazione del potenziale mutageno dei campioni di elutriato misurando la loro capacità di indurre mutazioni inverse in ceppi selezionati. In questo caso sono stati utilizzati due ceppi di *Salmonella typhimurium* (TA98 e TA100) in presenza e assenza di frazione microsomiale S9 di fegato di ratto trattato con Phenobarbital/ β -Naphthoflavone. I kit utilizzati sono stati forniti da Xenometrix AG, Switzerland.

In parallelo ai campioni ambientali, sono stati condotti saggi con sostanze mutagene di riferimento che fungono da controllo positivo, utili per verificare la corretta sensibilità dei ceppi batterici utilizzati e le idonee condizioni sperimentali.

Il test di mutagenesi inversa batterica non ha dato risultati che rilevassero effetti di mutagenesi nei campioni di suolo analizzati sia per il ceppo TA 98 che per il ceppo TA100 di Salmonella. I risultati espressi come fold induction rivelano valori inferiori a 2 e quindi negativi (Tabella 4.7), per maggiori dettagli sulla determinazione del valore di fold induction e sulla metodologia del test di Ames si rimanda all'Allegato I – Relazione di laboratorio.

Ceppo	TA 98		TA100	
	-S9	+S9	-S9	+S9
Controllo positivo	5.41	4.47	6.02	4.32
s_1	1.17	1.00	1.00	1.00
s_2	1.00	1.00	1.00	1.00
s_3	1.00	1.00	1.00	1.00
s_4	1.33	1.00	1.00	1.00

Tabella 4.3 risultati del test di Ames di genotossicità sui campioni di elutriato del suolo espresso come valore di fold induction per i ceppi A98 e A100 in presenza e assenza di frazione microsomiale S9 di fegato di ratto

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 18 di 24	Rev. 0

4.2 Comparto Acqua

4.2.1 Saggio di inibizione dell'emissione luminosa su *Vibrio fischeri*

Il saggio si basa sulla capacità di questo batterio di essere bioluminescente in condizioni ottimali. Una diminuzione della luce emessa è quindi attribuibile ad effetti tossici del campione testato. L'inibizione della bioluminescenza è stata testata effettuando misure di emissione luminosa dopo l'esposizione dei batteri per 5, 15 e 30 minuti al campione da analizzare, confrontandola con quella dei batteri esposti al controllo negativo. Per il controllo negativo è stata utilizzata acqua marina ricostituita preparata secondo metodo UNI EN ISO 11348-3 (Annex D).

Il pH del controllo e dei campioni TQ all'inizio del test era compreso tra 7,15 e 7,62 validando l'utilizzo dei campioni per il test senza necessità di diluizione con NaOH o HCl.

La salinità dei campioni era compresa tra 31 e 38 ‰ mentre i valori di O₂ disciolto variavano tra 6,19 e 7,38 mg/l, in conformità con il range raccomandato dagli standard ISO superiore o uguale a 3 mg/l.

Secondo protocollo il test di inibizione della luminosità viene ritenuto valido se i valori di gamma (#) per le letture a 15 o 30 minuti di incubazione sono risultate comprese tra 0,6 e 1,8., in questo caso i valori oscillavano tra 1,175 e 1,311.

Il saggio non ha rilevato tossicità in nessuno dei campioni prelevati sia all' EC₅₀ che all'EC₂₀ (vedi Tabella 4.1).

Valore ricercato	a_1	a_2	a_3	a_4	a_5
EC ₂₀	>TQ (>90%)	>TQ (>90%)	>TQ (>90%)	>TQ (>90%)	>TQ (>90%)
EC ₅₀	>TQ (>90%)	>TQ (>90%)	>TQ (>90%)	>TQ (>90%)	>TQ (>90%)

Tabella 4.4 Risultati del test di inibizione della bioluminescenza su *Vibrio fischeri*. I risultati non dimostrano livelli di tossicità rilevabili in nessuno dei campioni di acqua marina utilizzata.

4.2.2 Saggio di inibizione della crescita di alghe marine su *Phaeodactylum tricorutum*

Il saggio valuta gli effetti acuti e cronici dei campioni di acque marine valutando l'inibizione della crescita di alghe unicellulari, in questo caso è stata utilizzata la diatomea *Phaeodactylum tricorutum*. Sono stati allestiti n=6 replicati per campione e gli organismi sono stati incubati per 72h ore in continua agitazione all'interno di una camera climatica. Per il controllo negativo è stata preparata acqua marina artificiale secondo protocollo UNI EN ISO 10253:2016.

Il saggio di inibizione è stato condotto su campioni di concentrazione tal quale pari al 98,5%. Il test è considerato valido perché nel controllo:

- il fattore di crescita della biomassa è risultato 54 (accettabile se ≥ 16);
- la variazione media del tasso di crescita tra le repliche: è risultato 0,9 % (accettabile se ≤ 7).

Dopo 72 ore di esposizione al campione di acqua marina in nessuno dei campioni è stato riscontrato un livello di tossicità con un NOEC al 98,5% di campione (Tabella 4.2).

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 19 di 24

Valore ricercato	Diluizione del campione – Percentuale di campione
NOEC	98,5%
LOEC	>98,5%
EyC50	>98,5%
ErC50	>98,5%

Note:

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



Tabella 4.5 Biomassa e tasso di inibizione alla crescita per tutti i campioni di acqua marina analizzati.

4.2.3 Saggio di tossicità acuta su *Acartia tonsa*

Il saggio di tossicità acuta con naupli (stadio vitale) di *A. tonsa* determina il livello di tossicità acuta del mezzo (il campione) valutando la mobilità dei naupli dopo un'esposizione a 24 e 48 ore. I valori di pH dei campioni a inizio test variavano tra 6,51 e 7,04 (8,07 pH del controllo negativo), i valori di salinità tra 36 e 39 ‰ (30‰ nel controllo) e i valori di O₂ disciolto tra 6,39 e 7,01 (6,52 nel controllo negativo).

Il test è considerato valido perché:

- la percentuale di immobilizzazione dei naupli nel controllo metodologico è stata < 20%.
- l'EC₅₀ del controllo positivo è rientrato tra i valori di: 0,37 (±0,18) mg Ni²⁺/L a 24h e 0,24 (±0,12) mg Ni²⁺/L a 48h.

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 20 di 24



I risultati non hanno rilevato alcun livello di inibizione dei naupli dopo 24 e 48 ore tale da rilevare tossicità acuta in nessuno dei campioni rispetto al controllo negativo.

Campione	Massima concentrazione saggiata (%)	Media % naupli mobili (± D.S.)	Media % naupli immobili (± D.S.)
Controllo metodologico	-	100,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2201406-001	85	93,33 ± 0,58	6,67 ± 0,58
2201406-002	85	96,67 ± 0,58	3,33 ± 0,58
2201406-003	85	93,33 ± 0,58	6,67 ± 0,58
2201406-004	85	93,33 ± 0,58	6,67 ± 0,58
2201406-005	85	96,67 ± 0,58	3,33 ± 0,58

Tabella 4.6 Risultati del test di tossicità acuta con i copepodi di *A. tonsa* a 24 ore. I campioni sono diluiti all'85%.

Campione	Massima concentrazione saggiata (%)	Media % naupli mobili (± D.S.)	Media % naupli immobili (± D.S.)
Controllo metodologico	-	93,33 ± 0,58	6,67 ± 0,58
2201406-001	85	93,33 ± 0,58	6,67 ± 0,58
2201406-002	85	90,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00
2201406-003	85	93,33 ± 0,58	6,67 ± 0,58
2201406-004	85	90,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00
2201406-005	85	96,67 ± 0,58	3,33 ± 0,58

Tabella 4.7 Risultati del test di tossicità acuta con i copepodi di *A. tonsa* a 48 ore. I campioni sono diluiti all'85%.

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 21 di 24

4.2.4 Saggio di genotossicità Ames test su acqua marina



L'obiettivo del test di Ames è la valutazione del potenziale mutageno dei campioni misurando la loro capacità di indurre mutazioni inverse in ceppi selezionati. In questo caso sono stati utilizzati due ceppi di *Salmonella typhimurium* (TA98 e TA100) in presenza e assenza di frazione microsomiale S9 di fegato di ratto trattato con Phenobarbital/ β -Naphthoflavone. I kit utilizzati sono stati forniti da Xenometrix AG, Switzerland.

In parallelo ai campioni ambientali, sono stati condotti saggi con sostanze mutagene di riferimento che fungono da controllo positivo, utili per verificare la corretta sensibilità dei ceppi batterici utilizzati e le idonee condizioni sperimentali.

Il test di mutagenesi inversa batterica non ha dato risultati che rilevassero effetti di mutagenesi nei campioni di acqua analizzati sia per il ceppo TA 98 che per il ceppo TA100 di Salmonella. I risultati espressi come fold induction rivelano valori inferiori a 2 e quindi negativi (Tabella 4.5), per maggiori dettagli sulla determinazione del valore di fold induction e sulla metodologia del test di Ames si rimanda all'Allegato I – Relazione di laboratorio.

Ceppo	TA 98		TA100	
	-S9	+S9	-S9	+S9
Controllo positivo	41.57	26.36	3.91	4.69
a_1	1.00	1.28	1.00	1.04
a_2	1.00	1.10	1.00	1.01
a_3	1.15	1.00	1.00	1.11
a_4	1.15	1.00	1.00	1.00
a_5	1.00	1.00	1.00	1.14

Tabella 4.8 risultati del test di Ames di genotossicità sui campioni di acqua marina espresso come valore di fold induction per i ceppi A98 e A100 in presenza e assenza di frazione microsomiale S9 di fegato di ratto

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2		Spc. 00-ZA-E-85535
	Piano di monitoraggio ecotossicologico		Pag. 22 di 24

4.3 Comparto Sedimenti marini

4.3.1 Saggio di tossicità acuta su *Corophium orientale*

Il saggio di mortalità con *C. orientale* determina i livelli di tossicità del mezzo dopo 10 giorni di esposizione dell'anfipode valutando la mortalità (in %).

Il valore di EC₅₀ con il tossico di riferimento è risultato pari a 3,2 mg/L (2,75-3,33) a 96 h di esposizione.

I valori di pH dei campioni variavano tra 8,05 e 8,11, la salinità era pari a 36 in tutti i campioni, le concentrazioni di NH₄⁺ variavano tra 2 e 5 nei campioni (0,05 nel controllo negativo) e l'O₂ disciolto era pari a >85 %.

Ad esclusione del campione a_5 proveniente da un canale diverso, i campioni hanno evidenziato percentuali di mortalità minori al 15% non evidenziando quindi tossicità, mentre il campione a_5 ha rilevato una mortalità media del 17 ± 6,09 % mostrando una bassa tossicità (Tabella 4.6).

Campione	Sopravvivenza % media (± D.S.)	Mortalità % media (± incertezza.)	Mortalità % corretta
Controllo metodologico	100 ± 0,00	0 ± 0,00	0
1765-22	86 ± 5,16	14 ± 8,21	14
1766-22	89 ± 2,00	11 ± 3,18	11
1767-22	94 ± 2,31	6 ± 3,67	6
1768-22	86 ± 5,16	14 ± 8,21	14
1769-22	83 ± 3,83	17 ± 6,09	17

Tabella 4.9 Test a 10 giorni con *Corophium orientale* su campioni di sedimento

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 23 di 24	Rev. 0

5 Conclusioni

La presente è la prima di due campagne di indagini ecotossicologiche e di genotossicità condotta nella fase *Ante Operam* sui campioni di suolo delle zone di ricaduta degli inquinanti e sui campioni di acque e sedimenti nei punti dei canali adiacenti alla centrale di Ravenna operata da Enipower. Le indagini non hanno evidenziato alcuna tossicità o effetto di mutagenesi nei campioni analizzati. In particolare:

- i test ecotossicologici effettuati sui campioni di sedimento non hanno evidenziato alcun effetto tossico su *Corophium orientale* per tutti i campioni indagati, ad eccezione di un lieve effetto tossico nel test effettuato sul campione 2201406-005 (A5), che ha evidenziato una mortalità del 17%;
- i test ecotossicologici effettuati sui campioni di acqua marina non hanno evidenziato alcun effetto tossico statisticamente significativo su *V. fischeri*, *A. tonsa*, *P. tricornutum* per tutti i campioni indagati e analogamente i test effettuati sui campioni di suolo e di elutriato non hanno evidenziato effetti tossici statisticamente significativi su *E. fetida* o *D. magna* per tutti i campioni indagati;
- i test di genotossicità svolti sui campioni di acqua marina e sulle acque da lisciviazione del suolo non hanno mostrato effetti mutagenici nelle condizioni sperimentali del saggio, sia in presenza che assenza di attivazione metabolica.

La seconda campagna di indagini ecotossicologiche, prevista durante il periodo autunnale, potrà verificare le differenti condizioni e dare ulteriori informazioni circa la tossicità dei sedimenti, sebbene la % di mortalità sia solo lievemente superiore al valore considerato non tossico (15%).

6 Allegato I – Relazione di laboratorio

7 Allegato II – Test di laboratorio

	PROGETTISTA 	COMMESSA 022847 05	UNITÀ 00
	DM 2021-0000234 Parere n. 36 del 21 dicembre 2020 della Commissione tecnica VIA e VAS proposta di ottemperanza Condizione 2	Spc. 00-ZA-E-85535	
	Piano di monitoraggio ecotossicologico	Pag. 24 di 24	Rev. 0

8 Riferimenti bibliografici

- International Organization for Standardization, ISO/TC 147/SC 5 Biological methods, <https://www.iso.org/committee/52972/x/catalogue/>
- International Organization for Standardization, ISO/TC 147/SC 6 Sampling (general methods), <https://www.iso.org/committee/52994/x/catalogue/>
- Linee guida per la valutazione di impatto sanitario (Dl.vo 104/2017) – Rapporti ISTISAN 19/9 (2019)
- OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2; Effects on biotic Systems, [OECD iLibrary \(oecd-ilibrary.org\)](https://www.oecd-ilibrary.org/)
- SOSTITUZIONE TG-501 CON NUOVE TG CAPACITY STRATEGY ITALIA Centrale Termoelettrica di Ravenna Spc. RA-IV-1909-ZA-E-85500, Studio di Impatto Ambientale, Saipem, 2021