

1. Avendo una soluzione Madre concentrata 10 g/L:
 - a. Spiegare la preparazione di 200 mL di soluzione madre, partendo da un reagente in polvere di grado analitico 100%.
 - b. Spiegare la preparazione di 5 diluizioni (5-2,5-1,25-0,625-0,312 g/L) procedendo sia con diluizioni scalari che con diluizioni preparate da madre. Di ogni diluizione, preparare 10 mL.

SOLUZIONE

- a. Per preparare 200 mL di una soluzione madre concentrata 10 g/L è necessario mettere 2 g di reagente in 200 mL di soluto.
- b. **Procedendo con diluizioni scalari.**
 Preparazione [5 g/L]: prelevare 10 mL dalla soluzione madre e aggiungere 10 mL di soluto;
 Preparazione [2,5 g/L]: prelevare 10 mL dalla soluzione a concentrazione 5 g/L e aggiungere 10 mL di soluto;
 Preparazione [1,25 g/L]: prelevare 10 mL dalla soluzione a concentrazione 2,5 g/L e aggiungere 10 mL di soluto;
 Preparazione [0,625 g/L]: prelevare 10 mL dalla soluzione a concentrazione 1,25 g/L e aggiungere 10 mL di soluto;
 Preparazione [0,312 g/L]: prelevare 10 mL dalla soluzione a concentrazione 0,625 g/L e aggiungere 10 mL di soluto; scartare i 10 mL in eccesso. Scartare il volume è determinante nei casi in cui si debba aggiungere reagenti o altro alle diluizioni eseguite. In alcuni casi, non è determinante per l'analisi ma può essere comunque un'operazione consigliabile per evitare confusione all'operatore.

Preparazione partendo dalla soluzione madre [10g/L].

Preparazione [5 g/L]: prelevare 5 mL dalla soluzione madre e aggiungere 5 mL di soluto;
 Preparazione [2,5 g/L]: prelevare 2,5 mL dalla soluzione madre e aggiungere 7,5 mL di soluto;
 Preparazione [1,25 g/L]: prelevare 1,25 mL dalla soluzione madre e aggiungere 8,75 mL di soluto;
 Preparazione [0,625 g/L]: prelevare 625 µL dalla soluzione madre e aggiungere 9,375 mL di soluto;
 Preparazione [0,312 g/L]: prelevare 312 µL dalla soluzione madre e aggiungere 9,688 mL di soluto. In questo caso non avrete eccesso di volume da scartare.

Ricordare che la formula per le diluizioni partendo dalla soluzione madre è:

$$C_i \cdot v_i = C_f \cdot v_f$$

Dove: C_i = concentrazione iniziale, v_i = volume iniziale, C_f = concentrazione finale, v_f = volume finale.

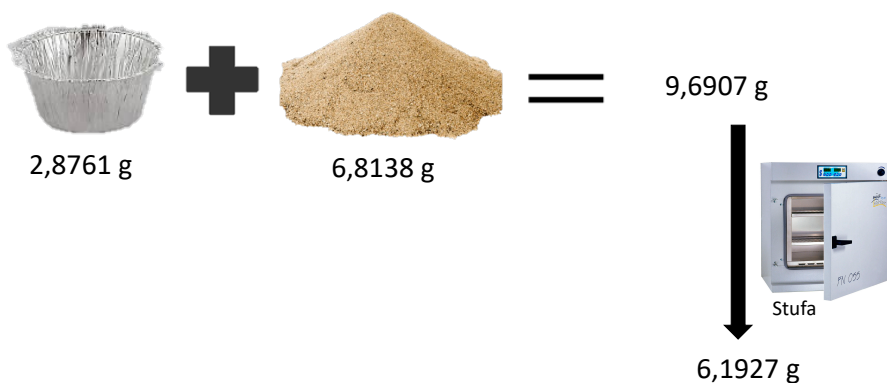
2. Svolgere le seguenti equivalenze di unità di misura:

- a. $0,00000543 \text{ cm} \rightarrow \underline{\hspace{2cm}} \mu\text{m} \rightarrow \underline{\hspace{2cm}} \text{ nm}$
b. $3489 \text{ mL} \rightarrow \underline{\hspace{2cm}} \text{ cm}^3 \rightarrow \underline{\hspace{2cm}} \text{ m}^3$
c. $0,987 \text{ g/L} \rightarrow \underline{\hspace{2cm}} \text{ ng/mL}$
d. $986 \mu\text{g/L} \rightarrow \underline{\hspace{2cm}} \text{ g/mL}$

SOLUZIONE

- a. $0,00000543 \text{ cm} \rightarrow 0,0543 \mu\text{m} \rightarrow 54,3 \text{ nm}$
b. $3489 \text{ mL} \rightarrow 3489 \text{ cm}^3 \rightarrow 0,003489 \text{ m}^3$
c. $0,987 \text{ g/L} \rightarrow 987000 \text{ ng/mL}$
d. $986 \mu\text{g/L} \rightarrow 0,00000986 \text{ g/mL}$

3. Un sedimento subisce il seguente processo:



Sapendo che nel campione fresco c'è una concentrazione di arsenico di $31,9 \mu\text{g/g}$ pf, quale concentrazione di arsenico è associata al campione secco?

SOLUZIONE

Il peso secco è di 3,498 grammi ($9,6907\text{g} - 6,1927\text{g}$).

Sapendo la quantità di arsenico in 1 g di peso fresco ($31,9 \mu\text{g}$), imposto la seguente proporzione per conoscere la quantità di arsenico nella totalità di peso fresco pesato:

$$31,9 \mu\text{g} : 1 \text{ g} = x \mu\text{g} : 6,8138 \text{ g}$$

$$X \mu\text{g} = 217,36 \mu\text{g} \text{ assoluti di As nel campione fresco pesato.}$$

Sapendo la quantità di arsenico nel peso fresco e sapendo che durante l'essiccazione del campione viene persa soltanto acqua (perdita di umidità) e non arsenico, per conoscere la concentrazione di arsenico nel peso secco è necessario impostare il seguente rapporto:

$$217,36 \mu\text{g} / 3,498 \text{ g} = 62,14 \mu\text{g} \text{ di arsenico} / \text{g di peso secco.}$$

Calcolando la percentuale di umidità del campione, è intuibile anche senza fare calcoli precisi, di quanto aumenterà la concentrazione dei contaminanti nel campione secco. Potete, infatti, vedere che la concentrazione di arsenico nel secco è quasi raddoppiata rispetto a quella nel campione fresco. L'umidità del campione è 48,7%. Vi ricordo la formula del calcolo dell'umidità che è: $U\% = ((P_f - P_s) / P_f) * 100$. Dove P_f = peso fresco e P_s = peso secco. Con una umidità prossima al 50% mi aspetto un raddoppio della concentrazione dei contaminanti nel campione secco rispetto a quella misurata nel campione fresco. Lo stesso ragionamento può essere fatto partendo dalla concentrazione del contaminante nel campione secco per stimare quella presente nel campione reale (quello fresco).

4. 100 mL di una soluzione di alcol amilico contenente 16,5 g di perossido di idrogeno (H₂O₂) viene unita con 100 mL di acqua (i liquidi sono immiscibili).

Sappiamo che il coefficiente di ripartizione dell'H₂O₂ tra acqua e alcol amilico è $K = 7,00$. Determinare la percentuale di H₂O₂ estratta dalla soluzione di alcol amilico durante il trattamento.

SOLUZIONE

Conoscendo la formula del coefficiente di ripartizione, i calcoli vengono svolti nel seguente modo:

$$7,00 = \frac{16,5 - x}{\frac{100}{x}}$$

Svolgendo i calcoli, il valore di x risulta essere uguale a 2,063. Questi sono i grammi di perossido di idrogeno ripartiti in acqua all'equilibrio. Considerando che i grammi di H₂O₂ messi in alcol amilico inizialmente erano 16,5; si imposta la seguente proporzione per conoscere la percentuale corrispondente a 2,063 g.

$$16,5 \text{ g} : 100\% = 2,063 \text{ g} : x\%$$

$X = 12,50\% \rightarrow$ questa è la percentuale di perossido di idrogeno estratta dall'alcool amilico e quindi presente all'equilibrio nel comparto acqua.

5. La tabella sottostante riporta la corrispondenza tra i valori di TBI ed il livello chimico associato, tale livello può essere anche associato ad una scala di pericolo ecotossicologico.

Valore TBI	Livello chimico associato	Scala di pericolo ecotossicologico
$0 \leq \text{TBI} < 0,1$	A	Assente/Relativamente trascurabile
$0,1 \leq \text{TBI} < 0,3$	B	Moderato
$0,4 \leq \text{TBI} < 0,5$	C	Elevato
$0,5 \leq \text{TBI} < 0,7$	D	Molto alto

Sono stati condotti saggi ecotossicologici su alcuni campioni e mediante l'analisi di indici integrati, si è ottenuto come valori di TBI i seguenti:

TBI	Raggruppamenti del TBI e livelli chimici associati	Scala di pericolo ecotossicologico definito in base all'indice integrato TBI
0,43		
0,05		
0,34		
0,25		
0,16		

Riportare i livelli chimici associati e la scala di pericolo ecotossicologico associato.

Discutere i risultati ottenuti, facendo alcune considerazioni sullo stato ambientale del luogo da cui sono stati prelevati i campioni.

SOLUZIONE

0,43	C → Elevato
0,05	A → Assente/Relativamente trascurabile
0,34	B/C Collocato tra Moderato/Elevato
0,25	B → Moderato
0,16	B → Moderato

L'ambiente da cui provengono i campioni mostra diversi livelli di contaminazione con prevalenza di siti impattati. La presenza di campioni ASSENTE, MODERATO, ELEVATO lascia ipotizzare un gradiente di contaminazione che può essere associato ad una fonte puntuale probabilmente collocata in prossimità del campione con classificazione ELEVATA.

Sulla base dei risultati ottenuti sono necessari approfondimenti per localizzare la fonte di contaminazione. Le analisi chimiche di base possono permettere di capire quale sia la fonte di contaminazione da ricercare e dovrebbero essere integrate prima di fare ulteriori indagini *in situ*.

6. Dati i seguenti valori sperimentali:

	n° morti	Individui totali	% mortalità
Controllo negativo_Replica 1	0	10	
Controllo negativo_Replica 2	1	10	
Controllo negativo_Replica 3	0	10	
Controllo negativo_Replica 4	1	10	
Campione_Replica 1	3	10	
Campione_Replica 2	2	10	
Campione_Replica 3	1	10	
Campione_Replica 4	4	10	
		Media	Dev.St.
% Mortalità totale Controllo			
% Mortalità totale Campione			

Calcolare la percentuale di effetto media del controllo e del campione, la deviazione standard, il test T di Student e il test F di Fisher.

SOLUZIONE

Mortalità:

0%

10%

0%

10%

30%

20%

10%

40%

Media e deviazione standard:

Controllo: 5 % - 5,77

Campione: 25% - 12,91

T-test: 0,030

Test Fisher: 0,219

7. Viene dispersa in un corpo idrico una sostanza A con LOEC = 0,00001% per *P. lividus*; calcolare quanto volume (in m^3) di acqua del corpo idrico ricevente servono per diluire fino alla concentrazione di LOEC un litro della sostanza A.

Posto un volume del corpo idrico ricevente di $5600\ m^3$, quante bottiglie da 0,5 L possono rompersi senza arrecare danno all'ambiente circostante?

SOLUZIONE

Il LOEC è di 0,00001 %, questo dato si può esprimere anche come 0,00001 mL di sostanza A in 100 mL di acqua.

Il quesito significa che vogliamo sapere quanti litri di acqua sono necessari per diluire la sostanza A ad una concentrazione tale che disperdendone un litro in ambiente questa non sia dannosa per la specie *P. lividus*.

Imposto la seguente proporzione:

$$0,00001\ mL : 100\ mL = 1000\ mL\ (\text{di sostanza A dispersa}) : x\ mL$$

$$X = 10.000.000.000\ mL$$

Questi sono gli mL che servono per diluire un litro di sostanza A fino a ottenere la concentrazione in ambiente di 0,00001%.

La risposta va fornita in m^3 :

$$10.000.000.000\ mL = 10.000.000\ L$$

$$1\ m^3 = 1000\ L \rightarrow 10.000.000\ L = 10.000\ m^3$$

Sapendo che per diluire 1 L di sostanza A fino a una concentrazione di 0,00001% servono $10.000\ m^3$ di acqua, essendo il volume del corpo idrico ricevente pari a $5600\ m^3$, quanti L di sostanza A si possono disperdere senza arrecare danno alla specie considerata?

Imposto la seguente proporzione:

$$10.000\ m^3 : 1\ L\ (\text{di sostanza A}) = 5600\ m^3 : x\ L$$

Da cui si ricava che $x = 0,56\ L$

Quante bottiglie da 0,5 L si possono quindi rompere?

$$0,56 / 0,5 = 1,12 \rightarrow 1\ \text{bottiglia}$$

Attenzione al fatto che in questo caso si considera LOEC come riferimento di non effetto per la specie. Vi ricordo che LOEC dipende dalla scala di diluizione applicata per condurre il saggio ecotossicologico. Potrebbe, in alcuni casi, quindi essere comunque associata ad un effetto biologico anche elevato (es. 10-20%). Si ricorda, quindi, che proprio per questo è più realistico usare i valori di EC_{10} che sono indipendenti dalla batteria di diluizioni utilizzata. Il dato EC_x è un dato oggettivo e indipendente dalle decisioni sperimentali adottate durante l'esecuzione del saggio che, invece, influenzano NOEC e LOEC.

8. Nello stesso sistema descritto al punto 7, è dispersa atrazina sul terreno circostante.

La molecola ha le seguenti caratteristiche:

- $K_{ow} = 350$
- $\text{Log}K_{ow} = 2,63$
- Solubilità in acqua (25°C) = 30 mg/L
- Tensione di vapore (25°C) = $4 \cdot 10^{-5}$ Pa
- $\text{Log}KOC = 2,0$
- Costante di Henry = $2,89 \cdot 10^{-4}$
- PM = 215,68 g/mol

Considerato che nel sistema sono dispersi 500 mL della molecola in acqua, calcolare all'equilibrio i quantitativi presenti nelle matrici ambientali acqua, aria, sedimento e biota. Considerando che l' EC_{50} per *Pseudokirchneriella subcapitata* a 96h è di $3,8 \cdot 10^{-2}$ mg/L e il NOEC è $7,5 \cdot 10^{-2}$, calcolare se all'equilibrio, nel sistema chiuso, esiste il rischio ecotossicologico per il fitoplancton.

Quanti ricambi di acqua completi devono essere effettuati per eliminare completamente la presenza della molecola da tutte le matrici? Considerando un flusso di ingresso e uscita dal sistema di $0,5 \text{ m}^3/\text{h}$, quanto tempo è necessario per tutti i ricambi?

SOLUZIONE

I dati forniti sono estratti da una scheda tecnica circolante in rete.

ATTENZIONE a verificare i dati delle schede tecniche. Infatti, l'atrazina è una molecola solubile in acqua e, pertanto, non può ripartire preferibilmente in ottanolo come sarebbe derivato dal K_{ow} riportato dalla scheda tecnica. Il dato di K_{ow} fornito dalla scheda tecnica è errato.

$\text{Log}K_{ow} = 2,63$ significa un K_{ow} pari a 0,42 che è il dato dal quale dovete partire.

$K_{OW} = \frac{[Atrazina]_{Ottanolo}}{[Atrazina]_{acqua}} \rightarrow$ il risultato mi dice la % di atrazina che, all'equilibrio, si troverà in acqua.

$0,42 = \frac{100-x}{x} = 70,42\%$ di atrazina che si trasferirà in acqua, ovvero 352,1 mL.

In ottanolo è presente il 29,58 % di atrazina.

Per sapere la ripartizione in aria è necessario calcolare il K_{OA} , che è dato dal rapporto di K_{ow} su K_{AW} ; dobbiamo quindi calcolare prima il K_{AW} .

$$K_{AW} = \frac{H}{R \cdot T} = \frac{0,0289 \frac{Pa \cdot m^3}{mol}}{8,314 \frac{Pa \cdot m^3}{mol \cdot K} \cdot 298,15 K} = 0,000012$$

$$K_{OA} = \frac{K_{ow}}{K_{AW}} = \frac{0,42}{0,000012} = 35000$$

K_{OA} è anche uguale al rapporto tra la concentrazione dell'atrazina in ottanolo e quella in aria.

$$K_{OA} = \frac{C_O}{C_A} \rightarrow C_A = \frac{C_A}{K_{OA}} = \frac{29,58}{35000} = 0,00085\%$$

Questa è la % di atrazina ripartita in aria.

SUOLO: Per effettuare il calcolo nel suolo la formula di riferimento è $S=K_p \cdot C$. Manca il K_p ; questo sarebbe uguale a $K_{oc} \cdot F_{oc}$, ma la scheda non fornisce il F_{oc} . La ripartizione nel suolo non è calcolabile perché manca un dato.

BIOTA: L'attesa nel biota è: 100% - 70,42% acqua - 0.00085% aria - x% suolo. Mancando i dati specifici di ripartizione nel biota e la ripartizione nel suolo, anche in questo caso non è calcolabile. Si può effettuare una stima di massima per differenza tra la ripartizione sommativa degli altri compartimenti e quello incognito. Tra biota e suolo la percentuale complessiva di sostanza ripartita è stimata pari a 29,579%.

Riguarda il rischio ecotossicologico in *P. subcapitata*.

Sistema = 5600 m³

Atrazina nel comparto acqua = 352,1 mL

Voglio conoscere la concentrazione della atrazina in questo sistema; imposto la seguente proporzione:

$352,1 \text{ mL} : 5.600.000 \text{ L} = x \text{ mL} : 1 \text{ L}$

$x = 0,000063 \text{ mL}$

Concentrazione di atrazina = 0,000063 mL/L

Voglio convertire il valore in mg per poterlo confrontare con il NOEC e l'EC₅₀ forniti. Per fare ciò è necessaria la densità (NB: non era stato fornito tale valore, ma si può ricavare facilmente dalla letteratura).

Densità = 1.19 g/cm³ = 1.19 g/mL

Impostiamo quindi la seguente proporzione servendoci della densità:

$1.19 \text{ g} : 1 \text{ mL} = x \text{ g} : 0.000063 \text{ mL}$

$x \text{ g} = 0.0000749 \text{ g} = 0.0749 \text{ mg}$

Quindi la concentrazione di atrazina nel sistema è di 0.0749 mg/L → superiore al NOEC e lievemente inferiore all'EC₅₀ fornito → sussiste il rischio ecotossicologico in quanto si supera il NOEC e il valore è prossimo alla concentrazione EC₅₀.

Per quanto riguarda l'ultimo quesito.

Conosciamo il flusso di acqua in ingresso e in uscita e il volume totale del sistema; impostiamo quindi la seguente proporzione per sapere quante ore sono necessarie affinché tutta l'acqua del sistema venga sostituita:

$0,5 \text{ m}^3 : 1 \text{ h} = 5600 \text{ m}^3 : x \text{ h}$

$x = 11.200 \text{ h}$ per sostituire tutta l'acqua del comparto.

ATTENZIONE: Questo non significa avere eliminato l'atrazina dal sistema completamente in quanto una parte dell'atrazina presente negli altri compartimenti tornerà nel comparto acqua in concentrazione variabile e non definibile con le informazioni di contesto disponibili in questo esempio. Il numero di ricambi per l'eliminazione completa da tutti i compartimenti dell'ambiente non è stimabile.

ATTENZIONE: i dati di coefficiente di ripartizione che trovate in letteratura possono essere diversi e quindi in relazione al coefficiente considerato la ripartizione nei compartimenti stimata può dare valori diversi da quelli forniti dalle schede. L'uso di modelli matematici permette di tenere in considerazione più variabili di quelle che sono prese in esame in questo esercizio e di avere un quadro più realistico della distribuzione in ambiente. Comunque, effettuare il calcolo semplificato vi può dare una linea guida generale del quadro ambientale.