



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ, ΕΡΕΥΝΑΣ
& ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΓΕΝΙΚΗ ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΡΕΥΝΑΣ
ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ»
Τ. Θ. 60037 | 153 10 ΑΓΙΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ | ΤΗΛ.: 210 650 3000 • FAX: 210 653 2649 | www.demokritos.gr

ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΝΑΝΟΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

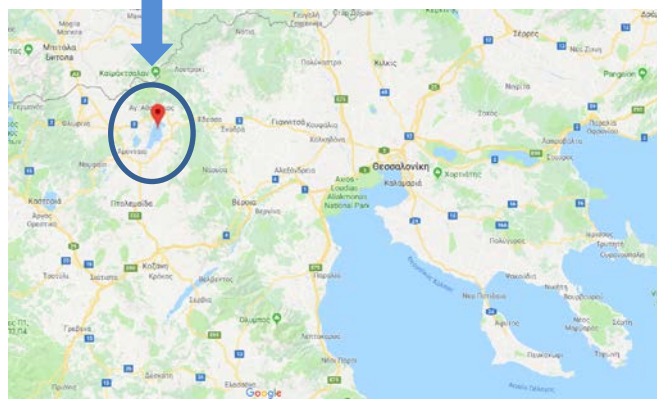
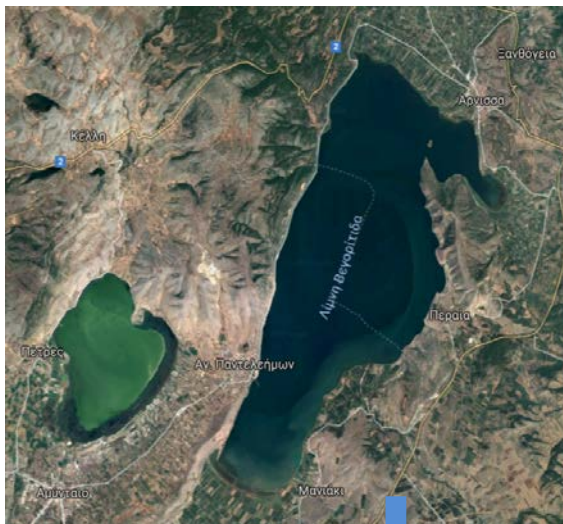
Δρ Αναστασία Χισκιά

Διευθύντρια Ερευνών

Τηλ.: 2106503643, 2106503633 Fax: 2106511766 a.hiskia@inn.demokritos.gr

ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΜΕ ΤΑ ΜΕΧΡΙ ΤΩΡΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΚΥΑΝΟΤΟΞΙΝΩΝ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΝΕΡΟΥ ΑΠΟ ΤΗ ΛΙΜΝΗ ΒΕΓΟΡΙΤΙΔΑ



ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΜΕ ΤΑ ΜΕΧΡΙ ΤΩΡΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΚΥΑΝΟΤΟΞΙΝΩΝ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΝΕΡΟΥ
ΑΠΟ ΤΗ ΛΙΜΝΗ ΒΕΓΟΡΙΤΙΔΑ

Αγ. Παρασκευή, 05/10/2018

Η παρούσα προκαταρκτική έκθεση συντάσσεται στο πλαίσιο της Σύμβασης Παροχής Εξειδικευμένων Ερευνητικών Υπηρεσιών μεταξύ της Αποκεντρωμένης Διοίκησης Ηπείρου – Δυτικής Μακεδονίας και του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ» (ΕΚΕΦΕ «Δ») με ημερομηνία 31/08/2018.

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΤΟΥ ΕΡΓΟΥ

Αντικείμενο του παρόντος έργου αποτελεί ο προσδιορισμός των παρακάτω κυανοτοξινών σε 10 δείγματα νερού και 2 δείγματα ζωικών ιστών:

- Μικροκυστίνες: ([D-Asp³]MC-RR, MC-RR, MC-YR, MC-HtyR, [D-Asp³]MC-LR, MC-LR, MC-HiLR, MC-WR, MC-LA, MC-LY, MC-LW και MC-LF)
- Ανατοξίνη (Anatoxin-a)
- Κυλινδροσπερμοψίνη (CYN)

2. ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΑΡΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ

Πρόσφατα εμφανίστηκε φαινόμενο δυσχρωματισμού στη Λίμνη Βεγορίτιδα δημιουργώντας την ανάγκη περαιτέρω εξειδίκευσης της διερεύνησής του, προκειμένου να αυξηθεί ο βαθμός βεβαιότητας για την ενδεχόμενη λήψη επιπρόσθετων διαχειριστικών μέτρων του άρθρου 8 της ΚΥΑ 8600/416/Ε103/09 (ΦΕΚ 356/Β/2009) «Ποιότητα και μέτρα διαχείρισης των υδάτων κολύμβησης» όπως ισχύει, εκμεταλλεόμενοι της πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της περιβαλλοντικής αναλυτικής χημείας.

Με την ανάπτυξη σύγχρονων αναλυτικών μεθόδων είναι δυνατός ο ακριβής και αξιόπιστος προσδιορισμός ενός πλήθους χημικών ενώσεων ακόμα και σε ιχνοποσότητες σε περιβαλλοντικά δείγματα. Στις ενώσεις αυτές περιλαμβάνονται αναδεδόμενοι ρύποι ανθρωπογενούς ή βιογενούς προέλευσης, που δεν συμπεριλαμβάνονται στα ήδη υπάρχοντα προγράμματα παρακολούθησης ρύπανσης και έχουν τη δυνατότητα να εισέρχονται στο περιβάλλον επηρεάζοντας αρνητικά τα οικοσυστήματα καθώς και τον ανθρώπινο οργανισμό. Ανάμεσα στους σημαντικότερους αναδεδόμενους ρύπους βιογενούς προέλευσης συγκαταλέγονται οι τοξικοί δευτερογενείς μεταβολίτες των κυανοβακτηρίων που ονομάζονται κυανοτοξίνες.

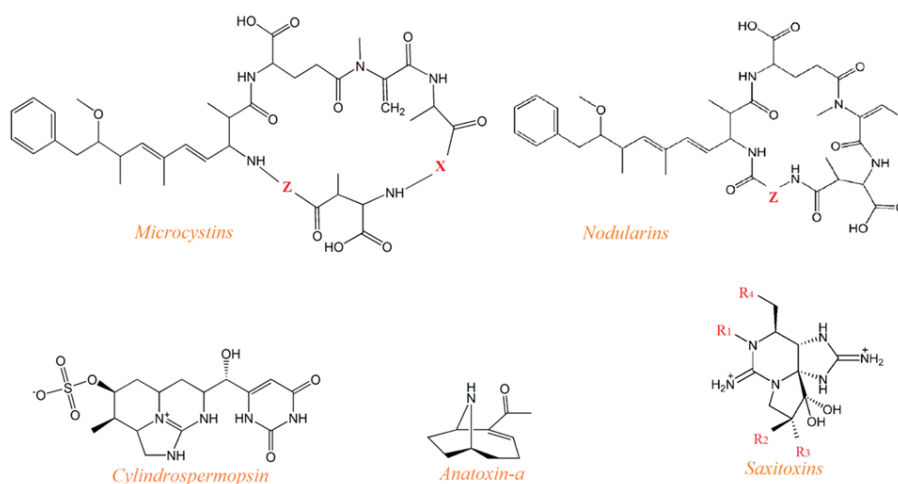
Το ΕΚΕΦΕ «Δ» διαθέτει το Εργαστήριο Περιβαλλοντικών Αναλύσεων που εντάσσεται στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας, όπου επιπλέον των ερευνητικών δραστηριοτήτων του, παρέχει και εξειδικευμένες ερευνητικές υπηρεσίες που σχετίζονται με τη ανάπτυξη και εφαρμογή προηγμένων αναλυτικών μεθόδων για τον προσδιορισμό οργανικών ρύπων συμπεριλαμβανομένων των κυανοτοξινών, σε ίχνη, σε τρόφιμα, νερά και περιβαλλοντικά δείγματα. Διαθέτει επίσης, εξειδικευμένη τεχνική υποδομή, τεχνογνωσία και προσωπικό για την υλοποίηση του αντικειμένου της παρόντος έργου.

3. ΚΥΑΝΟΤΟΞΙΝΕΣ

3.1 Εισαγωγή

Τα κυανοβακτήρια, είναι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί, ευρέως διαδεδομένοι στη βιόσφαιρα και σε όλα τα χερσαία και υδατικά περιβάλλοντα. Εμφανίζουν υψηλή προσαρμοστικότητα και μπορούν να αναπτυχθούν σε γλυκό, υφάλμυρο και αλμυρό νερό, σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών και θρεπτικών συστατικών. Σε υδατικά συστήματα, τα περισσότερα είδη κυανοβακτηρίων εμφανίζονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ωστόσο, υπό ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες, τα κυανοβακτήρια μπορεί να πολλαπλασιαστούν ταχύτατα, προκαλώντας επεισόδια έντονης ανάπτυξης, γνωστά στη βιβλιογραφία ως *Cyanobacteria Harmful Algal Blooms* (Cyanobacteria Harmful Algal Blooms). Η υπερθέρμανση του πλανήτη, ο ευτροφισμός των υδάτινων συστημάτων και η ρύπανση των υδάτων θα μπορούσαν να είναι υπεύθυνα για την αύξηση της συχνότητας και της έντασης των κυανοβακτηριακών ανθίσεων. Τα κυανοβακτήρια είναι σε θέση να παράγουν ένα ευρύ φάσμα **δευτερογενών μεταβολιτών** καθώς και ισχυρών τοξινών, που ονομάζονται **κυανοτοξίνες**, μια σημαντική απειλή για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον.

Τα Cyanobacteria μπορεί να είναι ιδιαίτερα επιβλαβή και χαρακτηρίζονται από την παραγωγή ενός μεγάλου αριθμού κυανοτοξινών οι οποίες κατατάσσονται σε διαφορετικές χημικές κατηγορίες, με κυριότερες τα *πεπτίδια*, τα *αλκαλοειδή* και τα *αμινοξέα*, και παρουσιάζουν διαφορετική τοξική δράση: υπατοτοξικές, νευροτοξικές, κυτταροτοξικές και δερματοτοξικές.



Δομές κυανοτοξινών

Οι μικροκυστίνες (Microcystins, MCs) και οι Νοντουλαρίνες (Nodularins, NODs) είναι κυκλικά πεπτίδια και περιέχουν το ασυνήθιστο μη πρωτεϊνικό β-αμινοξύ Adda που είναι υπεύθυνο για την ηπατοτοξικότητά τους. Οι μικροκυστίνες είναι από τις πιο διαδεδομένες κυανοτοξίνες και μέχρι σήμερα έχουν χαρακτηριστεί 248 ομοειδείς ενώσεις μικροκυστινών. Αναγνωρίζοντας τον κίνδυνο που αποτελούν οι μικροκυστίνες για την ανθρώπινη υγεία, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization, WHO) θέσπισε ως ανώτατο επιτρεπτό όριο το 1 µg/L για την MC-LR στο πόσιμο νερό.

Το αλκαλοειδές Ανατοξίνη-α (ANA), είναι μια δικυκλική δευτεροταγής αμίνη με οξεία νευροτοξικότητα. Αρχικά την αποκαλούσαν *very fast death factor* (VFDF) διότι προκαλούσε ταχύτατο θάνατο στα ζώα. Λόγω

της μεγάλης υδατοδιαλυτότητάς της μπορεί να μεταφερθεί εύκολα μέσω των υδάτινων φορέων και να καταλήξει στο νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση.

Η κυλινδροσπερμοψίνη (cylindrospermopsin, CYN) είναι κυκλικό αλκαλοειδές της γουανιδίνης, έχει κυρίως ηπατοτοξική δράση και είναι εξαιρετικά υδατοδιαλυτή, όπως και η ανατοξίνη-α. Παρόλο που είναι μια κυανοτοξίνη που υπάρχει σε τροπικά κλίματα, τα τελευταία χρόνια έχει ανιχνευτεί σε επιφανειακά νερά πολλών χωρών με διαφορετικό κλίμα όπως Γαλλία, Γερμανία, Πολωνία, Φινλανδία, Ιταλία και Τουρκία. Η επέκτασή της σε άλλες περιοχές έχει συνδεθεί με την κλιματική αλλαγή και τις αυξημένες ανθρωπογενείς δραστηριότητες.

Το β-N-methylamino-L-alanine (BMAA) είναι ένα νευροτοξικό διαμινοξύ που παράγεται από πολλά κυανοβακτηριακά γένη. Εκτός από την νευροτοξική του δράση έχει συσχετισθεί και με την πρόκληση νευροεκφυλιστικών παθήσεων, όπως η Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση (ALS) και η Νόσος Alzheimer's. Ο προσδιορισμός του BMAA αποτελεί σημαντική πρόκληση λόγω του μικρού μοριακού του βάρους, της υδατοδιαλυτότητάς του καθώς και της παρουσίας ισομερών ενώσεων όπως το αμινοξύ 2,4-diaminobutyric acid (2,4-DAB).

Οι άνθρωποι εκτίθενται σε κίνδυνο λόγω της παρουσίας των κυανοτοξινών στο νερό μέσω δερματικής επαφής, εισπνοής αερολυμάτων, κατάποσης ποσότητας νερού κατά την κολύμβηση καθώς και μέσω της κατανάλωσης πόσιμου νερού και τροφίμων όπως ψάρια κ.α. Επίσης, οι κυανοτοξίνες είναι δυνατό να διεισδύσουν στην τροφική αλυσίδα και να επηρεάσουν εμμέσως ένα μεγάλο μέρος των οργανισμών ενός υδατικού συστήματος, μέσω της βιοσυσσώρευσης και βιομεγέθυνσης σε ψάρια και άλλους οργανισμούς.

Στην Ελλάδα έχει αναφερθεί η ανίχνευση κυανοτοξινών, κυρίως από την ομάδα των μικροκυστινών σε δείγματα επιφανειακού νερού, ενώ έχει καταγραφεί η παρουσία τους και σε δείγματα ιστών ψαριών από διάφορες λίμνες της Ελλάδας. Ωστόσο, περιορισμένος αριθμός μελετών παρέχει αυξημένη αξιοπιστία σχετικά με την παρουσία κυανοτοξινών σε επιφανειακά νερά της Ελλάδας, καθώς η μεθοδολογία που εφαρμόστηκε για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό τους βασίζεται σε μη ειδικές και αξιόπιστες αναλυτικές τεχνικές. Ειδικότερα, στις περισσότερες μελέτες έχουν εφαρμοστεί τεχνικές ενζυμικών ανοσοπροσοφητικών προσδιορισμών (ELISA) που δεν παρέχουν την δυνατότητα ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης της κάθε κυανοτοξίνης ξεχωριστά, τα αποτελέσματα επηρεάζονται σημαντικά από τις επιδράσεις μήτρας (matrix effects) και μπορεί να δώσουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα αυξάνοντας την αβεβαιότητα των προσδιορισμών.

Από μελέτες του Εργαστηρίου Περιβαλλοντικών Αναλύσεων του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», έχει επιβεβαιωθεί η παρουσία κυανοτοξινών που ανήκουν σε διαφορετικές ομάδες, σε επιφανειακά νερά από πολλές περιοχές της Ελλάδας. Το Εργαστήριο έχει ασχοληθεί συστηματικά με την ανάπτυξη και επικύρωση αναλυτικών μεθόδων για τον αξιόπιστο προσδιορισμό διαφορετικών κατηγοριών κυανοτοξινών (μικροκυστίνες, κυλινδροσπερμοψίνη, ανατοξίνη-α, νοντουλαρίνη, σαξιτοξίνες, BMAA, DAB) σε περιβαλλοντικά δείγματα νερού, βιομάζας και ζωικών ιστών. Είναι το μοναδικό Εργαστήριο στην Ελλάδα κι ένα από τα ελάχιστα στην Ευρώπη που διαθέτει διαπίστευση (ΕΣΥΔ) σύμφωνα με το πρότυπο ISO 17025 για τον προσδιορισμό κυανοτοξινών. Ο προσδιορισμός των κυανοτοξινών αποτελεί μια περίπλοκη διαδικασία, καθώς συμπεριλαμβάνει χημικές ουσίες με σημαντικές διαφορές στη δομή και τις φυσικοχημικές ιδιότητες, οι οποίες συναντώνται σε ιδιαίτερα χαμηλές συγκεντρώσεις στα περιβαλλοντικά δείγματα. Οι μέθοδοι βασίζονται στην τεχνική υγροχρωματογραφίας υψηλής απόδοσης συζευγμένης με φασματομετρία μαζών τεχνολογίας τριπλού τετραπόλου (LC-MS/MS), η οποία παρέχει την δυνατότητα για ταυτόχρονη ταυτοποίηση και ποσοτικό προσδιορισμό των κυανοτοξινών. Η τεχνική αυτή είναι εκλεκτική και ειδική καθώς επιτρέπει την αξιόπιστη ανίχνευση των κυανοτοξινών που βασίζεται στο χαρακτηριστικό φάσμα μαζών της κάθε μίας από τις προσδιοριζόμενες ενώσεις.

Επίσης, τα μέλη του Εργαστηρίου Περιβαλλοντικών Αναλύσεων του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» έχουν συνεισφέρει σημαντικά στην ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων προσδιορισμού κυανοτοξινών σε

περιβαλλοντικά δείγματα, κάτι που αποτυπώθηκε σε μία σειρά από τυποποιημένες διαδικασίες λειτουργίας (Standard Operating Procedures-SOPs) που εκδόθηκαν στο Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis, Edited by J. Meriluoto, L. Spooft and G. A. Codd, 2017, pp. 196-201, John Wiley & Sons. ISBN: 978-1-119-06868-6, (<http://eu.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-1119068681.html>).

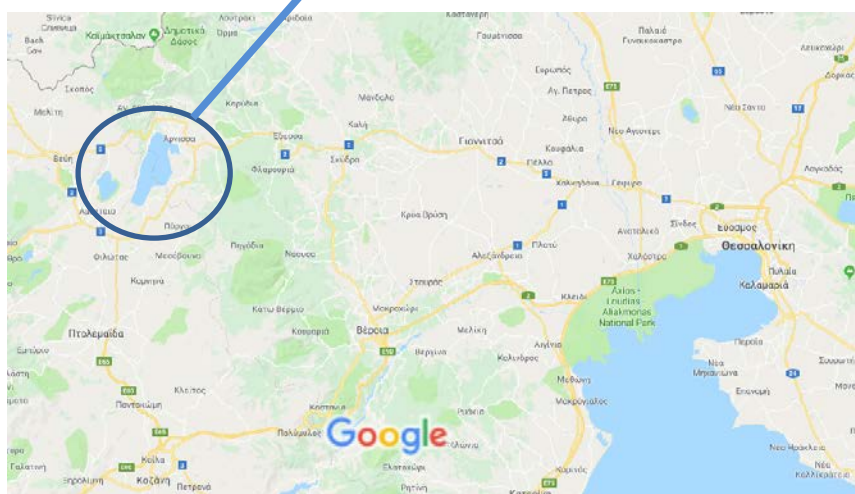
4. ΜΕΘΟΔΟΣ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ ΕΡΓΟΥ

4.1 Συχνότητα και χωροθέτηση δειγματοληψιών

Τα δείγματα ελήφθησαν από το προσωπικό του Ελληνικού Κέντρου Βιοτόπων – Υγροτόπων ανά 20 ημέρες περίπου, από δύο (2) σημεία δειγματοληψίας της λίμνης Βεγορίτιδας. Οι συντεταγμένες των σημείων δειγματοληψίας σε ΕΓΣΑ '87 είναι οι εξής:

Θ1: Θέση 1 – Κολυμβητική ακτή: Χ=310087, Υ=4510357

Θ2: Θέση 2 – Προβλήτα: Χ=309985, Υ=4509823



Χάρτης και θέσεις δειγματοληψίας της λίμνης Βεγορίτιδας

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο πλαίσιο της παρούσας σύμβασης προσδιορίστηκαν οι ακόλουθες κυανοτοξίνες:

Microcystins ([D-Asp³]MC-RR, MC-RR, MC-YR, MC-HtyR, [D-Asp³]MC- LR, MC-LR, MC-HilR, MC-WR, MC-LA, MC-LY, MC-LW, MC-LF), Cylindrospermopsin (CYN) και Anatoxin-a (ANA-a).

Αναλύθηκαν μέχρι τώρα 10 δείγματα νερού. Σε κάθε δείγμα προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των διαλυμένων στο νερό κυανοτοξινών (εξωκυττάριας κυανοτοξίνες) και των κυανοτοξινών που βρίσκονται μέσα στα κύτταρα των κυανοβακτηρίων του δείγματος, δηλαδή στην αιωρούμενη βιομάζα (ενδοκυττάριας κυανοτοξίνες). Η ταυτοποίηση και ο ποσοτικός προσδιορισμός των κυανοτοξινών έγιναν με χρήση υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με συζευγμένη φασματομετρία μαζών (LC-MS/MS). Η τεχνική αυτή προσδίδει αυξημένη βεβαιότητα στα αποτελέσματα δεδομένου ότι βασίζεται στις χαρακτηριστικές μεταπτώσεις στα φάσματα μαζών της κάθε μιας από τις προσδιοριζόμενες ουσίες σε αντίθεση με άλλες τεχνικές όπως π.χ. ανοσοενζυμικές (ELISA) οι οποίες δεν έχουν τη δυνατότητα ταυτοποίησης και ακριβούς ποσοτικού προσδιορισμού των κυανοτοξινών, έχουν μεγάλη αβεβαιότητα και συχνά εμφανίζουν σημαντικά θετικά σφάλματα.

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός της κυανοτοξίνης Νοντουλαρίνης, NOD.

Στον Πίνακα 1 παρατίθενται τα αναλυτικά αποτελέσματα του προσδιορισμού των εξωκυττάριας κυανοτοξινών, στον Πίνακα 2 τα αναλυτικά αποτελέσματα του προσδιορισμού των ενδοκυττάριας κυανοτοξινών και στον Πίνακα 3 το σύνολο των μικροκυστινών στα δείγματα νερού.

Στον Πίνακα 4, ενδεικτικά παρατίθενται τα όρια κυανοτοξινών που ισχύουν σε διάφορες χώρες για την χρήση επιφανειακών νερών για κολύμβηση και αναψυχή καθώς και οι προτεινόμενες δράσεις σε περίπτωση υπέρβασής τους.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΩΝ ΚΥΑΝΟΤΟΞΙΝΩΝ (µg/L)

A/A	Σημείο δειγμ.	Ημερομηνία δειγμ.	CYN	ANA-a	[D-Asp ³] MC-RR	MC-RR	NOD	MC-YR	MC-HtyR	[D-Asp ³] MC-LR	MC-LR	MC-HiIR	MC-WR	MC-LA	MC-LY	MC-LW	MC-LF
1	Θέση 1	31/07/2018	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
2	Θέση 2	31/07/2018	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
3	Θέση 1	06/08/2018	M.A.	M.A.	M.A.	0,023	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	0,021	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
4	Θέση 2	06/08/2018	M.A.	M.A.	M.A.	0,017	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	0,013	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
5	Θέση 1	21/08/2018	M.A.	M.A.	M.A.	0,020	M.A.	0,014	M.A.	M.A.	0,028	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
6	Θέση 2	21/08/2018	M.A.	M.A.	M.A.	0,023	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	0,029	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
7	Θέση 1	05/09/2018	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
8	Θέση 2	05/09/2018	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
9	Θέση 1	24/09/2018	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
10	Θέση 2	24/09/2018	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.

- ♦ Όταν το αποτέλεσμα είναι κατώτερο του ορίου ανίχνευσης (LOD), αναφέρεται ως “M.A.” (Μη Ανιχνεύσιμο).
- ♦ Όταν το αποτέλεσμα είναι ανώτερο του ορίου ανίχνευσης (LOD) και κατώτερο του ορίου ποσοτικοποίησης (LOQ, όπου LOQ = 3 x LOD), αναφέρεται ως “<LOQ”.

ΥΠΟΜΝΗΜΑ : Όρια ανίχνευσης εξωκυττάρων κυανοτοξινών																
	CYN	ANA-a	[D-Asp ³] MC-RR	MC-RR	NOD	MC-YR	MC-HtyR	[D-Asp ³] MC-LR	MC-LR	MC-HiIR	MC-WR	MC-LA	MC-LY	MC-LW	MC-LF	
LOD (µg/L)	0,001	0,001	0,002	0,001	0,002	0,004	0,007	0,004	0,004	0,006	0,006	0,003	0,006	0,004	0,005	

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΩΝ ΚΥΑΝΟΤΟΞΙΝΩΝ (μg/L)

A/A	Σημείο δειγμ.	Ημερομηνία δειγμ.	CYN	ANA-a	[D-Asp ³] MC-RR	MC-RR	NOD	MC-YR	MC-HtyR	[D-Asp ³] MC-LR	MC-LR	MC-HilR	MC-WR	MC-LA	MC-LY	MC-LW	MC-LF
1	Θέση 1	31/07/2018	M.A.	M.A.	0,003	0,074	M.A.	0,026	M.A.	<LOQ	0,043	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
2	Θέση 2	31/07/2018	M.A.	M.A.	<LOQ	0,047	M.A.	0,015	M.A.	M.A.	0,020	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
3	Θέση 1	06/08/2018	M.A.	M.A.	M.A.	0,026	M.A.	0,020	M.A.	<LOQ	0,017	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
4	Θέση 2	06/08/2018	M.A.	M.A.	<LOQ	0,033	M.A.	0,023	M.A.	M.A.	0,025	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
5	Θέση 1	21/08/2018	M.A.	M.A.	M.A.	0,009	M.A.	<LOQ	M.A.	<LOQ	0,028	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
6	Θέση 2	21/08/2018	M.A.	M.A.	M.A.	0,005	M.A.	0,007	M.A.	M.A.	0,006	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
7	Θέση 1	05/09/2018	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	0,005	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
8	Θέση 2	05/09/2018	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	0,003	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
9	Θέση 1	24/09/2018	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	<LOQ	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.
10	Θέση 2	24/09/2018	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.	M.A.

♦ “M.A.” (Μη Ανιχνεύσιμο).

♦ Τα όρια ανίχνευσης των ενδοκυττάρων κυανοτοξινών ανά μονάδα όγκου δείγματος νερού εξαρτώνται από την ποσότητα των κυττάρων που βρίσκονται στο δείγμα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. ΣΥΝΟΛΟ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΝΩΝ ΣΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΝΕΡΟΥ

A/A	Σημείο δειγματοληψίας	Ημερομηνία Δειγματοληψίας	Σύνολο * Εξωκυττάρων (μg/L)	Σύνολο * Ενδοκυττάρων (μg/L)	Σύνολο Μικροκυστινών στο δείγμα νερού (μg/L)
1	Θέση 1	31/07/2018	MCs: 0,003	MCs: 0,147	MCs: 0,150
2	Θέση 2	31/07/2018	MCs: 0,002	MCs: 0,083	MCs: 0,085
3	Θέση 1	06/08/2018	MCs: 0,044	MCs: 0,065	MCs: 0,109
4	Θέση 2	06/08/2018	MCs: 0,034	MCs: 0,084	MCs: 0,118
5	Θέση 1	21/08/2018	MCs: 0,062	MCs: 0,040	MCs: 0,102
6	Θέση 2	21/08/2018	MCs: 0,061	MCs: 0,018	MCs: 0,079
7	Θέση 1	05/09/2018	MCs: 0,007	MCs: 0,006	MCs: 0,013
8	Θέση 2	05/09/2018	MCs: 0,004	MCs: 0,004	MCs: 0,008
9	Θέση 1	24/09/2018	MCs: 0,001	MCs: 0,002	MCs: 0,003
10	Θέση 2	24/09/2018	MCs: 0,001	M.A.	MCs: 0,001

MCs: Microcystins, M.A.: Μη ανιχνεύσιμες

* Προκύπτει από το άθροισμα των συγκεντρώσεων των επιμέρους μικροκυστινών (MCs) για συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από το όριο ανίχνευσης (LOD).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4*. Όρια κυανοτοξινών που ισχύουν σε διάφορες χώρες για την χρήση επιφανειακών νερών για κολύμβηση και αναψυχή καθώς και οι προτεινόμενες δράσεις σε περίπτωση υπέρβασής τους

Χώρα	Όριο συγκέντρωσης κυανοτοξινών	Δράσεις - Παρατηρήσεις	Αναφορά
Γαλλία	25 µg/L ισοδύναμα MC-LR ± 5%	Όταν η συγκέντρωση των MCs <25 µg/L η κολύμβηση και οι δραστηριότητες στο νερό περιορίζονται. Όταν η συγκέντρωση των MCs >25 µg/L η κολύμβηση απαγορεύεται και οι δραστηριότητες στο νερό περιορίζονται. Σε κάθε περίπτωση ενημερώνεται το κοινό	Arnich (2012)
	Παρουσία κυανοβακτηριακής βιομάζας (scum or foam) σε κολυμβητική περιοχή ή στην περιοχή των δραστηριοτήτων	Απαγορεύονται όλες οι δραστηριότητες στην περιοχή με την κυανοβακτηριακή βιομάζα. Οι περιορισμοί μπορεί να μην αφορούν όλη την περιοχή που προορίζεται για αναψυχή και περιοχές χωρίς κυανοβακτηριακή άνθιση μπορεί να παραμένουν ανοικτές	
Ολλανδία	Μικροκυστίνες <20 µg/L	<u>Επίπεδο συναγερμού 1</u> : εντατική παρακολούθηση και τοποθέτηση προειδοποιητικών πινακίδων με την σήμανση «Τοξικά κυανοβακτήρια. Κίνδυνος ερεθισμού του δέρματος ή εντερικών προβλημάτων»	Ibelings et al. (2012) & Ibelings et al. (2015)
	Μικροκυστίνες >20 µg/L	<u>Επίπεδο συναγερμού 2</u> : Εβδομαδιαία παρακολούθηση. Συμβουλές από τις τοπικές αρχές για αποτροπή της κολύμβησης.	

Αυστραλία	Άθροισμα μικροκυστινών ≥ 10 $\mu\text{g/L}$	Επίπεδο δράσης (εκτίμηση τοξικότητας ή ανάλυση κυανοτοξινών, προειδοποιήσεις σχετικά με τον κίνδυνο για την δημόσια υγεία)	Mulvenna and Orr (2012)
Νέα Ζηλανδία	Άθροισμα μικροκυστινών ≥ 12 $\mu\text{g/L}$	Δράση: συστηματική παρακολούθηση για την παρουσία δυνητικά τοξικών κυανοβακτηρίων και προτείνεται η ανάλυση δειγμάτων για την παρουσία κυανοτοξινών, προειδοποιήσεις για πιθανό κίνδυνο για την δημόσια υγεία	Wood and Williamson (2012), & Ibelings et al. (2015)
Τουρκία	< 10 $\mu\text{g/L}$ ισοδύναμα Microcystin-LR	<u>Επίπεδο 1</u> : Επιτρέπονται οι δραστηριότητες στο νερό. Συστηματική παρακολούθηση (monitoring) πρέπει να γίνεται ανά 14 ημέρες	Akcaalan et al. (2012) & Ibelings et al. (2015)
	> 25 $\mu\text{g/L}$ ισοδύναμα Microcystin-LR	<u>Επίπεδο 2</u> : Τοποθέτηση συμβουλευτικών πινακίδων για τον κίνδυνο. Συμβουλές για αποτροπή της κολύμβησης και των άλλων δραστηριοτήτων στο νερό.	
	Κυανοβακτηριακή βιομάζα (scum) στην κολυμβητική περιοχή	<u>Επίπεδο 3</u> : Μπορούν να απαγορευτούν όλες οι δραστηριότητες στο νερό	
Ιταλία	Ισοδύναμα MC-LR < 20 $\mu\text{g/L}$	<u>Συναγερμός</u> : 1) Εβδομαδιαία δειγματοληψία, 2) Οπτική επιθεώρηση ανά δυο ημέρες, 3) Εκτίμηση της έκτασης της κυανοβακτηριακής άνθισης και των παράκτιων περιοχών που επηρεάστηκαν, 4) Ταυτοποίηση των κυανοβακτηριακών ειδών, ποσοτικοποίηση των μικροκυστινών και ταυτοποίηση άλλων κυανοτοξινών	Funari et al (2017)

	Ισοδύναμα MC-LR > 20 µg/L	Έκτακτη ανάγκη: Επιπλέον των δράσεων της κατάστασης συναγερμού, ποσοτικοποίηση και άλλων κυανοτοξινών και επίβλεψη της δημόσιας υγείας	
Ευρωπαϊκή Ένωση	<p>Η οδηγία απαιτεί από τα κράτη μέλη να μεριμνούν ώστε να καταρτίζονται οι ταυτότητες των υδάτων κολύμβησης. Μεταξύ των άλλων παραμέτρων συμπεριλαμβάνει την αξιολόγηση της δυνατότητας ανάπτυξης κυανοβακτηρίων καθώς και αιτιών ρύπανσης που ενδέχεται να επηρεάζουν τα ύδατα κολύμβησης και να βλάπτουν την υγεία των λουομένων. Ειδικότερα αναφέρει:</p> <p>Άρθρο 8: Κίνδυνοι από κυανοβακτήρια</p> <p>1. Όταν, από την ταυτότητα των υδάτων κολύμβησης, συνάγεται η δυνατότητα ανάπτυξης κυανοβακτηρίων, πραγματοποιείται κατάλληλη παρακολούθηση προκειμένου να εντοπίζονται εγκαίρως οι κίνδυνοι για την υγεία.</p> <p>2. Όταν εμφανίζεται ανάπτυξη κυανοβακτηρίων και έχει εντοπισθεί ή τεκμαίρεται κίνδυνος για την υγεία, λαμβάνονται αμέσως κατάλληλα διαχειριστικά μέτρα προκειμένου να προληφθεί η έκθεση, συμπεριλαμβανομένης της ενημέρωσης του κοινού.</p>		Bathing Water Directive (EU BWD) Directive 2006/7/EC
Καναδάς	MC-LR ≤ 20 µg/L	Σε περίπτωση υπέρβασης του ορίου, μπορεί να εκδοθεί συμβουλή για την κολύμβηση από την υπεύθυνη αρχή. Η επαφή με τα νερά πρέπει να αποφεύγεται εκεί όπου έχει εκδοθεί η συμβουλή μέχρι να γίνει ανάκλησή της.	Giddings et al. (2012) & Ibelings et al. (2015)
Γερμανία	Μικροκυστίνες <10 µg/L	Περαιτέρω παρακολούθηση της ανάπτυξης κυανοβακτηρίων	Chorus (2012)

	Μικροκυστίνες > 10 µg/L	Δημοσίευση ειδοποιήσεων, αποτροπή της κολύμβησης και ενδεχομένως προσωρινό κλείσιμο της ακτής.	
	Μικροκυστίνες >100 µg/L	Δημοσίευση ειδοποιήσεων, αποτροπή της κολύμβησης και συνιστάται προσωρινό κλείσιμο της ακτής	
Ουγγαρία	Ισοδύναμα MC-LR < 4 µg/L	Ποιότητα υδάτων: άριστη	Chorus (2012)
	Ισοδύναμα MC-LR < 10 µg/L	Ποιότητα υδάτων: καλή	
	Ισοδύναμα MC-LR < 20 µg/L	Ποιότητα υδάτων: αποδεκτή	
	Ισοδύναμα MC-LR > 20 µg/L	Ποιότητα υδάτων: μη αποδεκτή	
Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO)	Άθροισμα μικροκυστινών < 10 µg/L	χαμηλός κίνδυνος (low risk)	WHO (2003)
	Άθροισμα μικροκυστινών 10-20 µg/L	μέτριος κίνδυνος (moderate risk)	
	Άθροισμα μικροκυστινών > 20 µg/L	υψηλός κίνδυνος (high risk)	
USEPA	<u>Προτεινόμενες τιμές</u> Μικροκυστίνες: 4 µg/L Κυλινδροσπερμοψίνη: 8 µg/L	α) Συμβουλή για την κολύμβηση: να μη γίνεται υπέρβαση του ορίου καμία μέρα β) Κριτήριο για το νερό που χρησιμοποιείται για λόγους αναψυχής: να μη γίνεται υπέρβαση του ορίου για περισσότερο από το 10% των ημερών ανά σεζόν χρήσης κάθε ημερολογιακό έτος.	USEPA (2017)
Oregon, ΗΠΑ	Μικροκυστίνες > 4 µg/L	Έκδοση συμβουλευτικής οδηγίας (advisory)	Oregon Health Authority

	Ανατοξίνη-α >8 µg/L Κυλινδροσπερμοψίνη >8 µg/L Σαξιτοξίνη >4 µg/L	ενημέρωσης του κοινού σχετικά με πιθανούς κινδύνους από την παρουσία κυανοτοξινών.	(2018)
<i>* Στον πίνακα περιλαμβάνονται όρια κυανοτοξινών και δεν παρατίθενται όρια για χλωροφύλη-α, βιοόγκο και αφθονία επικρατέστερων κυανοβακτηρίων</i>			

Βιβλιογραφία

Akçaalan R., Meriç Albay M., Tacettin Kakilloğlu T., Bahçebaşı T. (2012) Turkey: Occurrence of toxic cyanobacteria and guidelines for monitoring cyanotoxins in drinking and recreational waters. *In*: Chorus, I. (Ed.), Current approaches to Cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Federal Environment Agency (Umweltbundesamt). Dessau-Roßlau, Germany pp. 127–129

Arnich, N. (2012) France: Regulation, risk management, risk assessment and research on cyanobacteria and cyanotoxins. *In*: Chorus, I. (Ed.), Current approaches to Cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Federal Environment Agency (Umweltbundesamt). Dessau-Roßlau, Germany pp. 63–70

Bathing Water Directive (EU BWD) (2006) Directive 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC. OJ L 64, 4.3.2006, p. 37–51
<http://data.europa.eu/eli/dir/2006/7/oj>

Chorus I., (2012) Introduction *In*: Chorus, I. (Ed.), Current approaches to Cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Federal Environment Agency (Umweltbundesamt). Dessau-Roßlau, Germany pp. 2-20

Funari E., Manganelli M., Buratti F.M., Testai E. (2017) Cyanobacteria blooms in water: Italian guidelines to assess and manage the risk associated to bathing and recreational activities. *Science of the Total Environment* 598, 867–880,
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.232>

Giddings M., Aranda-Rodriguez R., Yasvinski G., Watson S.B., Zurawell R. (2012) Canada: Cyanobacterial Toxins: Drinking and Recreational Water Quality Guidelines. *In*: Chorus, I. (Ed.), Current Approaches to Cyanotoxin Risk Assessment, Risk Management and Regulations in Different Countries. Federal Environment Agency (Umweltbundesamt), Dessau-Roßlau, Germany pp. 29-39

Ibelings B.W., Stroom J.M., Lórling M.F.L.L.W., Kardinaal W.E.A. (2012) Netherlands: Risks of toxic cyanobacterial blooms in recreational waters and guidelines. *In*: Chorus, I. (Ed.), Current Approaches to Cyanotoxin Risk Assessment, Risk Management and Regulations in Different Countries. Federal Environment Agency (Umweltbundesamt), Dessau-Roßlau, Germany pp. 82–96

Ibelings B.W., Backer L.C., Kardinaal W.E., Chorus I. (2015) Current approaches to cyanotoxin risk assessment and risk management around the globe. *Harmful Algae* 49, 63–74,
<http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2014.10.002>.

Mulvenna V., Orr P.T. (2012) Australia: Guidelines, legislation and management frameworks. *In*: Chorus, I. (Ed.), Current approaches to Cyanotoxin risk assessment, risk management and

regulations in different countries. Federal Environment Agency (Umweltbundesamt). Dessau-Roßlau, Germany pp. 21–28

Oregon Health Authority (2018) Oregon Harmful Algae Bloom Surveillance (HABS) Program - Public Health Advisory Guidelines Harmful Algae Blooms in Freshwater Bodies. Public Health Division, Center for Health Protection, Environmental Public Health Section https://www.oregon.gov/oha/PH/HEALTHYENVIRONMENTS/RECREATION/HARMFULALGAE_BLOOMS/Documents/HABPublicHealthAdvisoryGuidelines.pdf (τελευταία πρόσβαση 9/2018)

USEPA, United States Environmental Protection Agency (2017) Recommendations for Cyanobacteria and Cyanotoxin Monitoring in Recreational Waters. Office of Water, EPA 820-R-17-001

WHO (2003) Guidelines for Safe Recreational Water Environments: Volume 1: Coastal and Fresh Waters. World Health Organization. Geneva, Switzerland.

Wood S., Williamson W. (2012) New Zealand: Regulation and management of cyanobacteria. *In*: Chorus, I. (Ed.), Current approaches to Cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Federal Environment Agency (Umweltbundesamt). Dessau-Roßlau, Germany pp. 97–108

ΕΚΕΦΕ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ»
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΝΑΝΟΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΝΑΝΟΥΛΙΚΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

Δρ Αναστασία Χισκιά
Διευθύντρια Ερευνών