

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ  
ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Βελτίωση διαγνωστικής μεθόδου (Ο.Β.Ι. 20040100346) για την  
αξιολόγηση της τοξικής δράσης των υφαλοχρωμάτων»**

**Μαρία Μίχα**

**ΒΟΛΟΣ 2013**

**UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES  
DEPARTMENT OF ICHTHYOLOGY AND AQUATIC  
ENVIRONMENT**

**POSTGRADUATE MASTER'S THESIS**

**« Improvement of a diagnostic method (O.B.I. 20040100346) for  
evaluating the toxicity of antifouling paints »**

**Maria Micha**

**VOLOS 2013**

**«Βελτίωση διαγνωστικής μεθόδου (Ο.Β.Ι. 20040100346) για την αξιολόγηση της  
τοξικής δράσης των υφαλοχρωμάτων»**

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :**

**1) Ιωάννα Καστρίτση – Καθαρίου**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Εφαρμοσμένη Υδροβιολογία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπουσα**,

**2) Χρήστος Νεοφύτου**, Καθηγητής, Ιχθυολογία - Υδροβιολογία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**,

**3) Νικόλαος Νεοφύτου**, Λέκτορας, Υδατοκαλλιέργειες και περιβάλλον, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**.

*Αφιέρωση*

*Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία*

*αφιερώνεται στον πατέρα μου,*

*Χριστόφορο Μίχα*

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επιβλέπουσα της εργασίας αυτής, Δρ. Ιωάννα Καστρίτση – Καθάριου για την πολύτιμη βοήθειά της και τη διαρκή υποστήριξή της, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος, όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, αποτελούμενη από τους κ. Χρήστο Νεοφύτου και κ. Νικόλαο Νεοφύτου.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους κ. Γεώργιο Αλαμπρίτη και Γεώργιο Οικονόμου για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά τους κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Η συγκεκριμένη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος «Development of a toxkit microbiotest for toxicity evaluation of anti-fouling paints» με φορέα χρηματοδότησης την IWT, Agency of Innovation by Science and Technology.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και κατανόηση καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το φαινόμενο της επίστρωσης βενθικών (φυτικών και ζωικών) οργανισμών σε επιφάνειες οι οποίες ποντίζονται στο θαλάσσιο περιβάλλον παρατηρήθηκε από τον άνθρωπο από την πρώτη επαφή του με τη θάλασσα και έως σήμερα προκαλεί μια σειρά σημαντικών προβλημάτων. Η μόνη πραγματικά αποτελεσματική μέθοδος για την αντιμετώπιση της βιοεπίστρωσης είναι η χρήση υφαλοχρωμάτων. Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας ήταν η χρήση μιας τροποποιημένης μεθόδου που βασίζεται στην έρευνα των Persoone and Castritsi-Catharios (1989), O.B.I. 20040100346 για τη μελέτη της τοξικότητας επτά υφαλοχρωμάτων του εμπορίου, με τη μέθοδο των βαμμένων κυλίνδρων, η μελέτη της επίδρασης ποικίλων παραμέτρων, όπως η θερμοκρασία, η αλατότητα, η κίνηση και οι στρώσεις βαφής στην τοξικότητα και η σύγκριση των αποτελεσμάτων με την τοξικότητα που προκύπτει από τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi-Catharios *et al.* 2007). Από τα υφαλοχρώματα που εξετάστηκαν το Hard racing, Hempel αξιολογήθηκε ως το πιο τοξικό, ενώ κατά σειρά τοξικότητας ακολουθούν τα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's και Micron Extra, International. Η σύγκριση της νέας τροποποιημένης μεθόδου με αυτή των Castritsi-Catharios *et al.* (2007) παρουσίασε αξιοσημείωτες διαφορές, αφού η δεύτερη έδειξε τοξικότητα σε υφαλοχρώματα που με την πρώτη μέθοδο δε θεωρήθηκαν τοξικά. Η επίδραση της θερμοκρασίας, της αλατότητας και της κίνησης φαίνεται πως εξαρτώνται από τη φύση του εκάστοτε υφαλοχρώματος. Τέλος, η διαφορά που παρατηρείται στα αποτελέσματα μονής και διπλής στρώσης υφαλοχρώματος θα πρέπει να διερευνηθεί ώστε να εξακριβωθεί κατά πόσο αυτή οφείλεται στην επιπλέον ποσότητα χρώματος ή στην αύξηση της βαμμένης επιφάνειας.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	11
1.1 Βιοεπίστρωση	11
1.1.1 Διαδικασία βιοεπίστρωσης	11
1.1.2 Κύριοι οργανισμοί βιοεπίστρωσης	13
1.1.3 Επιπτώσεις βιοεπίστρωσης	15
1.1.3.1 Επιπτώσεις βιοεπίστρωσης στη ναυτιλία	15
1.1.3.2 Επιπτώσεις της βιοεπίστρωσης στις υδατοκαλλιέργειες	16
1.1.3.3 Επιπτώσεις της βιοεπίστρωσης στο περιβάλλον	18
1.2 Παρεμπόδιση βιοεπίστρωσης και υφαλοχρώματα	18
1.2.1 Ιστορική αναδρομή παρεμπόδισης βιοεπίστρωσης	19
1.2.2 Κατηγορίες Υφαλοχρωμάτων	21
1.2.3 Αντιρρυπαντικές ενώσεις – ενισχυτικές βιοκτόνες ουσίες	22
1.3. Υδρόβια Οικοτοξικολογία και δείκτες τοξικότητας υφαλοχρωμάτων	25
1.3.1 Υδρόβια Τοξικολογία και μέτρηση τοξικότητας	25
1.3.2 Πειράματα τοξικότητας - Πειραματόζωα	27
1.3.3 Η <i>Artemia</i> ως πειραματόζωο σε ελέγχους τοξικότητας	28
1.3.4 Μέθοδοι μέτρησης – ελέγχου της τοξικότητας	29
1.3.4.1 Έλεγχος τοξικότητας με τη χρήση βαμμένων επιφανειών	29
1.3.4.2 Έλεγχος τοξικότητας χημικών ουσιών (ανόργανων & οργανικών)	31
<b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>	35
2.1 Γενικά	35
2.2 Υλικά	35
2.2.1 Υφαλοχρώματα	35
2.2.2 Εργαστηριακό υλικό	38
2.3 Μέθοδοι	39
2.3.1 Προετοιμασία τεχνητού θαλασσινού νερού (Standard Seawater)	40
2.3.2 Εκκόλαψη κύστεων <i>Artemia franciscana</i>	41
2.3.3 Βαφή των επιφανειών	41
2.3.4 Προσδιορισμός πάχους βαμμένης επιφάνειας	42
2.3.5 Δημιουργία τοξικού διαλύματος	42
2.3.6 Αραίωση του τοξικού διαλύματος	43
2.3.7 Έλεγχος τοξικότητας με ναυπλίους <i>Artemia franciscana</i>	44
2.3.8 Καταγραφή αποτελεσμάτων	45
2.4 Έλεγχος τοξικότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες και αλατότητες	46
2.5 Έλεγχος τοξικότητας σε διπλή στρώση υφαλοχρώματος	46
2.6 Έλεγχος τοξικότητας σε στατική και δυναμική φάση	47
2.7 Έλεγχος τοξικότητας με τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi-Catharios <i>et al.</i> 2007)	47
<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	48
3.1 Πάχος βαμμένης επιφάνειας	48
3.2 Αρχικά πειράματα ελέγχου τοξικότητας	49
3.2.1 Υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's	50
3.2.1.1 Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας	50
3.2.1.2 Έλεγχος τοξικότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες	51



3.2.1.2.1	Θερμοκρασία 5°C .....	51
3.2.1.2.2	Θερμοκρασία 10°C .....	52
3.2.1.2.3	Θερμοκρασία 15°C .....	53
3.2.1.2.4	Συγκεντρωτικά αποτελέσματα θερμοκρασίας.....	54
3.2.1.3	Πειράματα ελέγχου τοξικότητας σε διαφορετικές αλατότητες .....	56
3.2.1.3.1	Αλατότητα 20%ο .....	56
3.2.1.3.3	Αλατότητα 30%ο .....	58
3.2.1.3.4	Συγκεντρωτικά αποτελέσματα αλατότητας.....	59
3.2.2	Υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel .....	61
3.2.2.1	Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας.....	61
3.2.2.2	Έλεγχος τοξικότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες.....	62
3.2.2.2.1	Θερμοκρασία 5°C .....	62
3.2.2.2.2	Θερμοκρασία 10°C .....	63
3.2.2.2.3	Θερμοκρασία 15°C .....	64
3.2.2.2.4	Συγκεντρωτικά αποτελέσματα θερμοκρασίας.....	65
3.2.2.3	Πειράματα ελέγχου τοξικότητας σε διαφορετικές αλατότητες.....	67
3.2.2.3.1	Αλατότητα 20%ο .....	67
3.2.2.3.2	Αλατότητα 25%ο .....	68
3.2.2.3.3	Αλατότητα 30%ο .....	69
3.2.2.3.4	Συγκεντρωτικά αποτελέσματα αλατότητας.....	70
3.2.3	Micron Extra, International .....	72
3.2.3.1	Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας.....	72
3.2.3.2	Έλεγχος τοξικότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες.....	73
3.2.3.2.1	Θερμοκρασία 5°C .....	73
3.2.3.2.3	Θερμοκρασία 15°C .....	75
3.2.3.2.4	Συγκεντρωτικά αποτελέσματα θερμοκρασίας.....	76
3.2.3.3	Πειράματα ελέγχου τοξικότητας σε διαφορετικές αλατότητες.....	78
3.2.3.3.1	Αλατότητα 20%ο .....	78
3.2.3.3.3	Αλατότητα 30%ο .....	80
3.2.3.3.4	Συγκεντρωτικά αποτελέσματα αλατότητας.....	81
3.2.4	Advance, Premium self polishing, Boatcare .....	83
3.2.4.1	Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας.....	83
3.2.5	Endurance AntiF for power cruising, Boatcare .....	85
3.2.5.1	Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας.....	85
3.2.6	Professional AFP, Attiva Marine .....	87
3.2.6.1	Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας.....	87
3.2.7	Classic, Syntex .....	88
3.2.7.1	Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας.....	88
3.2.8	AntiF, Neotex .....	89
3.2.8.1	Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας.....	89
3.3	Έλεγχος τοξικότητας με διπλή στρώση βαφής και συσχέτιση με το βάρος και το πάχος της βαμμένης επιφάνειας .....	90
3.3.1	Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's .....	90
3.3.2	Hard racing, Hempel.....	94
3.3.3	Micron Extra, International .....	98
3.3.4	AntiF, Neotex .....	101
3.4	Έλεγχος τοξικότητας σε στατική και δυναμική φάση.....	102
3.4.1	Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's.....	102

3.4.2 Hard racing, Hempel.....	106
3.4.3 Micron Extra, International .....	109
3.4.4 AntiF, Neotex .....	111
3.5 Σύγκριση μεθόδων βαμμένων κυλίνδρων και τροποποιημένης σύριγγας .....	112
3.5.1. Πειράματα ελέγχου τοξικότητας σε ίδια θερμοκρασία και αλατότητα (25 °C, 35 ‰).....	112
3.5.1.1 Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's .....	112
3.5.1.2 Hard racing, Hempel.....	114
3.5.1.3 Micron Extra, International .....	115
3.5.1.4 Advance, Premium self polishing, Boatcare .....	117
3.5.1.5 Endurance AntiF for power cruising, Boatcare.....	119
3.5.1.6 Professional AFP, Attiva Marine .....	121
2.5.1.7 Classic, Syntex .....	122
2.5.1.8 AntiF, Neotex .....	123
<b>4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>124</b>
<b>5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>137</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>142</b>

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Βιοεπίστρωση

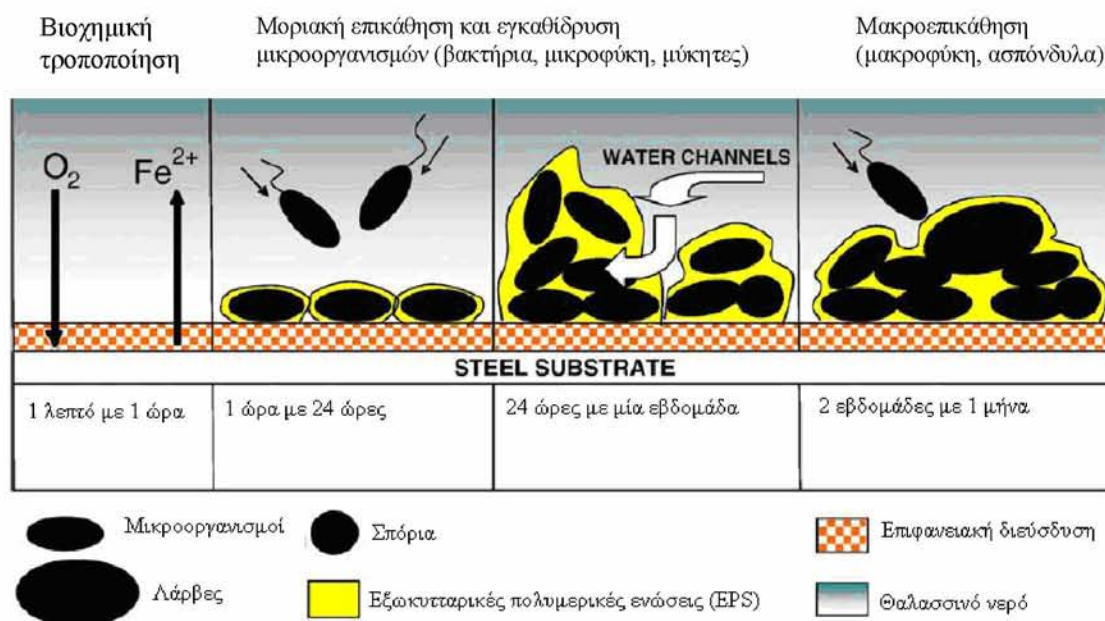
Το φαινόμενο της επίστρωσης βενθικών (φυτικών και ζωικών) οργανισμών σε επιφάνειες οι οποίες ποντίζονται στο θαλάσσιο περιβάλλον παρατηρήθηκε από τον άνθρωπο από την πρώτη επαφή του με τη θάλασσα. Μια από τις πρώτες γραπτές αναφορές του φαινομένου έγινε από τον Έλληνα φιλόσοφο Αριστοτέλη, ο οποίος παρατήρησε πως η επικάλυψη των υφάλων των πλοίων από οστρακόδερμα προκαλούσε επιβράδυνση στην ταχύτητα πλεύσης τους. Το φαινόμενο αυτό αποτελεί πρόβλημα σε ολόκληρο τον πλανήτη έως σήμερα (Kiil *et al.* 2002), ενώ η αντιμετώπισή του, χωρίς την επιβάρυνση του υδατικού περιβάλλοντος, απασχολεί ιδιαίτερα την επιστημονική κοινότητα τις τελευταίες δεκαετίες.

Ο όρος βιοεπίστρωση (biofouling) αναφέρεται στην ανεπιθύμητη ανάπτυξη μικροοργανισμών, φυτών και ζώων, σε διάφορες τεχνητές επιφάνειες που βυθίζονται σε θαλάσσιο νερό (Yebera *et al.* 2004). Η κάλυψή τους από υδρόβιους οργανισμούς εμφανίζεται σε ποικίλες περιπτώσεις όπως: στα ύφαλα των πλοίων, σε αγωγούς μεταφοράς νερού, σε εγκαταστάσεις πετρελαϊκών εξορύξεων, σε κλωβούς και δίχτυα υδατοκαλλιεργειών και, κυρίως, στις υποθαλάσσιες κατασκευές ή τεχνητούς υφάλους. Ο ρυθμός αποίκισης των επιφανειών αυτών από υδρόβιους οργανισμούς (κυρίως από βενθική πανίδα) έχει μελετηθεί διεξοδικά. (Boxall *et al.* 2000, Evans *et al.* 2000, Omae 2003a, Omae 2003b).

#### 1.1.1 Διαδικασία βιοεπίστρωσης

Ο αποικισμός επιφανειών από οργανισμούς που σχετίζονται με τη βιοεπίστρωση ακολουθεί μία βασική πορεία, η οποία είναι μερικώς ανεξάρτητη από τη γεωγραφική

περιοχή, τα είδη που εμπλέκονται και τον τύπο του υποστρώματος. Τα αρχικά βήματα της διαδικασίας περιλαμβάνουν τη βιοχημική τροποποίηση (biochemical conditioning), τον αποικισμό από βακτήρια (bacterial colonization), την εμφάνιση μονοκύτταρων ευκαρυωτικών αποικιστών (unicellular eukaryotic settlement) και την εγκαθίδρυση αντίστοιχων πολυκύτταρων ευκαρυωτικών (multicellular eukaryotic settlement) (Εικ. 1).



**Εικόνα 1:** Διαδοχή οργανισμών που σχετίζονται με τη βιοεπίστρωση σε μεταλλικό υπόστρωμα – επιφάνεια (Chambers *et al.* 2006)

Πιο αναλυτικά, η βιοχημική τροποποίηση αφορά τη συσσώρευση οργανικών μορίων στην επιφάνεια, όπως πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες και γλυκοπρωτεΐνες. Ακολουθεί ο αποικισμός και η ανάπτυξη πρωτοπόρων βακτηρίων, τα οποία δημιουργούν ένα βιοφίλμ. Αρχικά, πλαγκτονικά βακτήρια αποικούν την επιφάνεια, προσκόλληση η οποία είναι αναστρέψιμη, αφού οι δυνάμεις που τα συγκρατούν στην επιφάνεια είναι ασθενείς, όπως ηλεκτροστατικές και δυνάμεις Van der Waals. Ύστερα

ακολουθούν τα υπόλοιπα βακτήρια, τα οποία προσκολλώνται μη αναστρέψιμα στην επιφάνεια μέσω κυτταρικών διεργασιών και εξωπολυμερών. Μετά την ολοκλήρωση δημιουργίας του βιοφίλμ και υπό ιδανικές συνθήκες, η αύξηση των μικροοργανισμών μπορεί να φαίνεται και μακροσκοπικά. Η ύπαρξη του βιοφίλμ ευνοεί την εγκαθίδρυση και ανάπτυξη πολυκύτταρων οργανισμών (πχ. σπόρια φυκών, διάτομα, οστρακόδερμα κλπ, γνωστά και ως οργανισμοί μικρο-επίστρωσης ή *microfouling*) ενώ ακολουθεί η ανάπτυξη μεγαλύτερων οργανισμών όπως: λάρβες θαλάσσιων οργανισμών, Σπόγγοι, Κνιδόζωα, Πολύχαιτοι, Μαλάκια, Καρκινοειδή, Βρυόζωα και Χιτωνόζωα (γνωστά και ως οργανισμοί μακρο-επίστρωσης ή *macrofouling*).

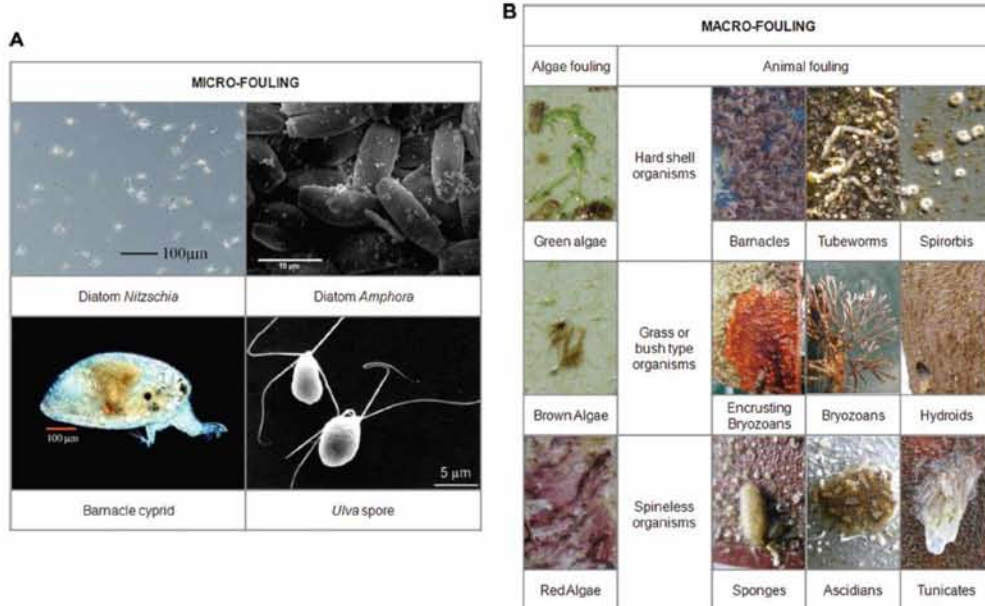
Η διαδοχή των παραπάνω σταδίων ίσως διαφέρει και εξαρτάται από τις συνθήκες του θαλάσσιου περιβάλλοντος, όπως η διαθεσιμότητα και ποικιλομορφία των ειδών που συμμετέχουν (Wahl 1989). Η εμφάνιση πολυκύτταρων οργανισμών αρκετές φορές πραγματοποιείται νωρίτερα από τη δημιουργία του βιοφίλμ. Χαρακτηριστικά παραδείγματα του φαινομένου αποτελούν τα ζωοσπόρια του φύκου *Ulva linza* και προνύμφες του *Amphibalanus amphitrite*, οργανισμοί οι οποίοι έχουν την ικανότητα να εγκατασταθούν σε καθαρές επιφάνειες (Clare & Høeg 2008) .

### 1.1.2 Κύριοι οργανισμοί βιοεπίστρωσης

Στη διεθνή βιβλιογραφία έχουν καταγραφεί περισσότεροι από 4.000 οργανισμοί βιοεπίστρωσης (Yebrá *et al.* 2004). Βακτήρια, διάτομα και σπόρια φυκών αποτελούν τους βασικούς μικροοργανισμούς που εγκαθιδρύονται σε ύφαλα πλοίων (Stanley *et al.* 1999, Phang *et al.* 2008, Li *et al.* 2010), ενώ οστρακόδερμα, σκώληκες, βρυόζωα, μύδια και φύκη είναι οι σημαντικότεροι μακρο-οργανισμοί (οργανισμοί μακρο-επίστρωσης) (Εικ. 2). Τα οστρακόδερμα είναι τα πιο συνήθη αρθρόποδα που εντοπίζονται στα ύφαλα

των πλοίων και όλα τα αποδοτικά υφαλοχρώματα πρέπει να περιορίζουν την ανάπτυξή τους. Στην ενήλικη μορφή τους προστατεύονται από σκληρά ασβεστολιθικά κελύφη και είναι μόνιμα προσαρτημένα σε επιφάνειες οι οποίες είναι βυθισμένες ή διαβρέχονται περιοδικά από νερό.

Επίσης, το πιο κοινό φύκος που παρατηρείται στη βιοεπίστρωση είναι η *Ulva*, η οποία έχει αξιοποιηθεί σε ποικίλες πειραματικές μελέτες του φαινομένου. Τα Διάτομα που εμφανίζονται στο βιοφίλμ προσελκύουν το ενδιαφέρον των επιστημόνων, λόγω της ανθεκτικότητας που παρουσιάζουν στα βιοκτόνα που χρησιμοποιούνται στα υφαλοχρώματα καθώς και στα μη τοξικά επιχρίσματα (low-surface-energy Fouling Release Coatings, FRCs). Τα πιο κοινά Διάτομα που εντοπίζονται ως οργανισμοί βιοεπίστρωσης είναι τα γένη *Navicula* και *Amphora* (Callow 1986, Finlay *et al.* 2002, Casse and Swain 2006).



**Εικόνα 2:** Α. Θαλάσσιοι μικροοργανισμοί που εγκαθίστανται σε καθαρές επιφάνειες που βυθίζονται στο νερό. Β. Θαλάσσιοι μακροοργανισμοί που πραγματοποιούν την ίδια διαδικασία (Yebrá *et al.* 2004).

### 1.1.3 Επιπτώσεις βιοεπίστρωσης

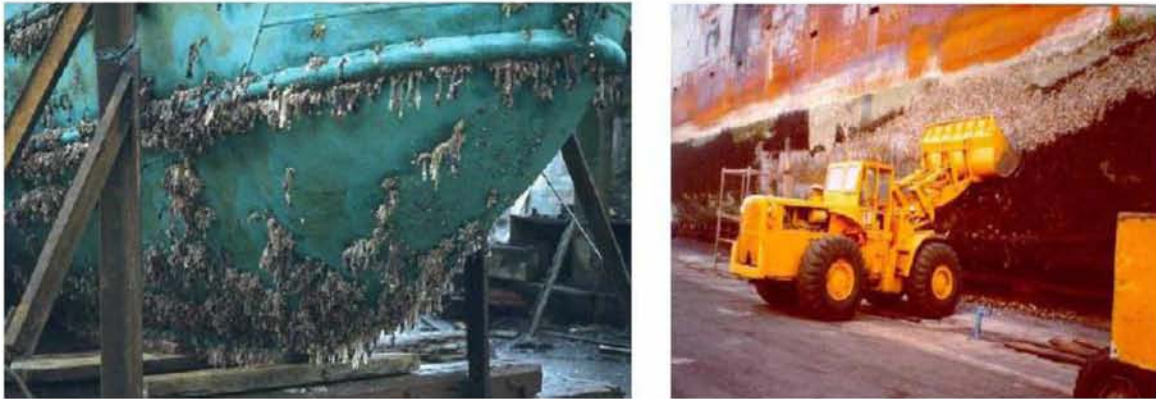
Η αποίκιση των οργανισμών βιοεπίστρωσης σε άγριες, κυρίως, επιφάνειες προκαλεί αναπόφευκτα μια σειρά σημαντικών προβλημάτων. Οι αρνητικές αυτές συνέπειες μπορεί να έχουν οικονομικό, περιβαλλοντικό χαρακτήρα ή κοινωνικό χαρακτήρα.

#### 1.1.3.1 Επιπτώσεις βιοεπίστρωσης στη ναυτιλία

Ο αντίκτυπος που προκαλούν τα φαινόμενα βιοεπίστρωσης στη ναυτιλία σχετίζεται με την αύξηση του βάρους των επιφανειών, η οποία στην περίπτωση των σκαφών οδηγεί σε μείωση της υδροδυναμικής συμπεριφοράς τους, της ταχύτητάς τους και της ικανότητας ελιγμών. Η συσσώρευση μικρο- και μακρο-οργανισμών προκαλούν τραχύτητα στις επιφάνειες των υφάλων των πλοίων, η οποία αυξάνει την αντίσταση λόγω τριβής κατά την κίνησή τους στο νερό, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η κατανάλωση καυσίμων έως 50% (αφού σε διάστημα 6 μηνών συσσωρεύονται μέχρι και 150 kg/m<sup>2</sup> οργανισμών βιοεπίστρωσης). Έτσι, αυξάνονται τα έξοδα συντήρησης (Champ 2003) και η εκπομπή αερίων του θερμοκηπίου (Schultz 2007). Ο Διεθνής Οργανισμός Ναυτιλίας (International Maritime Organization, IMO) διευκρίνισε ότι χωρίς τη λήψη διορθωτικών μέτρων και την εισαγωγή νέων τεχνολογιών για την καταπολέμηση της βιοεπίστρωσης, η εκπομπή αερίων από τους στόλους όλου του πλανήτη θα αυξηθεί από 38% έως 72% μέχρι το 2020 (IMO, 2000). Ωστόσο, η χρήση υφαλοχρωμάτων μειώνει δραστικά το κόστος καυσίμων (έως \$60 δις) και την ατμοσφαιρική ρύπανση (Salta *et al.* 2010).

Επίσης, τα φαινόμενα βιοεπίστρωσης προκαλούν διάβρωση του υλικού κατασκευής των υφάλων και περιορίζουν την ηλεκτρική αγωγιμότητά του, εξαιτίας των

ουσιών που εκκρίνονται από τους οργανισμούς ώστε να καθίσταται δυνατή η προσκόλλησή τους στην επιφάνεια. Με τη διαδικασία καθαρισμού του πλοίου ελευθερώνονται μεγάλες ποσότητες τοξικών ουσιών στο περιβάλλον (Εικ. 3) (Kiil *et al.* 2007).



**Εικόνα 3:** Παραδείγματα ανάπτυξης βιοεπίστρωσης σε ύφαλα πλοίων (Yebera *et al.* 2004)

#### 1.1.3.2 Επιπτώσεις της βιοεπίστρωσης στις υδατοκαλλιέργειες

Η ανάπτυξη βιοεπίστρωσης σε κλωβούς υδατοκαλλιεργειών έχει ποικίλες αρνητικές επιπτώσεις. Η μείωση ανταλλαγής νερού, λόγω της αύξησης των οργανισμών βιοεπίστρωσης στα δίχτυα προκαλεί το κλείσιμο του ματιού των δικτύων (Εικ. 4).



**Εικόνα 4:** Μείωση του ανοίγματος του ματιού δικτύων ιχθυοκαλλιέργειας εξαιτίας της ύπαρξης οργανισμών βιοεπίστρωσης. Δεξιά: Μεγάλη ανάπτυξη μυδιών σε δίχτυα καλλιέργειας πέστροφας. Τα μύδια εμποδίζουν σε μεγάλο βαθμό τη ροή νερού. Έχουν μήκος 5-10 mm, ενώ στο δίχτυ η απόσταση από κόμπο σε κόμπο είναι περίπου 20mm. (Braithwaite *et al.* 2004).



Όταν η πυκνότητα των ψαριών είναι υψηλή, αυξάνεται και η κατανάλωση οξυγόνου από το απόθεμα (Oppedal *et al.* 2011a, Oppedal *et al.* 2011b). Έτσι, όσο ελαττώνεται η έκπλυση του νερού, η ποιότητά του μειώνεται συνεχώς, γεγονός που οδηγεί στη μείωση του διαθέσιμου διαλυμένου οξυγόνου (Johansson *et al.* 2006), στην ανεπιτυχή απόρριψη της περίσσειας τροφής και των αποβλήτων με συνέπεια το θάνατο του αποθέματος λόγω ανοξικών συνθηκών. Επίσης, οι πληθυσμοί των οργανισμών βιοεπίστρωσης που εμφανίζονται λειτουργούν ως δεξαμενές παθογόνων μικροοργανισμών, γεγονός που αυξάνει την πιθανότητα μόλυνσης της καλλιέργειας και έξαρσης ασθενειών. Η μείωση του διαλυμένου οξυγόνου μπορεί να αυξάνει το στρες του αποθέματος (Lader *et al.* 2008), κατάσταση η οποία το κάνει πιο ευάλωτο, επηρεάζει το ανοσοποιητικό σύστημα και μπορεί να οδηγήσει στο ίδιο αποτέλεσμα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η νόσος του ήπατος (netpen liver disease, NLD) που προκαλείται στο απόθεμα από την κατανάλωση φυκών (που παράγουν τοξίνες) τα οποία εγκαθίστανται σε κλωβούς (Kent 1990, Andersen *et al.* 1993).

Επιπλέον, το βάρος των διχτυών μπορεί να αυξηθεί κατά 200 φορές, ενώ έχει παρατηρηθεί μείωση του ανοίγματος ματιού του διχτυού κατά 37% σε 7 ημέρες (Hodson *et al.* 1995). Η αύξηση του βάρους των κλωβών μπορεί να οδηγήσει στην παραμόρφωσή τους και τη μείωση της πλευστότητας, γεγονός που επιβάλλει την αύξηση των εξόδων συντήρησης και τον κίνδυνο καταστροφής του εξοπλισμού. Οι υδροδυναμικές δυνάμεις που παρατηρούνται από τη μείωση του όγκου του κλωβού και του ανοίγματος των ματιών του διχτυού, αυξάνουν την πίεση που ασκείται κατά 12,5 φορές περισσότερο από όταν αυτό είναι καθαρό (Milne 1970, Phillipi *et al.* 2001). Εκτός από τον αντίκτυπο στο απόθεμα, επηρεάζεται και το περιβάλλον, αφού προκαλούνται τοπικά φαινόμενα ευτροφισμού.

### 1.1.3.3 Επιπτώσεις της βιοεπίστρωσης στο περιβάλλον

Η εγκατάσταση οργανισμών βιοεπίστρωσης στα ύφαλα των πλοίων αποτελεί επίσης σημαντικό ζήτημα που αφορά την εισαγωγή χωροκατακτητικών, μη αυτόχθονων ειδών σε οικοσυστήματα που δεν αποτελούν το φυσικό τους περιβάλλον. Πράγματι, τα πλοία που επιβαρύνονται από φαινόμενα βιοεπίστρωσης αποτελούν τους πιο συχνούς μεταφορείς θαλάσσιων οργανισμών που προσκολλώνται σε αυτά και μεταφέρονται σε ξένες περιοχές (Piola *et al.* 2009). Οι επιπτώσεις του φαινομένου μπορεί να έχουν οικολογική και εξελικτική μορφή, λόγω του άμεσου και έμμεσου ανταγωνισμού των αυτόχθονων με τους χωροκατακτητικούς οργανισμούς, της επίδρασης που ίσως προκαλούν στα ανώτερα τροφικά επίπεδα, καθώς και της αλλαγής στην ισορροπία του οικοσυστήματος. Από την άλλη πλευρά, θα μπορούσαν να υπάρχουν κοινωνικές και οικονομικές επιπτώσεις, όπως εκείνες που αφορούν την ανθρώπινη υγεία και τη διαχείριση του κόστους ώστε να ληφθούν μέτρα ή να εξαλειφθεί το φαινόμενο.

### 1.2 Παρεμπόδιση βιοεπίστρωσης και υφαλοχρώματα

Ποικίλες στρατηγικές αντιμετώπισης έχουν δοκιμαστεί για την παρεμπόδιση της ανάπτυξης των οργανισμών που σχετίζονται με τη βιοεπίστρωση στις υποθαλάσσιες κατασκευές. Ορισμένες στρατηγικές αντιμετώπισης περιλαμβάνουν την επικάλυψη με χαλκό ή μόλυβδο, θέρμανση ή ψύξη των υφάλων του πλοίου, χρώματα βασισμένα σε πρωτεΐνες διαφόρων ειδών, υπεριώδη ακτινοβολία, μαγνητικά πεδία, απελευθέρωση χλωρίου, επιφάνειες γέλης, φυσικά συστατικά που εμποδίζουν την ανεπιθύμητη ανάπτυξη των οργανισμών (π.χ. φουρανόνες) κ.α.. (Kiil *et al.* 2002). Η μόνη πραγματικά αποτελεσματική μέθοδος έως σήμερα είναι η χρήση υφαλοχρωμάτων.

### 1.2.1 Ιστορική αναδρομή παρεμπόδισης βιοεπίστρωσης

Η ανάγκη για την προστασία των υφάλων των πλοίων από τη θαλάσσια ρύπανση είναι τόσο παλιά όσο η χρήση των πλοίων ως μέσο μετακίνησης από τον άνθρωπο. Στον Πίνακα 1 (Omae 2003) παρουσιάζονται οι κυριότερες μέθοδοι αντιμετώπισης της βιοεπίστρωσης από την αρχαιότητα έως σήμερα.

**Πίνακας 1:** Ιστορική αναδρομή μεθόδους αντιμετώπισης βιοεπίστρωσης (Omae 2000)

Παλαιότερα	Ελάσματα χαλκού εφαρμόζονται στα ξύλινα πλοία
2000πΧ	Τα πλοία στερεώνονται με χάλκινες βίδες και στα ύφαλα εφαρμόζεται μόλυβδος
300πΧ	Ενώσεις αρσενικού, θείου κ.α εφαρμόζονται υπό μορφή πίσσας. Εισαγωγή του τύπου επίστρωσης με πίσσα.
19 <sup>ος</sup> αιώνας	Πρώτη βιομηχανική παραγωγή υφαλοχρωμάτων με χαλκό
Πριν το 1960	Παράγωγή συμβατικών υφαλοχρωμάτων με κύριο τοξικό προϊόν οξείδιο χαλκού αλλά και οργανικές ενώσεις υδραργύρου, αρσενικού, μολύβδου κ.α.
1960-	Οργανοκασσιτερικές ενώσεις στα υφαλοχρώματα
1974-	Αυτολειανόμενα υφαλοχρώματα με οργανοκασσιτερικά πολυμερή
1980-	Polysiloxane polymers
1990-	Υφαλοχρώματα χωρίς κασσίτερο-tin free

Από πολύ νωρίς χρησιμοποιήθηκαν προϊόντα όπως πίσσα και άσφαλτος για την αντιμετώπιση του φαινομένου. Οι Φοίνικες και οι Καραχιδόνιοι φαίνεται πως ήταν οι πρώτοι που χρησιμοποίησαν ελάσματα χαλκού για το σκοπό αυτό. Αυτή η τεχνική υιοθετήθηκε από τους Έλληνες και τους Ρωμαίους, οι οποίοι διερεύνησαν και τη χρήση του μολύβδου. Αργότερα, εφαρμόστηκαν ενώσεις αρσενικού, θείου, ψευδαργύρου κ.α.. υπό μορφή πίσσας. Η πρώτη βιομηχανική παραγωγή υφαλοχρωμάτων με χαλκό πραγματοποιήθηκε στα μέσα του 19<sup>ου</sup> αιώνα, ενώ ο τρόπος λειτουργίας τους βασίστηκε στην ιδέα ενός εξαιρετικά τοξικού παράγοντα συνδεδεμένο με ένα πολυμερές ως

μήτρα. Πριν το 1960 ενσωματώνεται στη βιομηχανία η χρήση οξειδίου του χαλκού, οργανικών ενώσεων υδραργύρου, μολύβδου, αρσενικού κ.ά. για την παραγωγή των συμβατικών υφαλοχρωμάτων, των οποίων ο σκοπός είναι η καθυστέρηση της ανάπτυξης των θαλάσσιων φυκών και άλλων υδροβίων οργανισμών (Schiff *et al.* 2004) (Εικ. 5), γεγονός που βελτίωσε την πλευστότητα των πλοίων κατά την κίνηση (Μαρουλάκου και συν. 1996, Tselentis *et al.* 1999, Χαραλαμπίδης 2005). Από το 1960 άρχισε η χρήση οργανομεταλλικών ενώσεων (με κασσίτερο, αρσενικό, υδράργυρο κ.ά.) στα υφαλοχρώματα, η οποία οδήγησε, μετά από διαδοχικές εξελίξεις στη χρήση του τριβουτυλοκασσίτερου (τριβουτυλίνη, TBT), ουσία που χρησιμοποιήθηκε ευρέως λόγω της μεγάλης αποτελεσματικότητάς της (Candries *et al.* 2003).



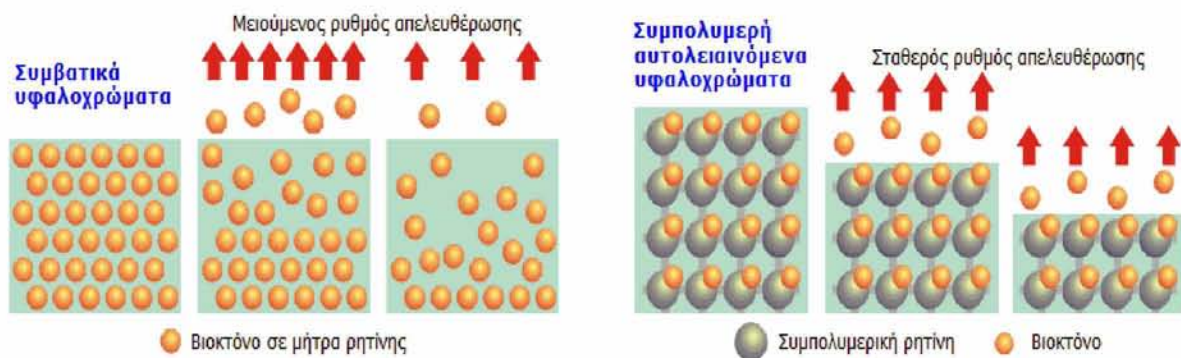
**Εικόνα 5:** Επιφάνεια με έντονη συσσώρευση οργανισμών (πλώρη πλοίου)

Τα υφαλοχρώματα που βασίζονται στη διασπορά τοξικών ουσιών και ενσωματώνονται σε διαφορετικού τύπου μήτρες αποτέλεσαν μια βασική μορφή αντιρρυπαντικής μεθόδου, η οποία διαφοροποιήθηκε με το πέρασμα των δεκαετιών ανάλογα με τους μηχανισμούς απελευθέρωσης των τοξικών που χρησιμοποιούνταν

κάθε φορά. Αυτοί οι μηχανισμοί καθορίζουν την εφαρμογή, συμπεριφορά και διάρκεια του εκάστοτε υφαλοχρώματος. Έτσι, από το 1974 εμφανίστηκαν τα αυτολειαινόμενα υφαλοχρώματα με οργανοκασσιτερικά πολυμερή και από το 1990 τα υφαλοχρώματα χωρίς κασσίτερο (Anderson *et al.* 2003, Almeida *et al.* 2007).

### 1.2.2 Κατηγορίες Υφαλοχρωμάτων

Τα υφαλοχρώματα νέου τύπου διακρίνονται σε συνήθη αντιρρυπαντικά τύπου διαλυτής μήτρας (conventional soluble matrix type), αντιρρυπαντικά τύπου αδιάλυτης μήτρας (insoluble matrix type), αυτολειαινόμενα αντιρρυπαντικά (self- polishing) και αντιρρυπαντικά λειαινόμενα από τριβή (self- polishing/ ablative) (Almeida *et al.* 2007), ανάλογα με το συστατικό που αποτελεί τη βάση του χρώματος (μήτρα) και τον μηχανισμό απελευθέρωσης της βιοκτόνου ουσίας στο περιβάλλον (Εικ. 6)



**Εικόνα 6:** Απελευθέρωση βιοκτόνου ουσίας (π.χ. TBT) από συμβατικά υφαλοχρώματα (αριστερά) και συμπολυμερή αυτολειαινόμενα υφαλοχρώματα (δεξιά).

Οι σύγχρονες στρατηγικές αντιρρύπανσης διαχωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες: Τις χημικώς ενεργές επιστρώσεις, οι οποίες δρουν στους θαλάσσιους οργανισμούς αναστέλλοντας ή περιορίζοντας την εγκατάστασή και τα μη τοξικά

επιχρίσματα, που αναστέλλουν την εγκατάσταση ή διευκολύνουν την απελευθέρωση των θαλάσσιων οργανισμών από μια επιφάνεια χωρίς τη συμμετοχή χημικών αντιδράσεων. Κατά τη μεταβατική περίοδο που μεσολάβησε μεταξύ της χρήσης υφαλοχρωμάτων με κασσίτερο και της εφαρμογής επιστρώσεων με μη τοξικές ενώσεις, τα αυτολειανόμενα αντιρρυπαντικά χωρίς κασσίτερο θεωρούνταν τα πιο αποτελεσματικά. Μη τοξικά υφαλοχρώματα (low-surface-energy Fouling Release Coatings, FRCs) κατοχυρώθηκαν για πρώτη φορά με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας το 1961, όπου χρησιμοποιήθηκε ρητίνη σιλικόνης στις επιστρώσεις, ενώ από τις αρχές του 1990 έχει πραγματοποιηθεί έντονη ερευνητική δραστηριότητα που σχετίζεται με την ανάπτυξη τόσο σιλικονούχων όσο και φθορο-ρητινών (fluoro-based coatings) (Robbart 1961). Επιπλέον, παρατηρείται αυξανόμενο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη υφαλοχρωμάτων που βασίζονται σε ένζυμα και την κατασκευή κατάλληλων τοπογραφικών επιφανειών (topographical surfaces) ως πολλά υποσχόμενες λύσεις του προβλήματος της βιοεπίστρωσης, ενώ η εφαρμογή αυτών των μεθόδων έχει ξεκινήσει από το 2000.

### 1.2.3 Αντιρρυπαντικές ενώσεις – ενισχυτικές βιοκτόνες ουσίες

Ο τριβουτυλοκασσίτερος (TBT), αποτελεί την πιο αποτελεσματική αντιρρυπαντική ένωση που έχει χρησιμοποιηθεί ως συστατικό των υφαλοχρωμάτων από το 1960. Ωστόσο, από τις αρχές του 1980 παρουσιάστηκαν ανεπιθύμητες επιδράσεις του σε θαλάσσιους οργανισμούς που δε σχετίζονται με τη βιοεπίστρωση. Το γεγονός αυτό οδήγησε στον σταδιακό περιορισμό (από τη δεκαετία του 1980) έως την απαγόρευση της χρήσης του από το 2003 (Reg. 782/2003/EC). Έτσι, άρχισαν να χρησιμοποιούνται εναλλακτικές υδατοδιαλυτές ουσίες, όπως οι  $\text{Cu}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSCN}$  και  $\text{ZnO}$

ως πρόσθετα στα υφαλοχρώματα, σε συνδυασμό με οργανικά ενισχυτικά βιοκτόνα (Yebrá *et al.* 2004).

Οι βιοκτόνες ουσίες εμφανίζουν 10 φορές μικρότερη τοξικότητα από το TBT. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν ως ενισχυτικά στα υφαλοχρώματα που βασίζονται στο χαλκό. Η δυναμική των βιοκτόνων ουσιών που μπορεί να προκαλέσει δυσμενείς επιπτώσεις στο περιβάλλον έχει οδηγήσει στον προβληματισμό των ερευνητών. Έτσι, υφαλοχρώματα που περιέχουν βιοκτόνα χρησιμοποιούνται με φειδώ και απαιτούν έγκριση. Ως αποτέλεσμα ποικίλων ερευνών τοξικότητας των συγκεκριμένων επιστρώσεων, ο ρυθμός έγκρισης και χρήσης τους έχει περιοριστεί σε πολλές περιοχές, όπως στη Σουηδία (Ytreberg *et al.* 2010), την Ουάσινγκτον και την Καλιφόρνια των Η.Π.Α. (Washington Senate Bill 5436 2011, California Senate Bill 623 2011). Από το 2000 με αντίστοιχη ντιρεκτίβα (Biocidal Products Directive, 98/8/EC) περιορίστηκε και στην Ευρωπαϊκή Ένωση η παραγωγή και εμπορία μη αγροτικών προϊόντων που προορίζονται για βιοκτόνα στα υφαλοχρώματα. Στον Πίνακα 2 αναφέρονται τα κύρια βιοκτόνα που χρησιμοποιούνται αυτή τη στιγμή σε υφαλοχρώματα καθώς και εκείνα που δεν αναφέρονται μέχρι σήμερα στην ευρωπαϊκή ντιρεκτίβα περί βιοκτόνων.

**Πίνακας 2:** Βιοκτόνα που χρησιμοποιούνται ή είναι υποψήφια (σημειώνονται με \*) για ενσωμάτωση σε υφαλοχρώματα, με βάση τη ντιρεκτίβα της Ε.Ε (98/8/EC).

<b>Βιοκτόνο</b>	<b>Εναλλακτική ονομασία</b>	<b>Κωδικός CAS</b>
copper		7440-50-8
dicopper oxide (cuprous oxide)		1317-39-1
copper thiocyanate		1111-67-7
bis(1-hydroxy-1H-pyridine-2-thionate-O,S) copper	copper pyriithione	14915-37-8

zinc complex of 2-mercaptopyridine-1-oxide	zinc pyrrithione	13463-41-7
N-dichlorofluoromethylthio-N',N'-dimethyl-N-phenylsulfamide	Dichlofluanid, Preventol A4S, Euparen	1085-98-9
N-dichlorofluoromethylthio-N',N'-dimethyl-N-p-tolylsulfamide	Tolylfluanid, Preventol A5S Euparen M	731-27-1
4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one	Sea-Nine 211, Kathon 287T, Kathon 930, DCOIT	64359-81-5
zinc ethylene bisdithiocarbamate	Zineb	12122-67-7
N'-tert-butyl-N-cyclopropyl-6-(methylthio)-1,3,5-triazine-2,4-diamine	Irgarol 1051, Cybutryne	28159-98-0
triphenylboron pyridine complex *	TPBP	971-66-4
2-(p-chlorophenyl)-3-cyano-4-bromo-5-trifluoromethyl pyrrole *	Tralopyril, Econea	122454-29-9
N-[(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methyl]-8-methylnon-6-enamide *	Capsaicin	404-86-4
4-[1-(2,3-dimethylphenyl)ethyl]-3H-imidazole *	Medetomidine, Selektope	86347-14-0

Οι συγκεκριμένες ενώσεις διαφέρουν ως προς τον τρόπο δράσης τους, τις τοξικές ιδιότητες και την περιβαλλοντική επιβάρυνση που μπορεί να προκαλούν. Μέχρι σήμερα, έχουν δημοσιευτεί αρκετές μελέτες που αφορούν τα βιοκτόνα που χρησιμοποιούνται στα υφαλοχρώματα, τις επιπτώσεις τους και την κατάληξή τους στο περιβάλλον (Voulvoulis *et al.* 1999, Omae 2003b, Konstantinou and Albanis 2004, Arai *et al.* 2009, Thomas 2009, Thomas 2010).

Η αξιολόγηση 11 βιοκτόνων που χρησιμοποιούνται σε υφαλοχρώματα κατέληξε στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχουν επαρκείς πληροφορίες σχετικά με αυτά τα χημικά προϊόντα ώστε να καθίσταται δυνατή μια ορθή εκτίμηση του περιβαλλοντικού κινδύνου (Evans *et al.* 2000, Voulvoulis *et al.* 1999). Η αβεβαιότητα αυτή σχετίζεται με τις ελλειπείς πληροφορίες που υπάρχουν και αφορούν τη περιβαλλοντική συμπεριφορά των βιοκτόνων αυτών, την οξεία και χρόνια τοξικότητα που μπορεί να προκαλούν, καθώς



και την επαλήθευση των αναλυτικών μεθόδων που αφορούν την παρακολούθηση της πορείας και τοξικότητάς τους στο περιβάλλον. Επιπλέον, ελάχιστες είναι και οι πληροφορίες που αναφέρονται στη συνεργιστική δράση μεταξύ των ρυπογόνων, τη συσσώρευσή τους στο περιβάλλον και την αξιολόγηση της δράσης τους. Δεδομένου ότι οι συγκεκριμένες εναλλακτικές λύσεις είναι επίσης τοξικές, η ρύπανση που προκαλούν στο υδάτινο περιβάλλον αποτελεί αντικείμενο αυξανόμενης σημασίας τα τελευταία χρόνια. (Konstantinou and Albanis 2004, Karlsson and Eklund 2004).

Η απαγόρευση της χρήσης επιβλαβών ουσιών στα υφαλοχρώματα απαιτεί την ανάπτυξη νέων στρατηγικών αντιμετώπισης του φαινομένου της βιοεπίστρωσης, με αποδεκτά πρότυπα και αμελητέες παρενέργειες κατά τη διάρκεια της χρήσης τους, τόσο για τον άνθρωπο όσο και για το περιβάλλον. Η εύρεση ουσιών που να μπορούν να ενσωματωθούν επιτυχώς στα υφαλοχρώματα, χωρίς να αποτελούν απειλή για το περιβάλλον αποτελεί πλέον αναγκαιότητα, ενώ πριν τη χρήση τους είναι απαραίτητη η ύπαρξη στοιχείων που να διασφαλίζουν την προστασία των θαλάσσιων οικοσυστημάτων.

### 1.3. Υδρόβια Οικοτοξικολογία και δείκτες τοξικότητας υφαλοχρωμάτων

#### 1.3.1 Υδρόβια Τοξικολογία και μέτρηση τοξικότητας

Η Υδρόβια Οικοτοξικολογία ενσωματώνει όλους τους παράγοντες μελέτης της τοξικολογίας και μελετά τις οικολογικές επιπτώσεις μέσα από τα στοιχεία έκθεσης των οργανισμών στους τοξικούς παράγοντες (Newman 2008).

Στα υδατικά οικοσυστήματα για τη μελέτη της τοξικότητας χρησιμοποιούνται μέθοδοι ανάλογες με αυτές που χρησιμοποιούνται και στα χερσαία οικοσυστήματα.

Μια βασική διαφορά όμως μεταξύ χέρσου και θάλασσας ή γλυκού νερού είναι ότι στο υδατικό σύστημα οι οργανισμοί εν γένει εκτίθενται κυρίως μέσω του δέρματος και άλλων επιφανειών επαφής του οργανισμού με το νερό, παρά μέσω της τροφής. Κατά συνέπεια η τοξικότητα εκφράζεται συνήθως ως LC<sub>50</sub> (συγκέντρωση στο νερό) παρά ως δόση από το στόμα ή συγκέντρωση στην τροφή (Ακριώτης 2001).

Στα υδατικά οικοσυστήματα η τοξικότητα των μετάλλων εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων, όπως η μορφή στην οποία βρίσκεται το μέταλλο, η φύση του, οι τάσεις ανταγωνισμού ή συνεργίας μεταξύ των μετάλλων για συμπλοκοποίηση και η φύση του οργανισμού. Επίσης, σημαντικό ρόλο παίζουν το είδος της μετρούμενης αντίδρασης (οξεία τοξικότητα, βιοσυσσώρευση, διάφοροι τύποι χρόνιων επιπτώσεων κλπ.), καθώς και παράγοντες που επηρεάζουν τη φυσιολογία των οργανισμών ή και τις φωτοχημικές μορφές των μετάλλων (θερμοκρασία, αλατότητα, φως, pH, pE) (Bryan 1976, Brezonik *et al.* 1992).

Τα πειράματα τοξικότητας προσδιορίζουν την επίδραση κάποιας χημικής ουσίας ή ενός μίγματος χημικών ουσιών ή ενός δείγματος στην επιβίωση ή τον ρυθμό ανάπτυξης ζωντανών οργανισμών. Κάθε πείραμα συνοδεύεται από ένα μάρτυρα (control) και γίνονται πέντε ή έξι αραιώσεις για τον προσδιορισμό της τοξικότητας που προκαλεί 50% θνησιμότητα των οργανισμών σε συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Τα χαρακτηριστικά έκθεσης στη χημική ουσία, καθώς και το φάσμα επίδρασής της στο εκάστοτε πειραματόζωο μπορούν να αξιοποιηθούν για την κατασκευή μιας καμπύλης δόσης – αποτελέσματος. Από τη συγκεκριμένη καμπύλη είναι δυνατόν να προσδιοριστούν όροι που είναι χρήσιμοι στην οικοτοξικολογική και περιβαλλοντική έρευνα (Newman 2005, Valavanidis 2008). Έτσι, τα αποτελέσματα των πειραμάτων τοξικότητας εκφράζονται ως LC<sub>50</sub> ή ως EC<sub>50</sub>.

Ως LC<sub>50</sub> (Lethal Concentration) ορίζεται η συγκέντρωση της τοξικής ουσίας (σε μονάδες συγκέντρωσης) που προκαλεί το θάνατο στο 50% του πληθυσμού που εκτίθεται στην τοξική ουσία. Αντίστοιχα, EC<sub>50</sub> (Effective Concentration) είναι η συγκέντρωση δραστικής ουσίας στην τροφή που προκαλεί ορατά συμπτώματα. Τα συμπτώματα που καταγράφονται είναι κυρίως βιοχημικά και ιστολογικά (Newman 2008).

Ο ορισμός ενός νέου δείκτη τοξικότητας, ο οποίος αποτελεί τροποποίηση των δεικτών LC<sub>50</sub> και EC<sub>50</sub> πραγματοποιήθηκε από τους Persoone and Castritsi - Catharios (1989) και αφορά τον υπολογισμό της βαμμένης επιφάνειας προς τον όγκο του νερού (surface to volume (S/V) units). Ο δείκτης L(S/V)<sub>50</sub> ή S/V-LC<sub>50</sub> εκφράζει τη βαμμένη επιφάνεια που επηρεάζει ή σκοτώνει το 50% των οργανισμών σε 1ml θρεπτικού σε συγκεκριμένο χρονικό διάστημα έκθεσης.

### 1.3.2 Πειράματα τοξικότητας - Πειραματόζωα

Αρκετοί οργανισμοί έχουν χρησιμοποιηθεί έως σήμερα ως πειραματόζωα και αξιοποιήθηκαν στην οικοτοξικολογία για τον προσδιορισμό της τοξικής δράσης των υφαλοχρωμάτων ή μεμονωμένων συστατικών τους (βαρέα μέταλλα, βιοκτόνα κλπ). Ανάμεσα σε αυτούς αξίζει να αναφερθούν οι *Balanus amphitrite* (οστρακόδερμο), *Amphibalanus amphitrite* (Piazza *et al.* 2011), *Isochrysis galbana*, *Brachionus plicatilis* και *Dunaliella salina* (López-Galindo *et al.* 2010), *Dunaliella tertiolecta* (φύκος), *Daphnia magna* (Okamura 2000) με τη μέθοδο του Daphtoxkit (Creasel, Belgium) και *Selenastrum capricornutum* (χλωροφύκος) με τη μέθοδο Algaltoxkit (Creasel, Belgium) (Fernández-Alba *et al.* 2002). Επίσης, έχουν χρησιμοποιηθεί έμβρυα του ψαριού *Danio rerio*, το *Thamnocephalus platyurus* (Okamura 2000) και το φωσφορίζον βακτήριο

*Vibrio fischeri* (Fernández-Alba *et al.* 2002) με τη δοκιμή Microtox, για τα οποία διαπιστώθηκε ότι υφαλοχρώματα με οργανικούς διαλύτες είναι πιο τοξικά. Ο Okamura (2002) μελέτησε αντίστοιχα την τοξικότητα ορισμένων αντιρρυπαντικών ουσιών σε καλλιέργειες από εναιώρημα κυττάρων του ψαριού *Oncorhynchus mykiss*. Η πιο πρόσφατη μελέτη πραγματοποιήθηκε από τους Vivien *et al.* (2013) που εξέτασαν τη συνδυαστική δράση του Irgarol με το χαλκό και την τοξικότητα που αυτή προκαλεί στο κωπήποδο *Tigriopus japonicus*.

### 1.3.3 Η *Artemia* ως πειραματόζωο σε ελέγχους τοξικότητας

Ένας από τους πιο ευρέως χρησιμοποιούμενους οργανισμούς για την πραγματοποίηση πειραμάτων οικοτοξικολογίας είναι η *Artemia*, ενώ οι μελέτες που την αφορούν εστιάζονται στη χρήση των ναυπλίων της, διαδικασία που αποτελεί το γνωστό Artoxkit (Vanhaecke *et al.* 1980a, Vanhaecke *et al.* 1980b, Vanhaecke *et al.* 1981a, Vanhaecke *et al.* 1981b, Persoone and Vanhaecke 1981, Vanhaecke and Persoone 1981, Persoone and Wells 1987).

Η χρήση ναυπλίων της *Artemia* σε πειράματα οικοτοξικολογίας αποτέλεσε επιλογή για τη μελέτη ρύπων όπως βαριά μέταλλα (Sarabia *et al.* 1998, Hadjispyrou *et al.* 2001, Brix *et al.* 2003), ιχνοστοιχεία (Petrucci *et al.* 1995), ακρυλονιτρίλιο (Tong *et al.* 1996), καρβαμικά (Barahona and Sanchez-Fortun 1998), τοξικά κυανοβακτήρια (Vezie *et al.* 1996, Beattie *et al.* 2003), αντιρρυπαντικές ουσίες (Okamura *et al.* 2000, Hadjispyrou *et al.* 2001, Bartolome & Sanchez-Fortun 2005), φαρμακευτικές ουσίες (Touraki *et al.* 1999, Parra *et al.* 2001) και μέσα προστασίας κατά της βιοεπίστρωσης (antifouling agents) (Panagoula *et al.* 2002). Επίσης, οι ναύπλιοι της *Artemia* έχουν χρησιμοποιηθεί στη μελέτη της τοξικότητας δειγμάτων από θαλάσσιες παράκτιες

περιοχές (Wells 1999, Nipper 2000), τη μελέτη μυκοτοξινών (Panigrahi 1993, Hlywka *et al.* 1997), οργανικών διαλυτών (Barahona-Gomariz *et al.* 1994), καθώς και για τη δημιουργία εναλλακτικών μεθόδων ελέγχου τοξικότητας (Calleja *et al.* 1994, Parra *et al.* 2001). Επιπλέον, η *Artemia* έχει ενσωματωθεί σε τυποποιημένες μεθόδους ελέγχου ποιότητας νερού τόσο στο θαλάσσιο περιβάλλον όσο και σε εκβολές ποταμών (Creasel 1990).

Ο Guerra (2001) συμπεριέλαβε την *Artemia* σε μια σειρά πειραμάτων οικοτοξικολογίας που αφορούσαν την εκτίμηση της τοξικότητας φαινολικών ενώσεων από βιομηχανικά απόβλητα. Επίσης, οι Tothill and Turner (1996) τόνισαν τη χρησιμότητά της για τον έλεγχο τοξικότητας στην επεξεργασία νερού, καθώς και στην εκτίμηση της πιθανής τοξικής δράσης των κυανοβακτηρίων. Ομοίως, οι Karanen and Itanaara (2001) εξέτασαν το ενδεχόμενο χρήσης της *Artemia* για την εκτίμηση των τοξικών επιδράσεων που προκαλούν στο οικοσύστημα λιπάσματα που προκύπτουν από βιομηχανικά απόβλητα.

#### 1.3.4 Μέθοδοι μέτρησης – ελέγχου της τοξικότητας

##### 1.3.4.1 Έλεγχος τοξικότητας με τη χρήση βαμμένων επιφανειών

Οι Katranitsas *et al.* (2003) εξέτασαν τις πιθανές τοξικές επιπτώσεις ενός υφαλοχρώματος με βάση το χαλκό στην *Artemia*. Η μέθοδος στηρίζεται στον υπολογισμό της βαμμένης επιφάνειας προς τον όγκο του νερού (surface to volume (S/V) units). Κατ' αυτήν, το διάλυμα που προέρχεται από την εκπομπή και εν συνεχεία διασπορά των τοξικών ουσιών που περιέχονταν στο υφαλόχρωμα με το οποίο είχε βαφτεί η συγκεκριμένη επιφάνεια σε συγκεκριμένο όγκο νερού θανατώνει το 50% των

πειραματοζώων (L(S/V)50 ή S/V-LC50) για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα έκθεσης. Η μέθοδος προτάθηκε από τους Persoone and Castritsi - Catharios (1989). Έτσι, χρησιμοποιώντας κύστες *Artemia* (σταδίου II-III) και με τη χρήση 7 διαφορετικών επιφανειών από PVC τις οποίες έβαφαν με πινέλο, ως υπόστρωμα, τοποθέτησαν σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες 10 ναυπλίου σε 20ml τεχνητό θαλασσινό νερό. Τα αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της L(S/V)50. Η τοξικότητα που μετρήθηκε με τη συγκεκριμένη μέθοδο συμβάλλει στην αξιολόγηση του βαθμού ρύπανσης του υδάτινου μέσου (γλυκά, αλμυρά και υπεράλμυρα νερά). Οι Castritsi-Catharios *et al.* (2007) τροποποίησαν τη μέθοδο ώστε να γίνει ακριβέστερη και ταχύτερη. Χρησιμοποιήθηκαν τροποποιημένες σύριγγες των 50 ml (με ανοιχτή την ανώτερη επιφάνειά τους). Στον ανοιχτό κύλινδρο της σύριγγας τοποθετήθηκε υφαλόχρωμα και το έμβολο αφαιρέθηκε από την αντίθετη πλευρά και διαχωρίστηκε από τον κύλινδρο. Ως αποτέλεσμα, το έμβολο βάφτηκε με ακρίβεια και το υπόλοιπο υφαλόχρωμα παρέμεινε στα τοιχώματα της ανοιχτής σύριγγας (Εικ. 7).



**Εικόνα 7:** Τροποποιημένες σύριγγες βαμμένες με υφαλόχρωμα (Castritsi-Catharios *et al.* 2007)

Ύστερα από 24h και αφού το υφαλόχρωμα είχε στεγνώσει, διαφορετικοί όγκοι τεχνητού θαλασσινού νερού (5-30ml) προστέθηκαν στις σύριγγες, που καλύφθηκαν με

parafilm και τοποθετήθηκαν στους 25°C για 24 h ώστε τα τοξικά συστατικά να διαλυθούν στο νερό. Ο έλεγχος τοξικότητας έγινε σε καθαρές σύριγγες ή σε multiwells που περιείχαν διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων. Ο αριθμός των πειραματόζων που προστέθηκαν σε κάθε δείγμα ήταν 2 ναύπλιοι / ml διαλύματος, στους 25°C για 24 h. Ο αριθμός των νεκρών ναυπλίων μετρήθηκε με τη βοήθεια στερεοσκοπίου. Η ακρίβεια της μεθόδου επαληθεύτηκε με Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM), με τη βοήθεια της οποίας μετρήθηκε το πάχος της βαμμένης επιφάνειας των δίσκων.

Ο Okamura (2012) χρησιμοποίησε υφαλοχρώματα του εμπορίου για να μελετήσει την τοξικότητά τους με τη μέθοδο του περιστρεφόμενου κυλίνδρου. Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι τυποποιημένη και επιτρέπει τον προσδιορισμό του ρυθμού απελευθέρωσης της βιοκτόνου ουσίας (ISO 2007) στα υφαλοχρώματα νέας γενιάς. Περιλαμβάνει έναν κύλινδρο ο οποίος έχει επιστρωθεί με υφαλόχρωμα και περιστρέφεται μέσα σε τεχνητό θαλασσινό νερό. Από το τοξικό διάλυμα που προέκυψε απομονώθηκαν οι οργανικές ενώσεις (με στήλη ODS) και ακολούθησαν πειράματα ελέγχου τοξικότητας σε multiwells με το φωσφορίζον βακτήριο *Photobacterium leiognathi* (μέθοδος ToxScreen-2 test, Check Light, Israel), το διάτομο *Skeletonema costatum* (μέθοδος κατά ISO 1995) και το καρκινοειδές *Artemia salina* (μέθοδος Artoxkit M, Microbiotest Inc., Belgium). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η *Artemia salina* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο πειραματόζωο στην τοξικότητα των δειγμάτων.

#### 1.3.4.2 Έλεγχος τοξικότητας χημικών ουσιών (ανόργανων & οργανικών)

Εκτός από τη μελέτη της τοξικότητας υφαλοχρωμάτων σε οργανισμούς, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν έρευνες που μελετούν την επίδραση μεμονωμένων

χημικών ουσιών ή συνδυασμού αυτών, όπως αντιρρυπαντικοί παράγοντες και βιοκτόνα (π.χ. TBT και Irgarol), καθώς και τοξικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται στα υφαλοχρώματα (χλωρίδια του κασσίτερου, διοξικός διβουτυλοκασσίτερος και βαρέα μέταλλα όπως κάδμιο και εξασθενές χρώμιο) (Okamura *et al.* 2000, Hadjispyrou *et al.* 2001, Voulvoulis *et al.* 2002, Panagoula *et al.* 2002, Dimitriou *et al.* 2003).

Οι Hadjispyrou *et al.* (2001) μελέτησαν τα επίπεδα βιοσυσσώρευσης οργανοκασιτερικών ενώσεων και βαρέων μετάλλων (κασσίτερος, κάδμιο, χρώμιο) και συνδυασμού αυτών στην *Artemia franciscana*. Στην περίπτωση όπου ελέγχθηκε η τοξικότητα βαρέων μετάλλων, τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε multiwells (10 ναύπλιοι / 5 ml τοξικού διαλύματος) και τα αποτελέσματα εκτιμήθηκαν με τη μέτρηση της LC<sub>50</sub>. Αντίθετα, για τη μελέτη της τοξικότητας των οργανοκασιτερικών ενώσεων, μετά την έκθεση στον τοξικό παράγοντα, οι ναύπλιοι τοποθετήθηκαν σε κλίβανο ώστε να ληφθεί η ξηρή βιομάζα τους, από την οποία προσδιορίστηκε με Φασματομετρία Ατομικής Εκπομπής με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα Αργού (ICP- AES) η βιοσυσσώρευσή τους. Στην περίπτωση της συνεργιστικής δράσης οργανοκασιτερικών ενώσεων και βαρέων μετάλλων τονίστηκε η συνεργιστική δράση των εν λόγω ενώσεων, τα αποτελέσματα της οποίας ήταν περισσότερο τοξικά από τα θεωρητικά αναμενόμενα.

Ομοίως, οι Fernández-Alba *et al.* (2002) μελέτησαν την τοξικότητα επτά διαφορετικών αντιρρυπαντικών ουσιών, αυτούσιων ή σε συνδυασμό, στο φωσφορίζον βακτήριο *Vibrio fischeri* μετρώντας τη μείωση του φθορισμού του, το καρκινοειδές *Daphnia magna* με βάση το πρωτόκολλο του Daphtoxkit (Creasel, Belgium) και το μικροφύκος *Selenastrum capricornotum* με το πρωτόκολλο του Algaltoxkit (Creasel, Belgium), αποδεικνύοντας ότι η αλληλεπίδραση των τοξικών ουσιών δρα συνδυαστικά και αυξάνει δραστικά τις θανατηφόρες επιπτώσεις στα πειραματόζωα, ενώ η



αξιολόγηση της επίδρασης των ουσιών αυτών στο θαλάσσιο περιβάλλον είναι υψίστης σημασίας.

Οι Koutsaftis & Aoyama (2008) μελέτησαν την επίδραση τοξικών ουσιών (μεμονωμένων ή σε συνδυασμό) που χρησιμοποιούνται στα υφαλοχρώματα σε διαφορετικές θερμοκρασίες και αλατότητες στην *Artemia franciscana*.

Παρόμοιες έρευνες έχουν επικεντρωθεί στη μελέτη των τοξικών επιπτώσεων χημικών ουσιών σε *Artemia* (Bagshaw *et al.* 1986, Verriopoulos *et al.* 1986, Persoone and Castritsi-Catharios 1989, Pandey and MacRae 1991, Migliore *et al.* 1997, Koutsaftis and Aoyama 2007, Koutsaftis and Aoyama 2008).

Παρά το γεγονός ότι μόνο τα υφαλοχρώματα που περιείχαν βαρέα μέταλλα και βιοκτόνα θεωρούνται τοξικά, μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε υφαλοχρώματα που δε διαθέτουν βιοκτόνα (biocide-free antifouling paints) με πειραματόζωα όπως μακροφύκη, καρκινοειδή και βακτήρια, απέδειξαν το αντίθετο (Karlsson and Eklund 2004, Waterman *et al.* 2005, Karlsson *et al.* 2010).

Οι Alyuruk & Cavas (2013) πραγματοποίησαν πειράματα τοξικότητας για τα βιοκτόνα Diuron και Irgarol στην *Artemia salina*. Χρησιμοποιώντας κύστες του πειραματόζωου, τοποθέτησαν δέκα από αυτές σε 20μl τεχνητού θαλασσινού νερού στο οποίο προηγουμένως είχαν διαλύσει γνωστή συγκέντρωση του τοξικού παράγοντα και, ύστερα από 24 ώρες, προσδιόρισαν το ποσοστό εκκόλαψης των ναυπλίων και υπολόγισαν την EC50.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της τοξικότητας επτά υφαλοχρωμάτων του εμπορίου με τη μέθοδο των βαμμένων κυλίνδρων, η μελέτη της επίδρασης ποικίλων παραμέτρων, όπως η θερμοκρασία, η αλατότητα, η κίνηση και οι στρώσεις βαφής στην τοξικότητα και η σύγκριση των

αποτελεσμάτων με την τοξικότητα που προκύπτει από τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi-Catharios *et al.* 2007).

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Γενικά

Η πειραματική διαδικασία αποτελεί ακόμα μία τροποποιημένη μέθοδο που βασίζεται στην έρευνα των Persoone and Castritsi- Catharios (1989), O.B.I. 20040100346. Η βασική αρχή της μεθόδου είναι η μέτρηση της L(S/V)50 ύστερα από έκθεση 24 ή και 48 ωρών των ναυπλίων *Artemia franciscana*, σταδίου II-III σε διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων. Εφόσον τα υλικά που χρησιμοποιούνται είναι συγκεκριμένα και η επαναληψιμότητα είναι εφικτή, η ευαισθησία της μεθόδου θεωρείται υψηλή. Οι κύστεις *Artemia franciscana* που χρησιμοποιούνται (AF/F2006, MicroBioTests Inc.) βρίσκονται σε ξηρή μορφή και μπορούν να αποθηκευτούν στους 5°C (+/- 2°C) για τουλάχιστον 6 μήνες, χωρίς να χάσουν τη βιωσιμότητά τους.

### 2.2 Υλικά

#### 2.2.1 Υφαλοχρώματα

Τα υφαλοχρώματα που ελέγχθηκαν για την τοξικότητά τους στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία είναι τα εξής:

1. Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's
2. Hard racing, Hempel (76484)
3. Micron Extra, International
4. Advance, Premium self polishing antifouling, Boatcare
5. Endurance AntiF for power cruising, Boatcare
6. Professional AFP, Attiva Marine
7. Classic, Syntex
8. AntiF, Neotex

### 1. Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's

Το υφαλόχρωμα Biotin Antifouling F55 συνίσταται από χλωριωμένο βινύλιο, διαθέτει αυξημένη περιεκτικότητα σε Cu και είναι ελεύθερο κασσίτερου. Είναι σχεδιασμένο για ύφαλα πλοίων και το χρώμα που χρησιμοποιήθηκε για τη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία είναι το μπλε.

### 2. Hard racing, Hempel (76484)

Το υφαλόχρωμα Hard racing αποτελείται από οξείδιο του χαλκού (I), κολοφώνιο και διχλωρο-N-[(διμεθυαλινο)σουλφονυλοΦθορο-N-(ρ-τολυλο)μεθανοσουλφεναμίδιο]. Το χρώμα που χρησιμοποιήθηκε για τη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία είναι το μαύρο.

### 3. Micron Extra, International

Το υφαλόχρωμα Micron Extra αποτελείται από οξείδιο του χαλκού (I) 692g/L, διχλωφλουανίδη 16,1 g/L και κολοφώνιο. Το χρώμα που χρησιμοποιήθηκε για τη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία είναι το μπλε.

### 4. Advance, Premium self polishing antifouling, Boatcare

Το υφαλόχρωμα Advance συνίσταται από Θειοκυανικό χαλκό 400g/L, ξυλόλιο, κολοφώνιο, πυριθειόνη του ψευδαργύρου 40g/L. Το χρώμα που χρησιμοποιήθηκε για τη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία είναι το σκούρο ροζ.

#### 5. Endurance AntiF for power cruising, Boatcare

Το υφαλόχρωμα Endurance συνίσταται από ξυλόλιο, οξείδιο του χαλκού (I) 380 g/L, κολοφώνιο και εποξειδική ρητίνη. Αποτελεί σκληρό αντιρρυπαντικό μέχρι 70 κόμβους, κατάλληλο για ξηρά αγκυροβόλια, ακατάλληλο για επιφάνειες αλουμινίου. Το χρώμα που χρησιμοποιήθηκε για τη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία είναι το κόκκινο.

#### 6. Professional AFP, Attiva Marine

Το υφαλόχρωμα Professional AFP αποτελείται από οξείδιο του χαλκού (I), κολοφώνιο και υποξείδιο του χαλκού. Είναι ακατάλληλο για επιφάνειες αλουμινίου και το χρώμα που χρησιμοποιήθηκε για τη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία είναι το κόκκινο.

#### 7. Classic, Syntex

Το υφαλόχρωμα Classic συνίσταται από συνθετικές ρητίνες, βάσης χαλκού, ξυλόλιο, γλωροπαραφίνες, υποξείδιο του χαλκού (36,46%) και διγλωφλουανίδα (2,8%), ενώ είναι ελεύθερο κασσίτερου.

#### 8. AntiF, Neotex

Για το υφαλόχρωμα AntiF δεν υπάρχουν διαθέσιμες πληροφορίες από τον κατασκευαστή. Το χρώμα που χρησιμοποιήθηκε είναι το μπλε.

### 2.2.2 Εργαστηριακό υλικό

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την εν λόγω πειραματική διαδικασία είναι τα εξής:

- Κύστες *Artemia franciscana* (AF/F2006, MicroBioTests Inc)
- Συμπυκνωμένο διάλυμα αλάτων: Ένα φιαλίδιο που περιέχει NaCl και 6 φιαλίδια των 15ml με συμπυκνωμένο διάλυμα των εξής αλάτων: KCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, τα οποία χρησιμοποιούνται για την παρασκευή 1 L τεχνητού θαλασσινού νερού, για την προετοιμασία της εκκόλαψης των κύστεων και της αραίωσης του τοξικού διαλύματος (MicroBioTests Inc.). Κάθε λίτρο χρησιμοποιείται σε 6 δοκιμές.
- Τρυβλία Petri διαμέτρου 5cm με καπάκι που χρησιμοποιούνται για την εκκόλαψη των κύστεων *Artemia franciscana*.
- Multiwell test plates με 24 (4x6) πηγάδια (wells) των 3ml που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο τοξικότητας. .
- Μικροπιπέτες πολυαιθυλενίου για τη μεταφορά των κύστεων *Artemia franciscana*
- Αλατόμετρο
- Θάλαμοι ρυθμιζόμενης θερμοκρασία
- Αναδευτήρας
- Ψηφιακό παχύμετρο ακριβείας

### 2.3 Μέθοδοι

Για τη διεκπεραίωση της πειραματικής διαδικασίας πραγματοποιήθηκαν δοκιμές με βάση το πρωτόκολλο που περιγράφεται στο εγχειρίδιο ARTOXKIT TM (Artemia Toxicity Screening Test for Estuarine and Marine Waters, Standard Operational Procedure) της εταιρίας MicroBioTests Inc.

Αρχικά, μελετήθηκε η τοξικότητα κάθε υφαλοχρώματος από αραιώσεις του τοξικού διαλύματος που προκύπτουν από τη βαμμένη επιφάνεια (8cm) στο πειραματόζωο *Artemia franciscana*. Ύστερα, στα υφαλοχρώματα που παρουσίασαν τοξικότητα στα αρχικά πειράματα, μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας (5, 10, 15, 25 ° C) και της αλατότητας (20, 25, 30, 35 ‰). Ακόμη, μελετήθηκε η επίδραση της διπλής στρώσης βαφής σε σχέση με τη μονή στρώση και πραγματοποιήθηκε συσχέτιση των αποτελεσμάτων με το βάρος. Επιπλέον, μελετήθηκαν και συγκρίθηκαν η στατική και δυναμική φάση, όπου ο παράγοντας που μελετάται είναι η επίδραση της κίνησης στην τοξικότητα του δείγματος. Τέλος, ορισμένα υφαλοχρώματα χρησιμοποιήθηκαν για έλεγχο τοξικότητας με τη χρήση της μεθόδου της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi-Catharios *et al.* 2007) με σκοπό την εύρεση τυχόν διαφορών στην τοξικότητα μεταξύ των δυο μεθόδων.

Το πάχος και βάρος της βαμμένης επιφάνειας του κυλίνδρου μετρήθηκαν με σκοπό τον έλεγχο της ακρίβειας της μεθόδου, ενώ κατά τη διάρκεια διεξαγωγής των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε η χρωστική Rose Bengal με σκοπό τον προσδιορισμό της επίδρασής της στο πειραματόζωο *Artemia franciscana*.

### 2.3.1 Προετοιμασία τεχνητού θαλασσινού νερού (Standard Seawater)

Για την προετοιμασία του τεχνητού θαλασσινού νερού (Artificial Seawater ASTM medium ή Standard Seawater) χρησιμοποιήθηκε συμπυκνωμένο διάλυμα αλάτων της εταιρίας MicrobioTests Inc. Το εν λόγω διάλυμα, δίνει τη δυνατότητα παραγωγής 1L τεχνητού θαλασσινού νερού με καθορισμένες αναλογίες θρεπτικών συστατικών και αλατότητα 35ppt. Για την προετοιμασία χρησιμοποιήθηκαν μια ογκομετρική φιάλη 1L, vortex, 1L απεσταγμένο νερό και τα συστατικά του Standard Seawater τα οποία παρέχονται σε φιαλίδια από την εταιρία. Σε ογκομετρική φιάλη 1L με 800ml dH<sub>2</sub>O προστίθενται κατά σειρά τα αντίστοιχα συστατικά και ακολουθεί vortex. Ύστερα, προστίθενται 200ml dH<sub>2</sub>O και ακολουθεί ομογενοποίηση του μίγματος.

Εφόσον το τελικό διάλυμα έχει αλατότητα 35ppt, για να μελετήσουμε περισσότερες από μία αλατότητες κατά την πειραματική διαδικασία απαιτούνται αντίστοιχες αραιώσεις του μίγματος με dH<sub>2</sub>O. Οι αραιώσεις που πραγματοποιήθηκαν, ανάλογα με την επιθυμητή αλατότητα σε κάθε περίπτωση, παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

**Πίνακας 3:** Αραιώσεις για την προετοιμασία 100 ml τεχνητού θαλασσινού νερού στις αντίστοιχες αλατότητες.

Αραιώσεις για προετοιμασία 100 ml τεχνητού θαλασσινού νερού σε αλατότητα μικρότερη των 35 ppt		
Αλατότητα (ppt)	Standard Seawater (ml)	dH <sub>2</sub> O (ml)
5	14	86
25	71	29
35	100	0

Σε κάθε περίπτωση η αλατότητα μετρήθηκε και με πυκνόμετρο ώστε να διασφαλιστεί η ακρίβεια της πειραματικής διαδικασίας.



### 2.3.2 Εκκόλαψη κύστεων *Artemia franciscana*

Για την εκκόλαψη των κύστεων *Artemia franciscana* ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο που περιγράφεται στο Artoxkit microbiotest ως Standard Operational Procedure. Συγκεκριμένα, σε τρυβλία petri διαμέτρου 5cm προστέθηκαν 10ml τεχνητού θαλασσινού νερού και κύστεις του πειραματόζωου. Το petri καλύφθηκε με το καπάκι του και ακολούθησε εκκόλαψη κάτω από συνεχή φωτισμό (3000-4000 lux) για 24 ώρες.

### 2.3.3 Βαφή των επιφανειών

Με σκοπό τη χρησιμοποίηση μιας εύκολης, πρακτικής και οικονομικής μεθόδου για τον έλεγχο της τοξικότητας των υφαλοχρωμάτων, για την παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν μικροί κύλινδροι (sticks), με βάση τις μεθόδους ISO 15181-1 και 15181-2. Η νέα αυτή μέθοδος αφορά την επίστρωση επιλεγμένων επιφανειών των μικρών αυτών κυλίνδρων (sticks) με υφαλόχρωμα. Συγκεκριμένα, το μήκος της βαμμένης επιφάνειας ορίζεται ως 8 cm.

Για κάθε δοκιμασία χρησιμοποιήθηκαν 2 κύλινδροι, ένας από τους οποίους χρησίμευσε για τον έλεγχο των υφαλοχρωμάτων και ο άλλος ως μάρτυρας (άβαφη επιφάνεια). Κάθε κύλινδρος τοποθετήθηκε από την κορυφή του (επιφάνεια που θα παραμείνει άβαφη) σε καπάκι δοκιμαστικού σωλήνα, στον οποίο προηγουμένως είχε δημιουργηθεί οπή ίδιας διαμέτρου με αυτή του κυλίνδρου. Ύστερα, βυθίστηκε απευθείας, με αργή και σταθερή κίνηση, στο υφαλόχρωμα, όπου παρέμεινε για ένα δευτερόλεπτο, αφαιρέθηκε με τον ίδιο τρόπο αυτό και τοποθετήθηκε κάθετα σε θερμοκρασία δωματίου για 24ώρες, μέχρι αυτό να στεγνώσει.

#### 2.3.4 Προσδιορισμός πάχους βαμμένης επιφάνειας

Γνωρίζοντας ήδη ότι η διάμετρος κάθε κυλίνδρου είναι 4mm, αφού το υφαλόχρωμα στέγνωσε, μετρήθηκε η διάμετρος του (D) στη βαμμένη περιοχή με τη βοήθεια ενός ηλεκτρονικού παχύμετρου (Caliper). Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, υπολογίστηκε η βαμμένη επιφάνεια (coated area, S) σε σχέση με το αντίστοιχο βαμμένο μήκος (coated length, L) με βάση την παρακάτω σχέση:

$$\text{Βαμμένη επιφάνεια} = \text{Βαμμένο μήκος} \times \text{Περίμετρος} \text{ ή } S = L \times \pi D$$

Σε κάθε περίπτωση θεωρήθηκε απαραίτητο να διευκρινιστεί κατά πόσο η βαμμένη επιφάνεια είναι ομοιόμορφη και η ποσότητα του υφαλοχρώματος που επιστρώνεται κάθε φορά είναι σταθερή ώστε να εξασφαλίζεται ακρίβεια στην πειραματική διαδικασία. Έτσι, η διάμετρος των βαμμένων κυλίνδρων μετρήθηκε σε τρία διαφορετικά σημεία με σκοπό να προσδιοριστεί το πάχος της βαμμένης επιφάνειας. Αντίστοιχα, για τον ίδιο λόγο σε ορισμένες δοκιμές μετρήθηκε το βάρος της βαμμένης επιφάνειας, διαδικασία η οποία βοηθά ιδιαίτερα στη σύγκριση των αποτελεσμάτων τοξικότητας μεταξύ της μονής και διπλής στρώσης υφαλοχρώματος.

#### 2.3.5 Δημιουργία τοξικού διαλύματος

Για τη διαδικασία αυτή χρησιμοποιήθηκαν 2 δοκιμαστικοί σωλήνες (test tubes) μήκους 11cm και διαμέτρου 15mm στους οποίους προστέθηκαν από 10 ml τεχνητού θαλασσινού νερού (Standard Seawater). Ο βαμμένος κύλινδρος και ο μάρτυρας τοποθετήθηκαν στον αντίστοιχο δοκιμαστικό σωλήνα και σφραγίστηκαν με τη βοήθεια των καπακιών που είχαν ήδη στερεωθεί σε αυτά. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν για επώαση στους 25°C στο σκοτάδι για 24 ώρες (Εικ. 8).



**Εικόνα 8 :** Δημιουργία τοξικού διαλύματος

#### 2.3.6 Αραίωση του τοξικού διαλύματος

Το τοξικό διάλυμα που προέκυψε από τη βαμμένη επιφάνεια (8cm) αραιώθηκε σε συγκεντρώσεις 100%- 50%- 25%- 12,5% και 6,25%. Κάθε διάλυμα παρασκευάζεται αραιώνοντας το προηγούμενο στο μισό με τεχνητό θαλασσινό νερό (εκτός από το αρχικό διάλυμα 100%). Χρησιμοποιούνται 5 δοκιμαστικοί σωλήνες και οι αραιώσεις λαμβάνουν χώρα ως εξής:

- 5ml τεχνητού θαλασσινού νερού προστίθενται στους δοκιμαστικούς σωλήνες με 2, 3, 4 και 5.
- 5 ml τοξικού διαλύματος (100%) αφαιρούνται από το δοκιμαστικό σωλήνα ο οποίος περιείχε για 24h το stick με το υφαλόχρωμα και προστίθενται στο δοκιμαστικό σωλήνα 1.

- Χρησιμοποιώντας την ίδια πιπέτα, μεταφέρονται 5 ml από τον 1<sup>ο</sup> δοκιμαστικό σωλήνα στο 2<sup>ο</sup>, ενώ ακολουθεί ξέπλυμα της πιπέτας, σφράγιση του σωλήνα και ισχυρή ανακίνηση (αραίωση 50%).

Η ίδια διαδικασία ακολουθείται για να πραγματοποιηθούν οι υπόλοιπες αραιώσεις:

- 5 ml από το 2<sup>ο</sup> δοκιμαστικό σωλήνα μεταφέρονται στον 3<sup>ο</sup> (αραίωση 25%)
- 5 ml από το 3<sup>ο</sup> δοκιμαστικό σωλήνα μεταφέρονται στον 4<sup>ο</sup> (αραίωση 12,5%)
- 5 ml από το 4<sup>ο</sup> δοκιμαστικό σωλήνα μεταφέρονται στον 5<sup>ο</sup> (αραίωση 6,25%)

Οι αραιώσεις που αντιστοιχούν σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.

**Πίνακας 4:** Αραιώσεις του τοξικού διαλύματος

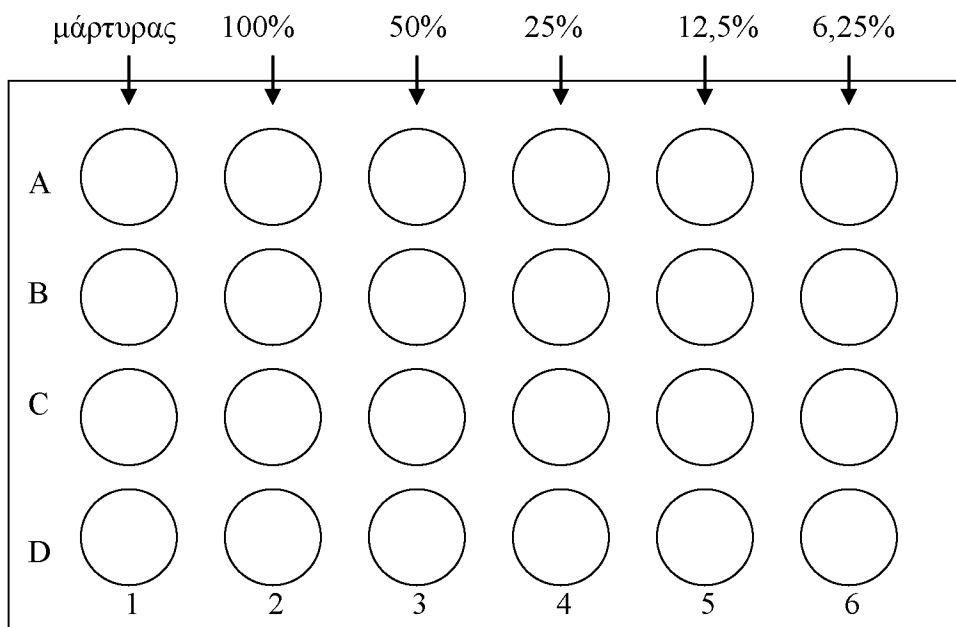
<b>Αραιώσεις του τοξικού διαλύματος</b>	
<b>Δοκιμαστικός σωλήνας</b>	<b>Συγκέντρωση (%)</b>
1	100
2	50
3	25
4	12,5
5	6,25

Ύστερα από τα προπειράματα και όπου κρίθηκε αναγκαίο, τα πειράματα επαναλήφθηκαν σε στενότερη κλίμακα συγκεντρώσεων με σκοπό τον προσδιορισμό της LC<sub>50</sub>.

### 2.3.7 Έλεγχος τοξικότητας με ναυπλίους *Artemia franciscana*

Ο έλεγχος τοξικότητας των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε multiwell test plates με 6 x 4 πηγάδια (cups). Σε 3 από τα 4 πηγάδια της πρώτης στήλης του multiwell προστίθεται 1ml από το δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε το μάρτυρα (άβαφο κύλινδρο). Ομοίως, στις επόμενες στήλες και συνεχίζοντας προς τα δεξιά, ακολουθείται

η ίδια διαδικασία για τους υπόλοιπους δοκιμαστικούς σωλήνες, με σειρά μειωμένης συγκέντρωσης. Η διαδικασία απεικονίζεται λεπτομερώς στην Εικ. 9.



**Εικόνα 9:** Αντιστοίχιση αραιωμένων δειγμάτων με τις θέσεις στο multiwell. Οι ρυθμοί αφορούν την αραιώση που αντιστοιχεί σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα.

Στις θέσεις B, C και D κάθε στήλης μεταφέρθηκαν από 10 ναύπλιοι *Artemia franciscana* 24 ωρών (στάδιο II-III). Με τον τρόπο αυτό πραγματοποιούνται 3 επαναλήψεις για κάθε δοκιμή εξασφαλίζοντας ένα στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Το multiwell καλύφθηκε με το καπάκι του ώστε να μην εξατμιστούν τα δείγματα και ακολούθησε επώαση στους 25°C σε σκοτάδι για 24 ώρες και 48ώρες. Ανά 24h προσδιορίστηκε η θνησιμότητα μετρώντας τους νεκρούς ναυπλίους σε κάθε πηγάδι.

### 2.3.8 Καταγραφή αποτελεσμάτων

Στις 24 και 48 ώρες έκθεσης των ναυπλίων *Artemia franciscana* στο τοξικό διάλυμα πραγματοποιήθηκε καταγραφή των νεκρών και ζωντανών πειραματόζωων σε

κάθε πηγάδι. Επίσης, στις 48 ώρες χρησιμοποιήθηκε η χρώση Rose Bengal (Sigma Aldrich) ώστε να καθίσταται ευκολότερος ο διαχωρισμός των νεκρών από τους ζωντανούς ναυπλίους.

#### 2.4 Έλεγχος τοξικότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες και αλατότητες

Με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης δυο βασικών αβιοτικών παραμέτρων, η διαδικασία των αραιώσεων από τη μεγαλύτερη βαμμένη επιφάνεια (100%- 50%- 25%- 12,5% και 6,25%) επαναλήφθηκε αλλάζοντας κάθε φορά τη θερμοκρασία ή την αλατότητα του τοξικού διαλύματος. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση της μελέτης επίδρασης της θερμοκρασίας τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε τεχνητό θαλασσινό νερό αλατότητας 35 ‰ ενώ οι θερμοκρασίες που ελέγχθηκαν είναι 5, 10, 15 και 25 °C. Κατά την πειραματική διαδικασία, ο βαμμένος κύλινδρος, βουτηγμένος στο δοκιμαστικό σωλήνα με το τεχνητό θαλασσινό νερό, τοποθετήθηκε στην αντίστοιχη θερμοκρασία για 24 ώρες. Μετά τις αραιώσεις του αρχικού δείγματος, τα multiwells τοποθετήθηκαν επίσης στην ίδια θερμοκρασία μέχρι την ολοκλήρωση του πειράματος.

Από την άλλη πλευρά, κατά τη μελέτη της επίδρασης της αλατότητας η θερμοκρασία κατά τη διάρκεια των πειραμάτων παρέμεινε σταθερή στους 25 °C, ενώ οι αλατότητες του τεχνητού θαλασσινού νερού που μελετήθηκαν είναι 20, 25, 30 και 35‰. Η συγκεκριμένη σειρά πειραμάτων πραγματοποιήθηκε για τα υφαλοχρώματα που εμφάνισαν υψηλή τοξικότητα στα προπειράματα και για ένα μη τοξικό υφαλόχρωμα.

#### 2.5 Έλεγχος τοξικότητας σε διπλή στρώση υφαλοχρώματος.

Η διαδικασία ελέγχου τοξικότητας με τη μέθοδο των αραιώσεων επαναλήφθηκε με κυλίνδρους οι οποίοι βύπησαν δύο φορές με σκοπό τη δημιουργία διπλής στρώσης

υφαλοχρώματος και τον έλεγχο επίδρασης του πάχους της βαμμένης επιφάνειας. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τα αρχικά αποτελέσματα τοξικότητας από μονή στρώση υφαλοχρώματος και συσχετίστηκαν με το βάρος και το πάχος της βαμμένης επιφάνειας που μετρήθηκε κάθε φορά.

## 2.6 Έλεγχος τοξικότητας σε στατική και δυναμική φάση

Στη συγκεκριμένη περίπτωση μελετήθηκε η επίδραση της κίνησης στην τοξικότητα του δείγματος. Προκείμενου να διαπιστωθεί αν υπάρχει διαφοροποίηση στην τοξικότητα των υφαλοχρωμάτων όταν αυτά μένουν σταθερά και όταν κινούνται, έγιναν δύο σειρές πειραμάτων τοξικότητας. Πιο αναλυτικά, τα πειράματα επαναλήφθηκαν με τη μέθοδο των αραιώσεων με 15 ώρες στέγνωμα του υφαλοχρώματος, σε στατική φάση (όμοια με τα προπειράματα) ή δυναμική φάση, όπου οι δοκιμαστικοί σωλήνες με τον βαμμένο κύλινδρο και το τεχνητό θαλασσινό νερό τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ανάδευσης (200 rpm και 25°C) για 24 ώρες. Η διαδικασία ελέγχου τοξικότητας και στις δύο περιπτώσεις ήταν ακριβώς ίδια και τα αποτελέσματα που προέκυψαν συγκρίθηκαν μεταξύ τους ώστε να ληφθούν συμπεράσματα για τη σύσταση και τον τρόπο δράσης των υφαλοχρωμάτων.

## 2.7 Έλεγχος τοξικότητας με τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi-Catharios *et al.* 2007)

Όλα τα υφαλοχρώματα χρησιμοποιήθηκαν για έλεγχο τοξικότητας με τη χρήση της μεθόδου της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi-Catharios *et al.* 2007) με σκοπό την εύρεση τυχόν διαφορών στην τοξικότητα μεταξύ των δυο διαφορετικών μεθόδων και την αξιολόγηση της ακρίβειας της μεθόδου των βαμμένων κυλίνδρων.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1 Πάχος βαμμένης επιφάνειας

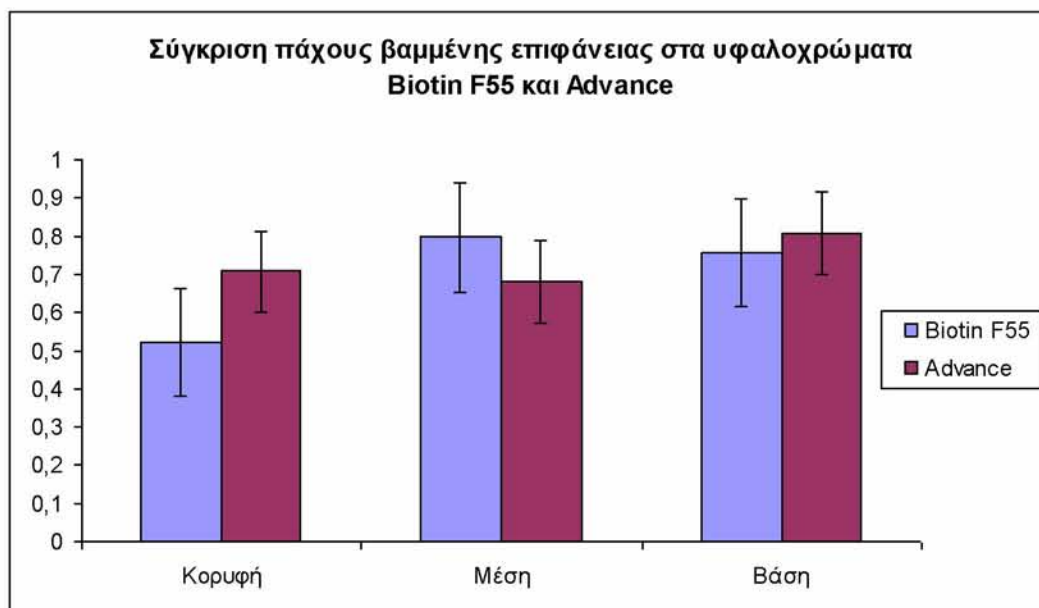
Για τη διαδικασία επιλέχθηκαν τυχαία δύο από τα υφαλοχρώματα που μελετήθηκαν και τρεις βαμμένες επιφάνειες των 8 cm. Με τη βοήθεια ενός ψηφιακού παχύμετρου ακριβείας μετρήθηκε η διάμετρος του εκάστοτε κυλίνδρου (άβαφη επιφάνεια) και ύστερα το πάχος της βαμμένης επιφάνειας σε τρία διαφορετικά σημεία του (αρχή, μέση και τέλος της βαμμένης επιφάνειας του κυλίνδρου). Τα παρακάτω δεδομένα παρουσιάζουν τις διαφορές που εμφανίστηκαν σε κάθε περίπτωση (Πιν. 5).

**Πίνακας 5:** Πάχος βαμμένης επιφάνειας δύο υφαλοχρωμάτων (mm)

<b>Biotin F55, Person's</b>		<b>Advance, Boatcare</b>
<b>Κορυφή</b>	0,58	0,61
	0,47	0,66
	0,51	0,85
M.O.	0,52	0,707
<b>Μέση</b>	0,47	0,66
	0,81	0,62
	0,77	0,73
M.O.	0,797	0,68
<b>Βάση</b>	0,51	0,85
	0,71	0,83
	0,69	0,91
M.O.	0,757	0,807
Τυπική Απόκλιση	0,141814	0,107406



Στο Σχήμα 1 παρουσιάζεται διαγραμματικά η σύγκριση του πάχους των βαμμένων επιφανειών για τα υφαλοχρώματα Biotin F55 και Advance, Boatcare, όπου φαίνεται ξεκάθαρα ότι με το συγκεκριμένο τρόπο βαφής το πάχος επιφάνειας δεν είναι σταθερό.



**Σχήμα 1:** Σύγκριση πάχους επιφανειών.

### 3.2 Αρχικά πειράματα ελέγχου τοξικότητας

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των αρχικών πειραμάτων ελέγχου τοξικότητας για όλα τα υφαλοχρώματα που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη. Επίσης, για τα τοξικά υφαλοχρώματα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ελέγχου επίδρασης θερμοκρασίας και αλατότητας στην τοξικότητα του υφαλοχρώματος. Σε κάθε περίπτωση αναφέρεται ο συγκεντρωτικός πίνακας με τις θνησιμότητες που προέκυψαν από συνολικά 30 ναυπλίους για κάθε αραίωση, η θνησιμότητα των μαρτύρων καθώς και η διαγραμματική απεικόνιση των

αποτελεσμάτων % θνησιμότητας σε σχέση με την εκάστοτε αραιώση για 24 και 48 ώρες έκθεσης των πειραματόζων στους τοξικούς παράγοντες.

### 3.2.1 Υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's

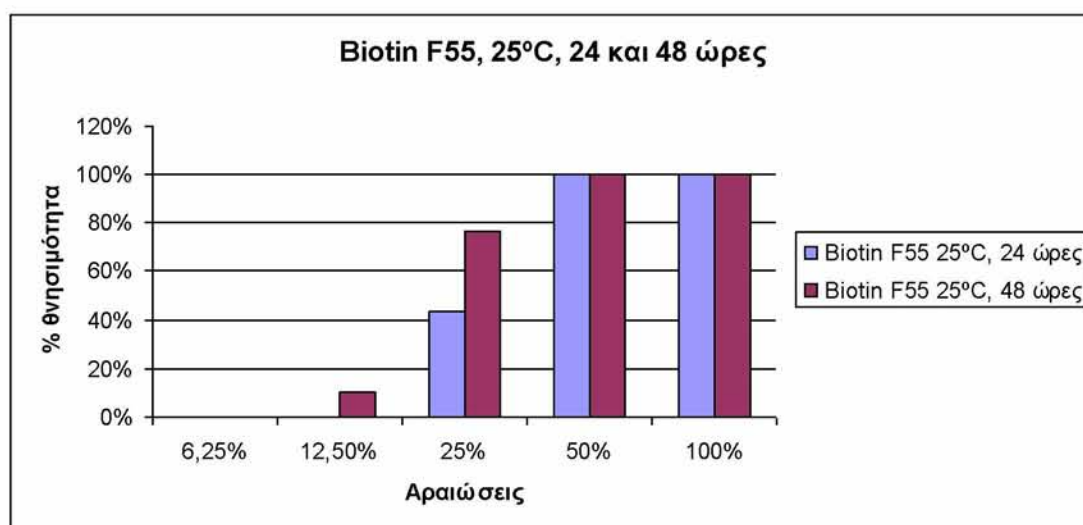
#### 3.2.1.1 Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰.

Στον Πίνακα 6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ 2) για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's.

**Πίνακας 6:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασία 25°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0%	0%
12,5%	0%	10%
25%	43,33%	76,67%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



**Σχήμα 2:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's

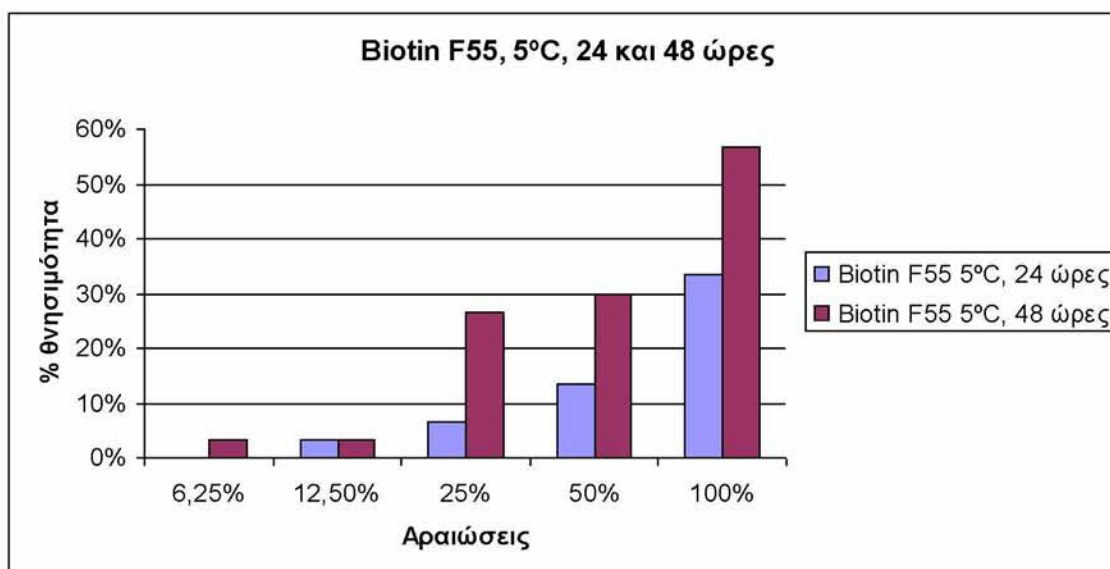
### 3.2.1.2 Έλεγχος τοξικότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες

#### 3.2.1.2.1 Θερμοκρασία 5°C

Στον Πίνακα 7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 3) για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's σε θερμοκρασία 5°C.

**Πίνακας 7:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασία 5°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0%	3,33%
12,5%	3,33%	3,33%
25%	6,67%	26,67%
50%	13,33%	30%
100%	33,33%	56,67%



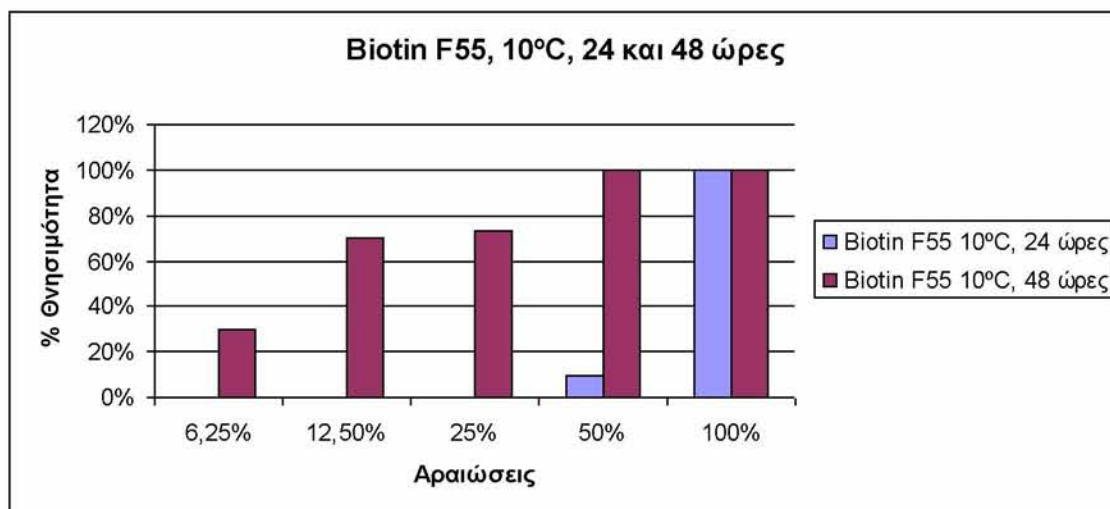
**Σχήμα 3:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασία 5°C.

### 3.2.1.2.2 Θερμοκρασία 10°C

Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 4) για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's σε θερμοκρασία 10°C.

**Πίνακας 8:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασία 10°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0%	30%
12,5%	0%	70%
25%	0%	73,33%
50%	10%	100%
100%	100%	100%



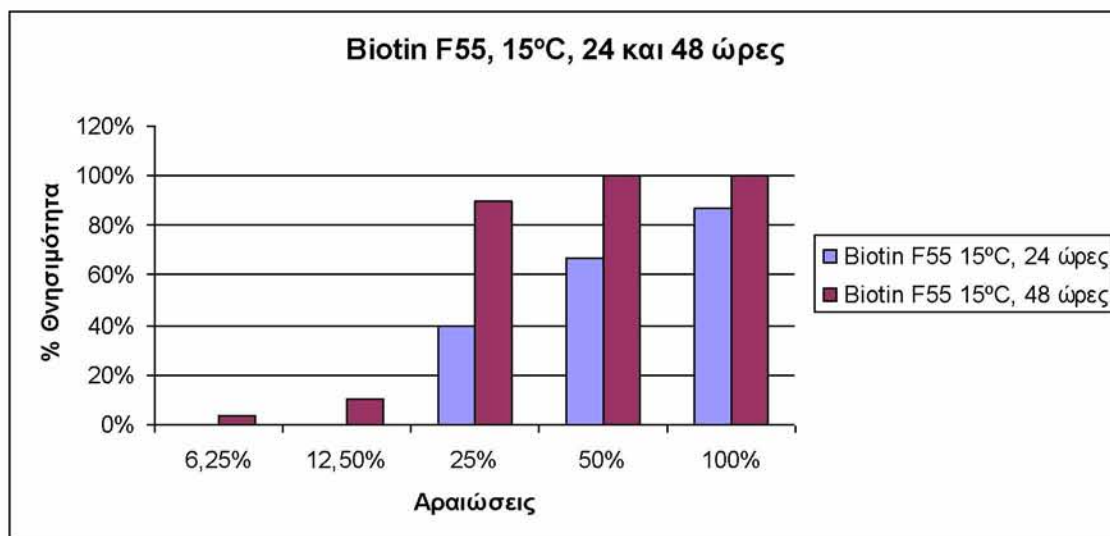
**Σχήμα 4:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασία 10°C.

### 3.2.1.2.3 Θερμοκρασία 15°C

Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 5) για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's σε θερμοκρασία 15°C.

**Πίνακας 9:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασία 15°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0%	3,33%
12,5%	0%	10%
25%	40%	90%
50%	66,67%	100%
100%	86,67%	100%



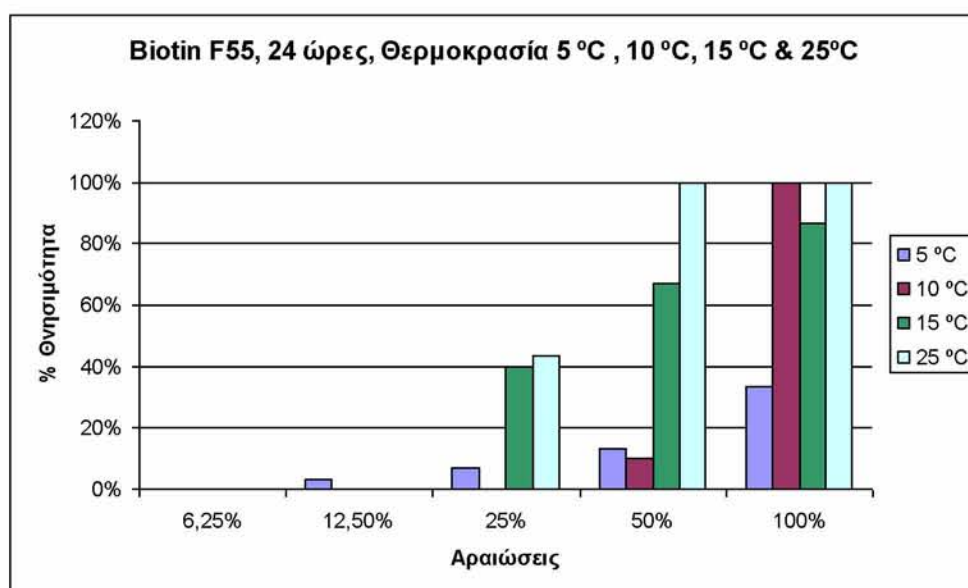
**Σχήμα 5:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασία 15°C.

### 3.2.1.2.4. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα θερμοκρασίας

Στους Πίνακες 10 και 11 παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας και τα αντίστοιχα διαγράμματα (Σχ. 6 και 7) που αφορούν την επίδραση της θερμοκρασίας στο υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's.

**Πίνακας 10:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

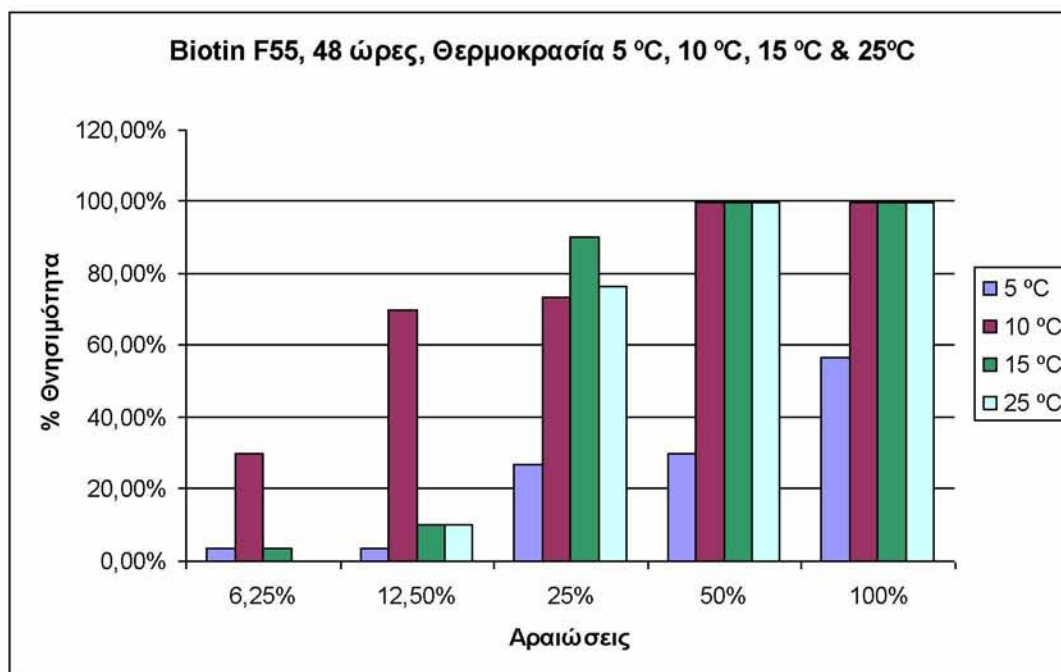
Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	5 °C	10 °C	15 °C	25 °C
6,25%	0%	0%	0%	0%
12,5%	3,33%	0%	0%	0%
25%	6,67%	0%	40%	43,33%
50%	13,33%	10%	66,67%	100%
100%	33,33%	100%	86,67%	100%



**Σχήμα 6:** % θνησιμότητα 24 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

**Πίνακας 11:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	5 °C	10 °C	15 °C	25 °C
<b>6,25%</b>	3,33%	30%	3,33%	0%
<b>12,5%</b>	3,33%	70%	10%	10%
<b>25%</b>	26,67%	73,33%	90%	76,67%
<b>50%</b>	30%	100%	100%	100%
<b>100%</b>	56,67%	100%	100%	100%



**Σχήμα 7:** % θνησιμότητα 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

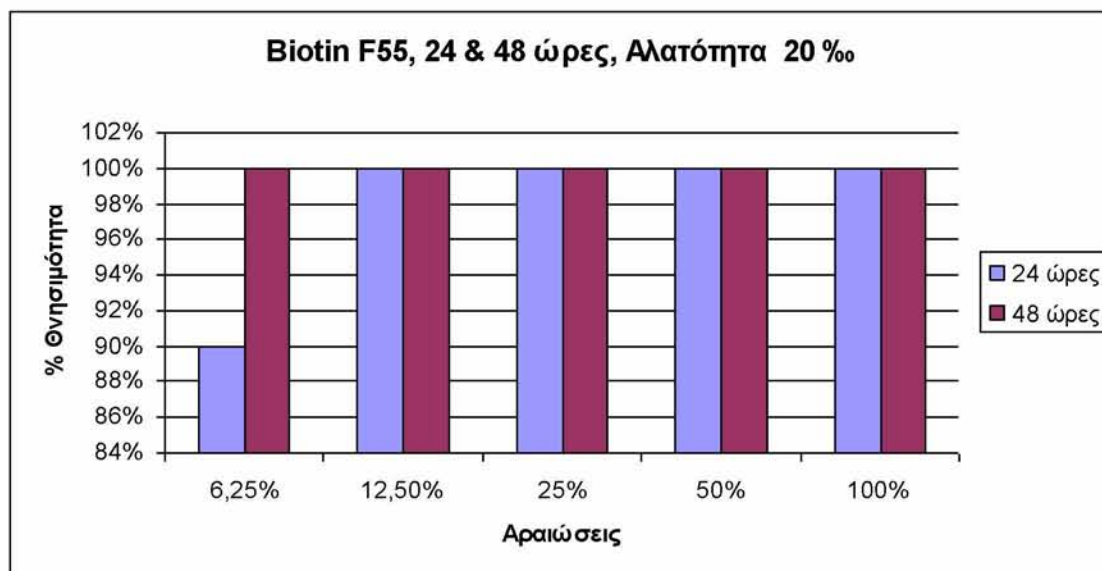
### 3.2.1.3. Πειράματα ελέγχου τοξικότητας σε διαφορετικές αλατότητες

#### 3.2.1.3.1 Αλατότητα 20‰

Στον Πίνακα 12 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 8) για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's σε αλατότητα 20 ‰.

**Πίνακας 12:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αλατότητα 20 ‰

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	90%	100%
12,5%	100%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



**Σχήμα 8:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αλατότητα 20 ‰.

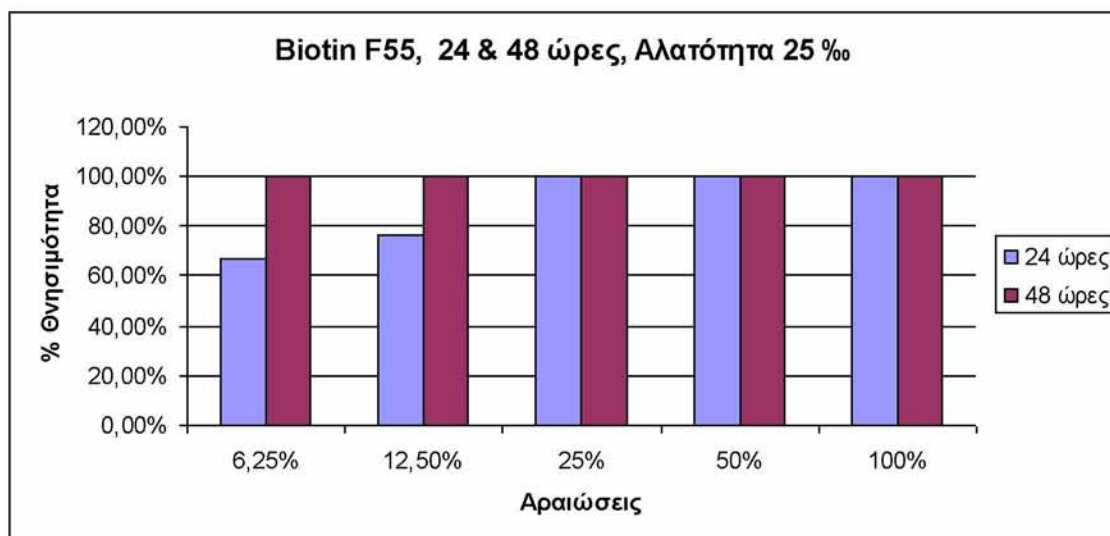


### 3.2.1.3.2 Αλατότητα 25‰

Στον Πίνακα 13 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 9) για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's σε αλατότητα 25 ‰.

**Πίνακας 13:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αλατότητα 25 ‰

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	66,67%	100%
12,5%	76,67%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



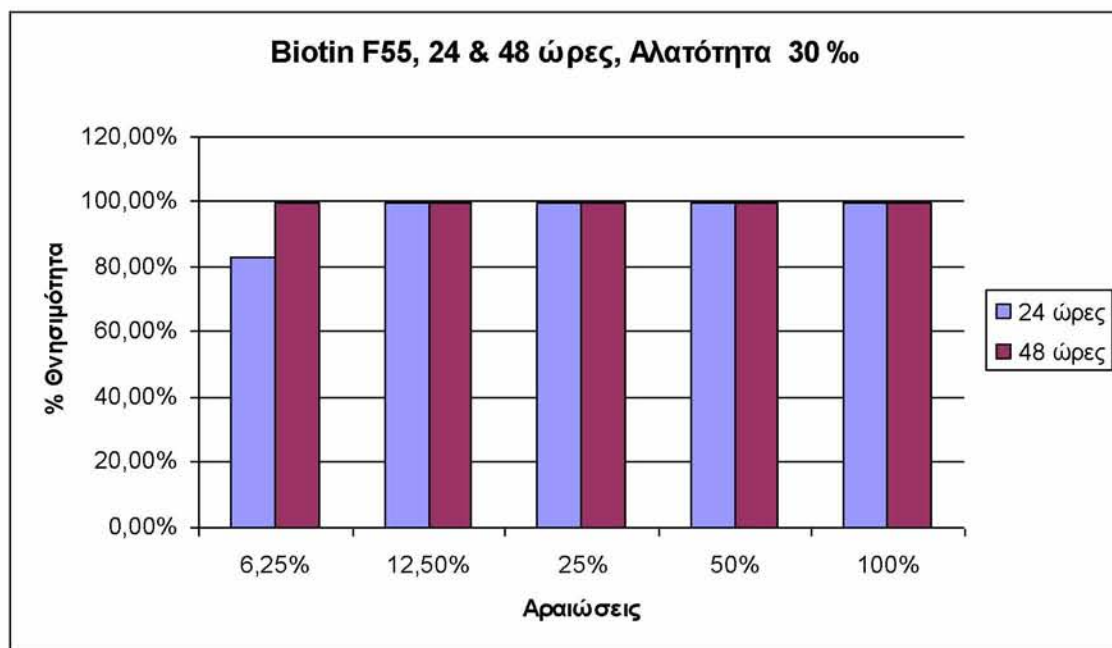
**Σχήμα 9:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αλατότητα 25 ‰.

### 3.2.1.3.3 Αλατότητα 30%

Στον Πίνακα 14 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 10) για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's σε αλατότητα 30 %.

**Πίνακας 14:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αλατότητα 30 %.

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	83,33 %	100%
12,5%	100%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



**Σχήμα 10:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αλατότητα 30 %.

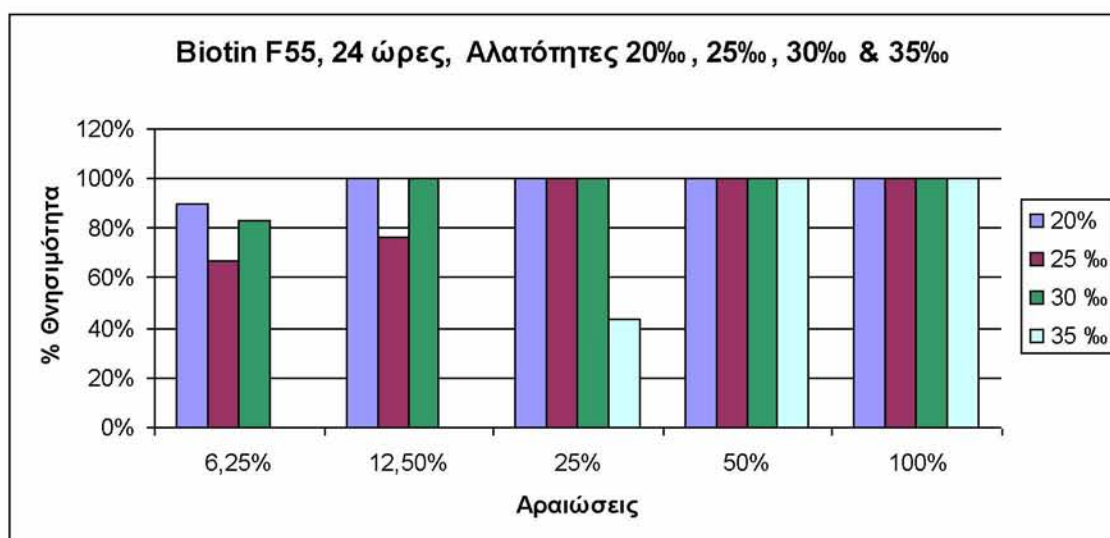
Τα αποτελέσματα αλατότητας 35 % είναι ίδια με τα αποτελέσματα των προπειραμάτων.

### 3.2.1.3.4. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα αλατότητας

Στους Πίνακες 15 και 16 παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας και τα αντίστοιχα διαγράμματα (Σχ. 11 και 12) που αφορούν την επίδραση της αλατότητας στο υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's.

**Πίνακας 15:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αλατότητα 20 ‰, 25‰, 30‰ και 35‰

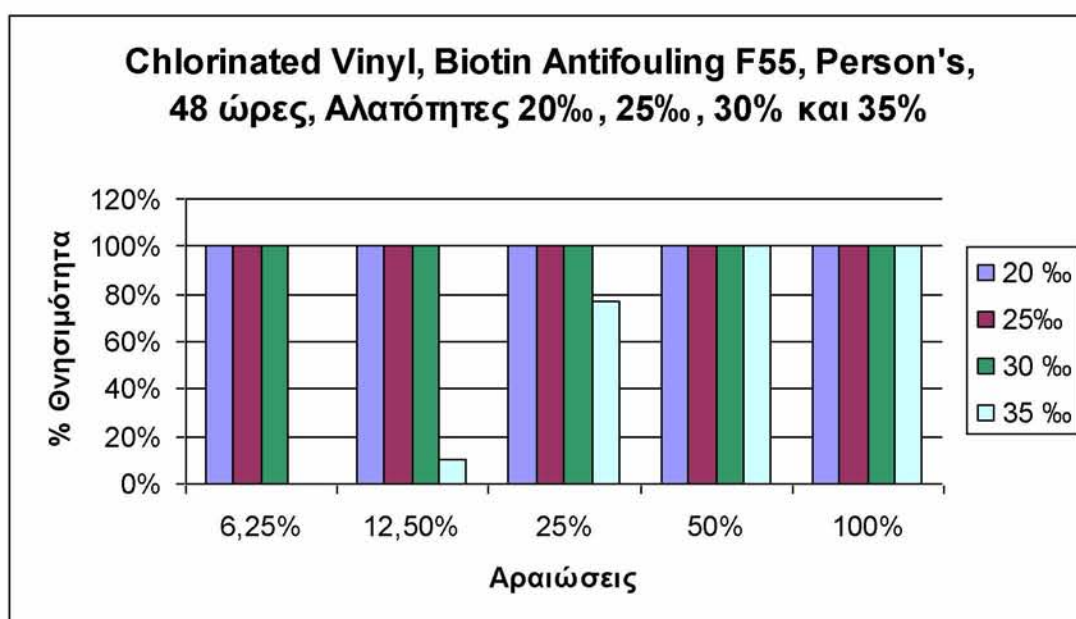
Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	20 ‰	25‰	30 ‰	35 ‰
6,25%	90%	66,67%	83,33%	0%
12,5%	100%	76,67%	100%	0%
25%	100%	100%	100%	43,33%
50%	100%	100%	100%	100%
100%	100%	100%	100%	100%



**Σχήμα 11:** % θνησιμότητα 24 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αλατότητα 20 ‰, 25‰, 30‰ και 35‰

**Πίνακας 16:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αλατότητα 20 ‰, 25‰, 30‰ και 35‰

Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	20 ‰	25‰	30 ‰	35 ‰
6,25%	100%	100%	100%	0%
12,5%	100%	100%	100%	10%
25%	100%	100%	100%	76,67%
50%	100%	100%	100%	100%
100%	100%	100%	100%	100%



**Σχήμα 12:** % θνησιμότητα 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αλατότητα 20 ‰, 25‰, 30‰ και 35‰

### 3.2.2. Υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel

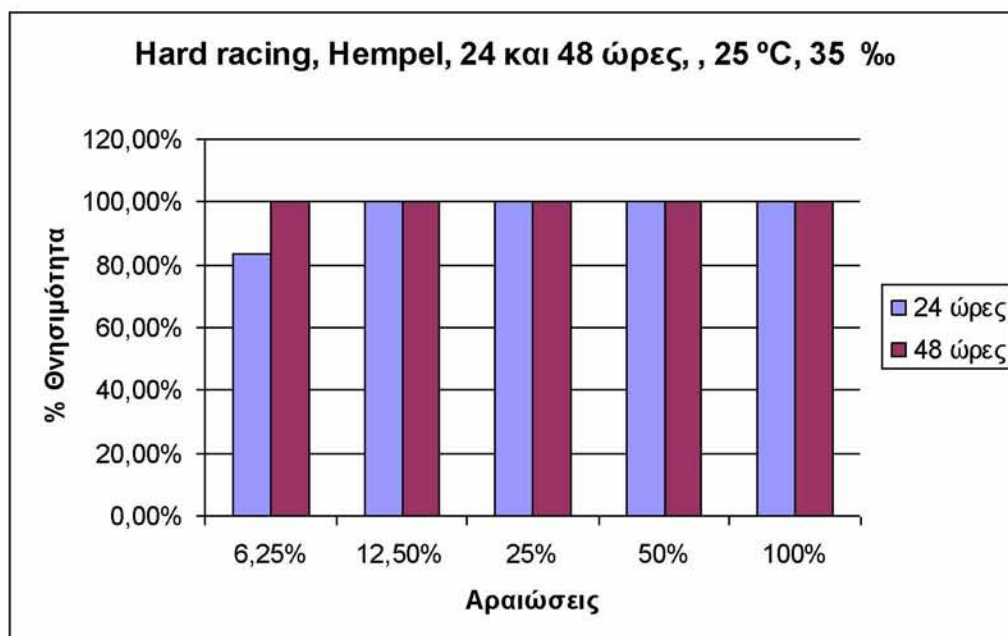
#### 3.2.2.1. Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰.

Στον Πίνακα 17 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 13) για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel.

**Πίνακας 17:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Hard racing, Hempel, θερμοκρασία 25°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	83,33 %	100%
12,5%	100%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



**Σχήμα 13:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel.

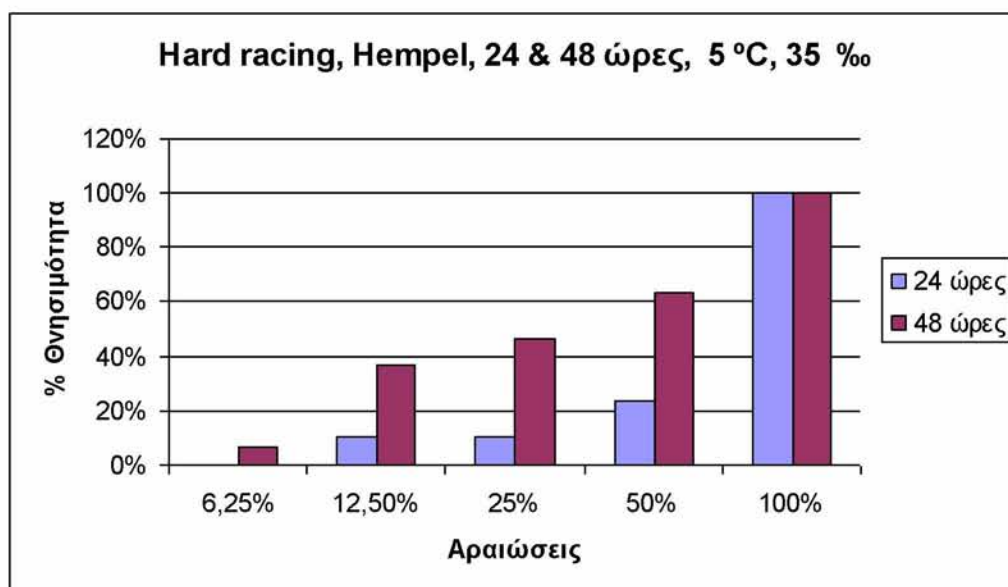
### 3.2.2.2 Έλεγχος τοξικότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες

#### 3.2.2.2.1 Θερμοκρασία 5°C

Στον Πίνακα 18 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 14) για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel σε θερμοκρασία 5 °C.

**Πίνακας 18:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Hard racing, Hempel, θερμοκρασία 5°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	6,67%
12,5%	10%	36,67%
25%	10%	46,67%
50%	23,33%	63,33%
100%	100%	100%



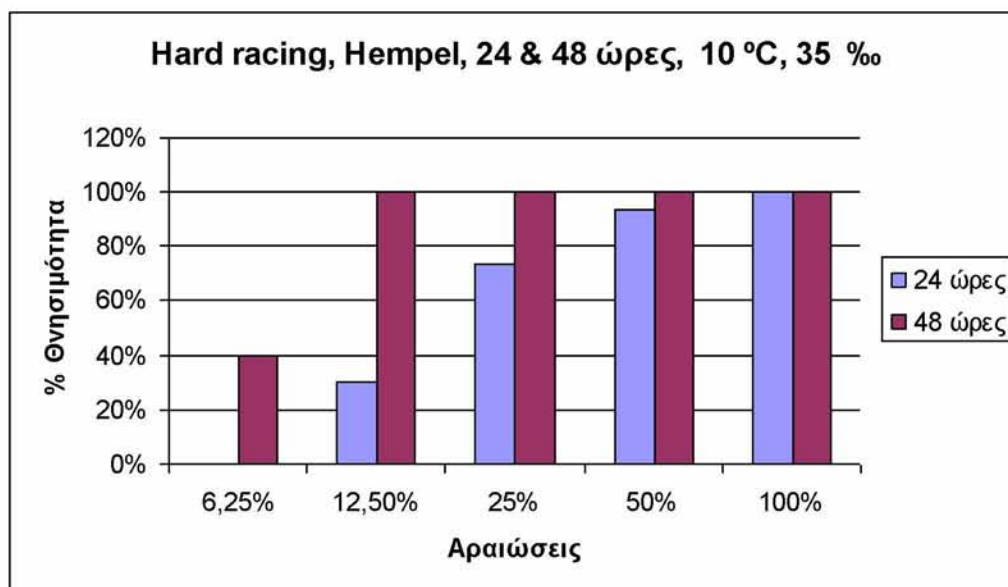
**Σχήμα 14:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, θερμοκρασία 5°C.

### 3.2.2.2.2 Θερμοκρασία 10°C

Στον Πίνακα 19 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 15) για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel σε θερμοκρασία 10 °C.

**Πίνακας 19:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Hard racing, Hempel, θερμοκρασία 10°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	40%
12,5%	30%	100%
25%	73,33%	100%
50%	93,33%	100%
100%	100%	100%



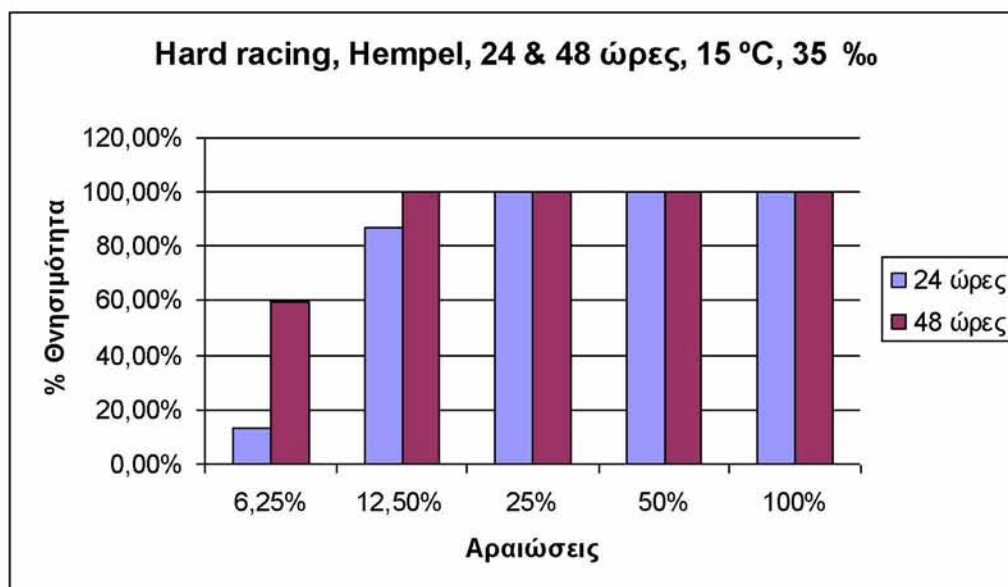
**Σχήμα 15:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, θερμοκρασία 10°C.

### 3.2.2.2.3 Θερμοκρασία 15°C

Στον Πίνακα 20 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 16) για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel σε θερμοκρασία 15 °C.

**Πίνακας 20:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Hard racing, Hempel, θερμοκρασία 15°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	13,33 %	60%
12,5%	86,67%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



**Σχήμα 16:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, θερμοκρασία 15°C

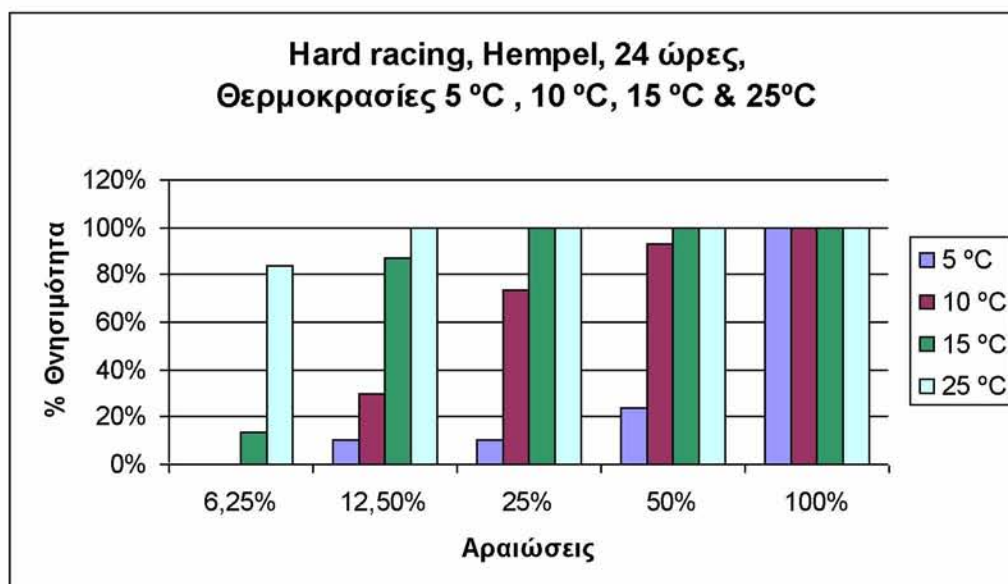


### 3.2.2.2.4. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα θερμοκρασίας

Στους Πίνακες 21 και 22 παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας και τα αντίστοιχα διαγράμματα (Σχ. 17 και 18) που αφορούν την επίδραση της θερμοκρασίας στο υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel.

**Πίνακας 21:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 ωρών, Hard racing, Hempel, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

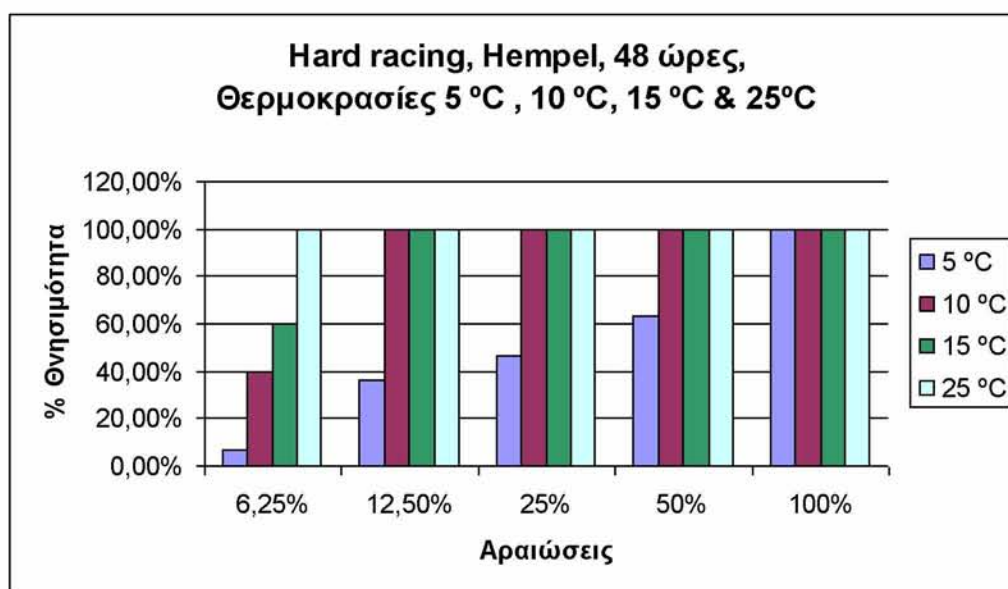
Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	5 °C	10 °C	15 °C	25 °C
6,25%	0 %	0 %	13,33 %	83,33 %
12,5%	10%	30%	86,67%	100%
25%	10%	73,33%	100%	100%
50%	23,33%	93,33%	100%	100%
100%	100%	100%	100%	100%



**Σχήμα 17:** % θνησιμότητα 24 ωρών, Hard racing, Hempel, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

**Πίνακας 22:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 48 ωρών, Hard racing, Hempel, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	5 °C	10 °C	15 °C	25 °C
<b>6,25%</b>	6,67%	40%	60%	100%
<b>12,5%</b>	36,67%	100%	100%	100%
<b>25%</b>	46,67%	100%	100%	100%
<b>50%</b>	63,33%	100%	100%	100%
<b>100%</b>	100%	100%	100%	100%



**Σχήμα 18:** % θνησιμότητα 48 ωρών, Hard racing, Hempel, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

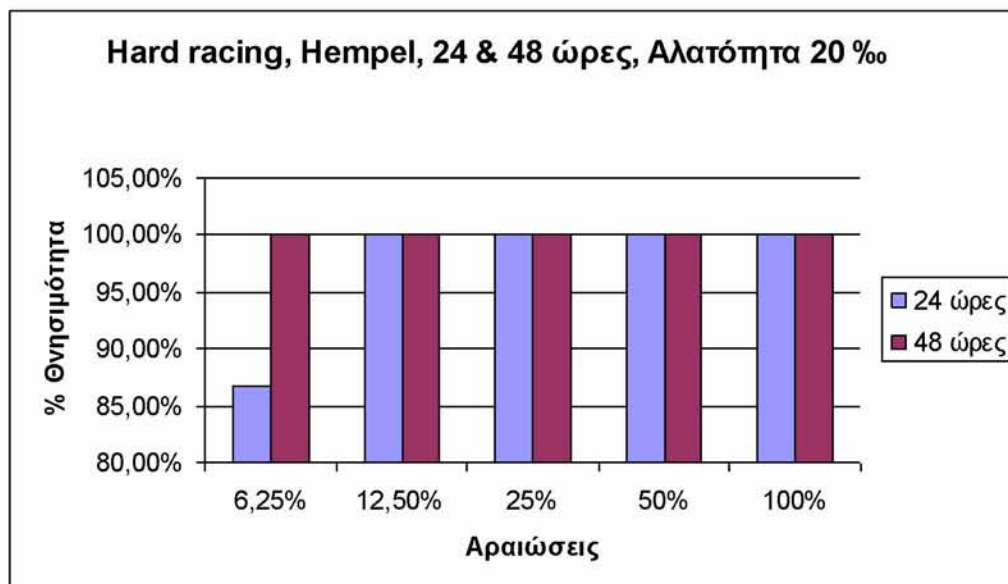
### 3.2.2.3. Πειράματα ελέγχου τοξικότητας σε διαφορετικές αλατότητες

#### 3.2.2.3.1 Αλατότητα 20%

Στον Πίνακα 23 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 19) για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, σε αλατότητα 20 %.

**Πίνακας 23:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Hard racing, Hempel, αλατότητα 20 %

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	86,67%	100%
12,5%	100%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



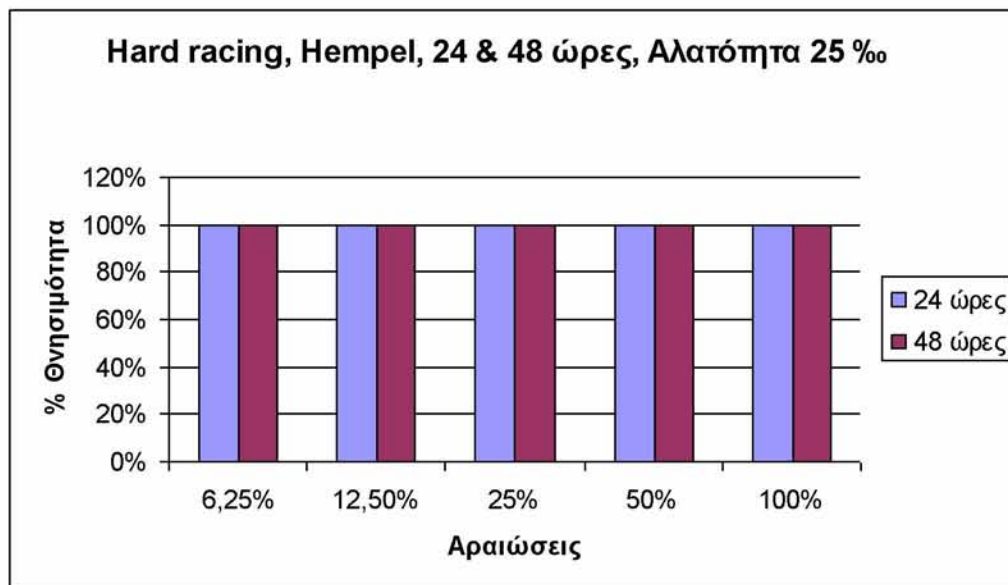
**Σχήμα 19:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, αλατότητα 20 %.

### 3.2.2.3.2 Αλατότητα 25%

Στον Πίνακα 24 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 20) για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, σε αλατότητα 25 ‰.

**Πίνακας 24:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Hard racing, Hempel, αλατότητα 25 ‰

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	100%	100%
12,5%	100%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



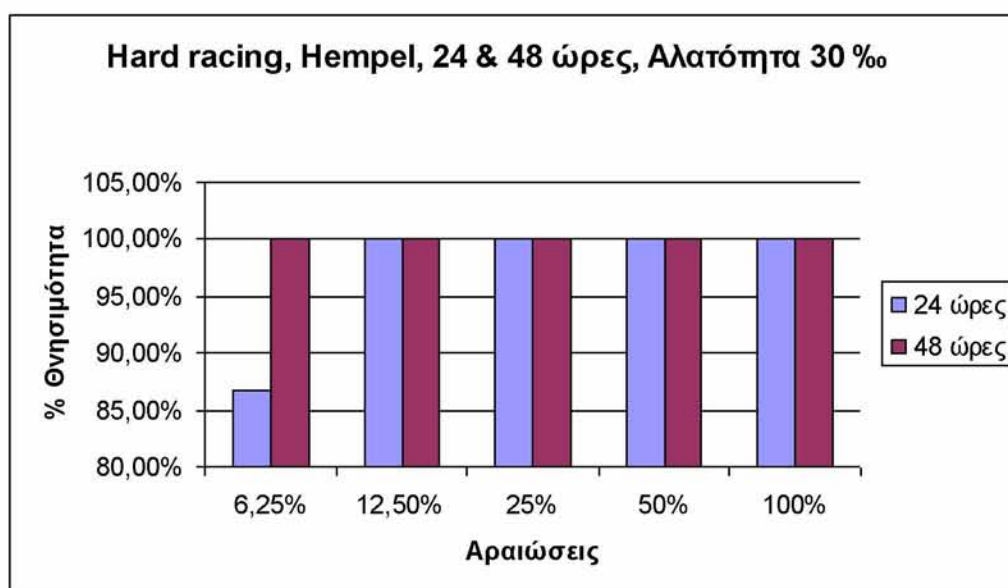
**Σχήμα 20:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, αλατότητα 25 ‰.

### 3.2.2.3.3 Αλατότητα 30%

Στον Πίνακα 25 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 21) για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, σε αλατότητα 30 %.

**Πίνακας 25:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Hard racing, Hempel, αλατότητα 30 %

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	86,67%	100%
12,5%	100%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



**Σχήμα 21:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, αλατότητα 30 %.

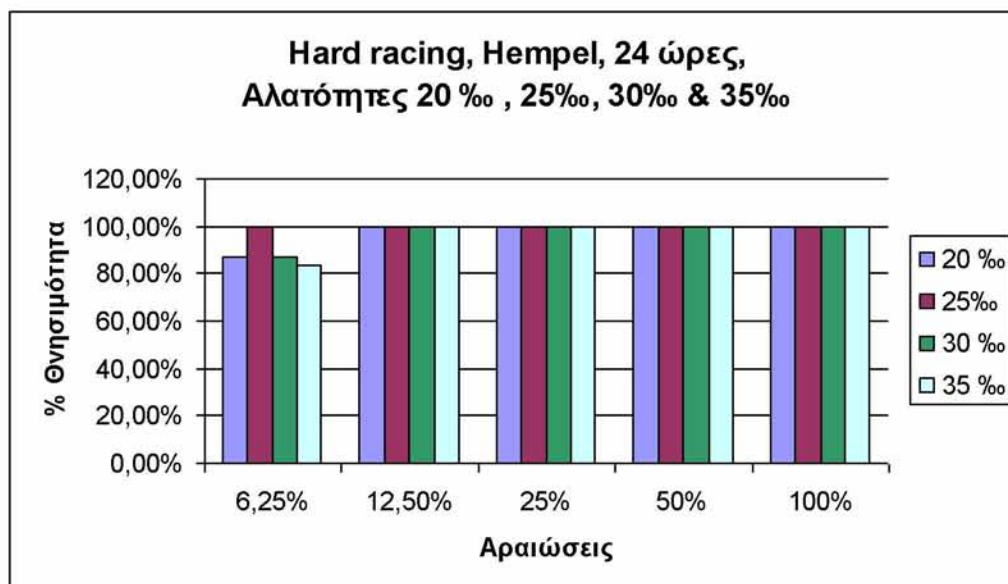
Τα αποτελέσματα αλατότητας 35 % είναι ίδια με τα αποτελέσματα των προπειραμάτων.

### 3.2.2.3.4. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα αλατότητας

Στους Πίνακες 26 και 27 παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας και τα αντίστοιχα διαγράμματα (Σχ. 22 και 23) που αφορούν την επίδραση της αλατότητας στο υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel.

**Πίνακας 26:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 ωρών, Hard racing, Hempel, αλατότητα 20 ‰ , 25‰, 30‰ και 35‰

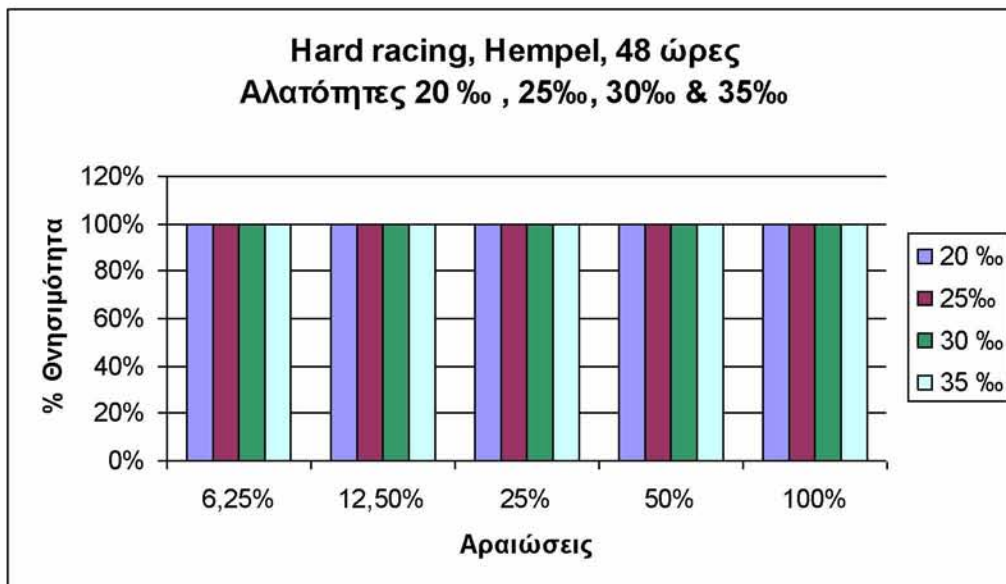
Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	20 ‰	25‰	30 ‰	35 ‰
6,25%	86,67%	100%	86,67%	83,33 %
12,5%	100%	100%	100%	100%
25%	100%	100%	100%	100%
50%	100%	100%	100%	100%
100%	100%	100%	100%	100%



**Σχήμα 22:** % θνησιμότητα 24 ωρών, Hard racing, Hempel, αλατότητα 20 ‰ , 25‰, 30‰ και 35‰

**Πίνακας 27:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 48 ωρών, Hard racing, Hempel, αλατότητα 20 ‰ , 25‰, 30‰ και 35‰

Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	20 ‰	25‰	30 ‰	35 ‰
6,25%	100%	100%	100%	100%
12,5%	100%	100%	100%	100%
25%	100%	100%	100%	100%
50%	100%	100%	100%	100%
100%	100%	100%	100%	100%



**Σχήμα 23:** % θνησιμότητα 48 ωρών, Hard racing, Hempel, αλατότητα 20 ‰ , 25‰, 30‰ και 35‰

### 3.2.3. Micron Extra, International

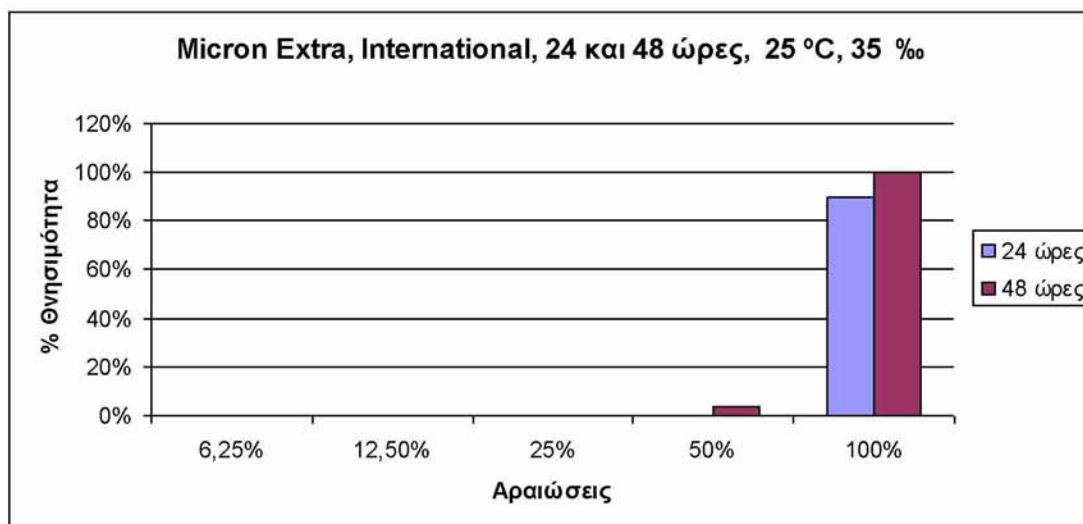
#### 3.2.3.1. Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰.

Στον Πίνακα 28 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 24) για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International.

**Πίνακας 28:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, θερμοκρασία 25°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0%	0%
12,5%	0%	0%
25%	0%	0%
50%	0%	3,33%
100%	90%	100%



**Σχήμα 24:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International



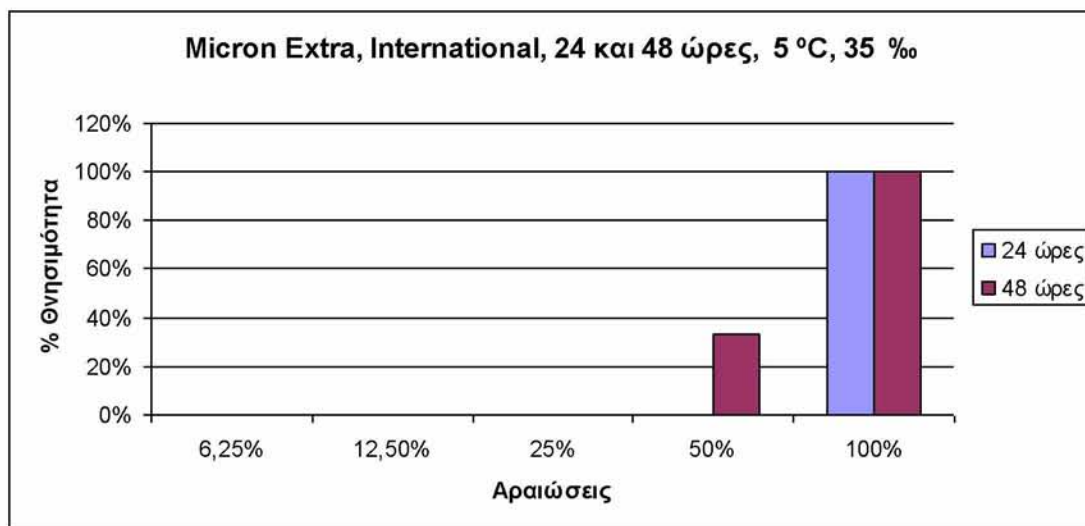
### 3.2.3.2 Έλεγχος τοξικότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες

#### 3.2.3.2.1 Θερμοκρασία 5°C

Στον Πίνακα 29 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 25) για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International σε θερμοκρασία 5°C.

**Πίνακας 29:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, θερμοκρασία 5°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0%	0%
12,5%	0%	0%
25%	0%	0%
50%	0%	33,3%
100%	100%	100%



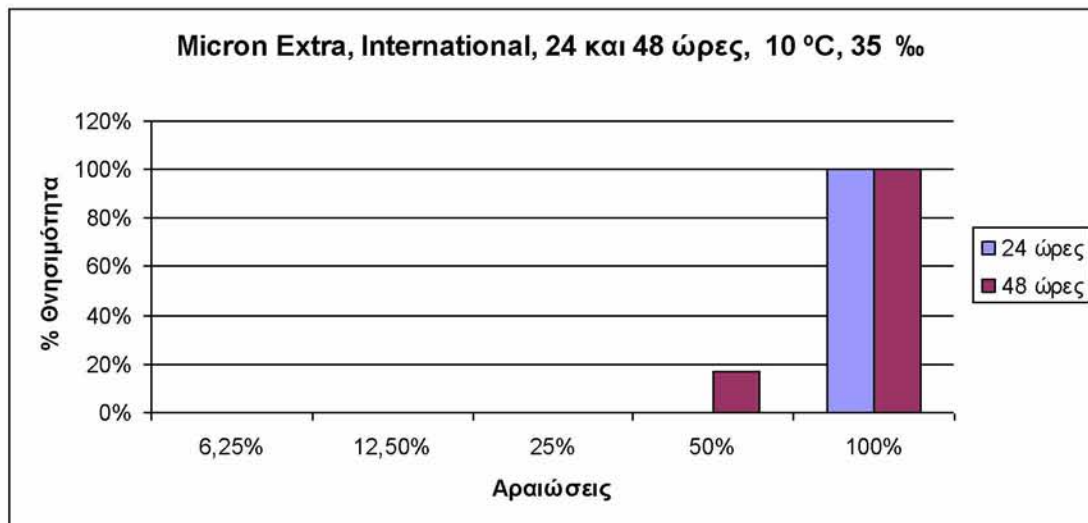
**Σχήμα 25:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, θερμοκρασία 5°C

### 3.2.3.2.2 Θερμοκρασία 10°C

Στον Πίνακα 30 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 26) για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International σε θερμοκρασία 10°C.

**Πίνακας 30:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, θερμοκρασία 10°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0%	0%
12,5%	0%	0%
25%	0%	0%
50%	0%	16,67%
100%	100%	100%



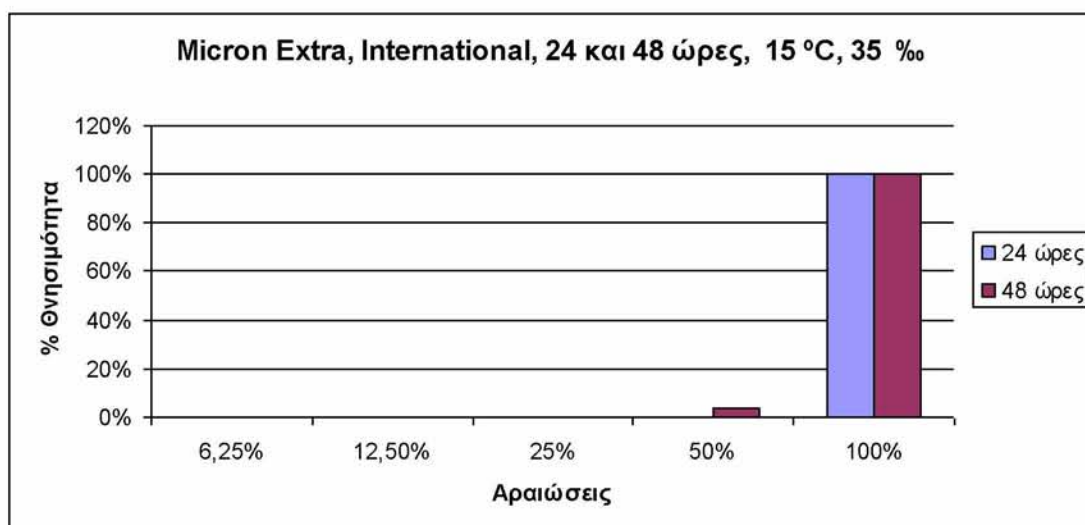
**Σχήμα 26:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, θερμοκρασία 10°C

### 3.2.3.2.3 Θερμοκρασία 15°C

Στον Πίνακα 31 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 27) για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International σε θερμοκρασία 15°C.

**Πίνακας 31:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, θερμοκρασία 15°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0%	0%
12,5%	0%	0%
25%	0%	0%
50%	0%	3,33%
100%	100%	100%



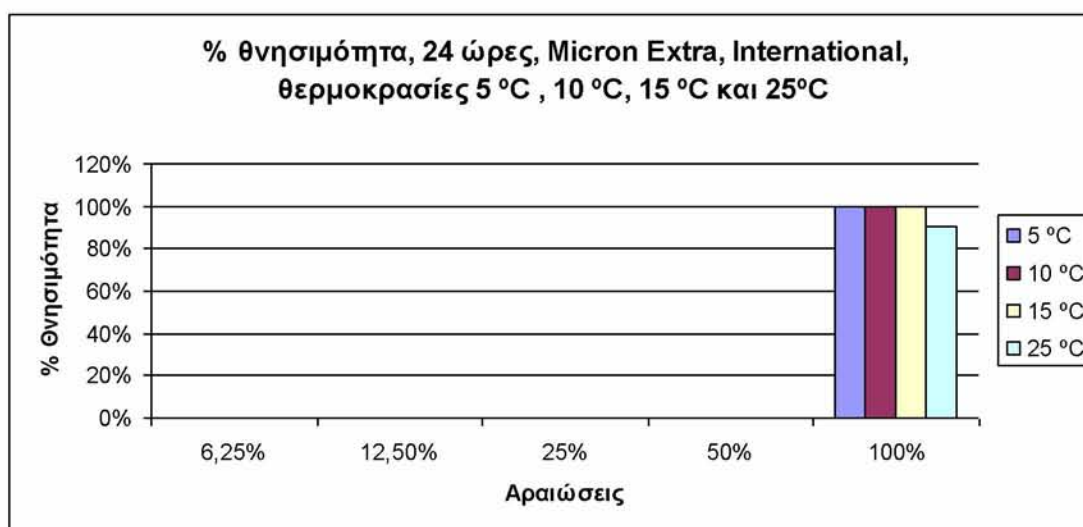
**Σχήμα 27:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, θερμοκρασία 15°C

#### 3.2.3.2.4. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα θερμοκρασίας

Στους Πίνακες 32 και 33 παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας και τα αντίστοιχα διαγράμματα (Σχ. 28 και 29) που αφορούν την επίδραση της θερμοκρασίας στο υφαλόχρωμα Micron Extra, International.

**Πίνακας 32:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 ωρών, Micron Extra, International, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

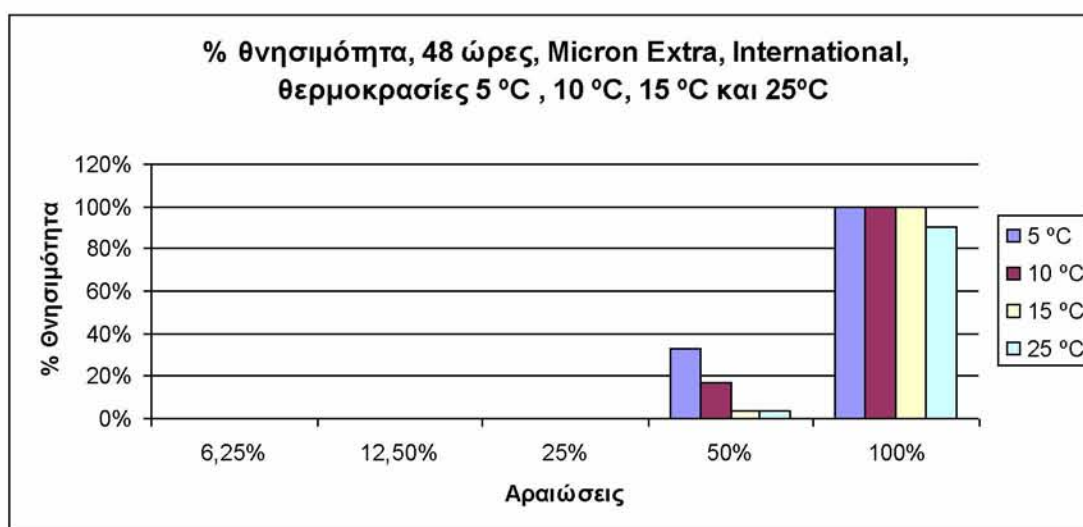
Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	5 °C	10 °C	15 °C	25 °C
6,25%	0 %	0 %	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %	0 %	0 %
25%	0 %	0 %	0 %	0 %
50%	0 %	0 %	0 %	0 %
100%	100%	100%	100%	90%



**Σχήμα 28:** % θνησιμότητα 24 ωρών, Micron Extra, International, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

**Πίνακας 33:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 48 ωρών, Micron Extra, International, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	5 °C	10 °C	15 °C	25 °C
6,25%	0 %	0 %	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %	0 %	0 %
25%	0 %	0 %	0 %	0 %
50%	33,3 %	16,67%	3,33 %	3,33 %
100%	100%	100%	100%	90%



**Σχήμα 29:** % θνησιμότητα 48 ωρών, Micron Extra, International, θερμοκρασίες 5 °C , 10 °C, 15 °C και 25°C

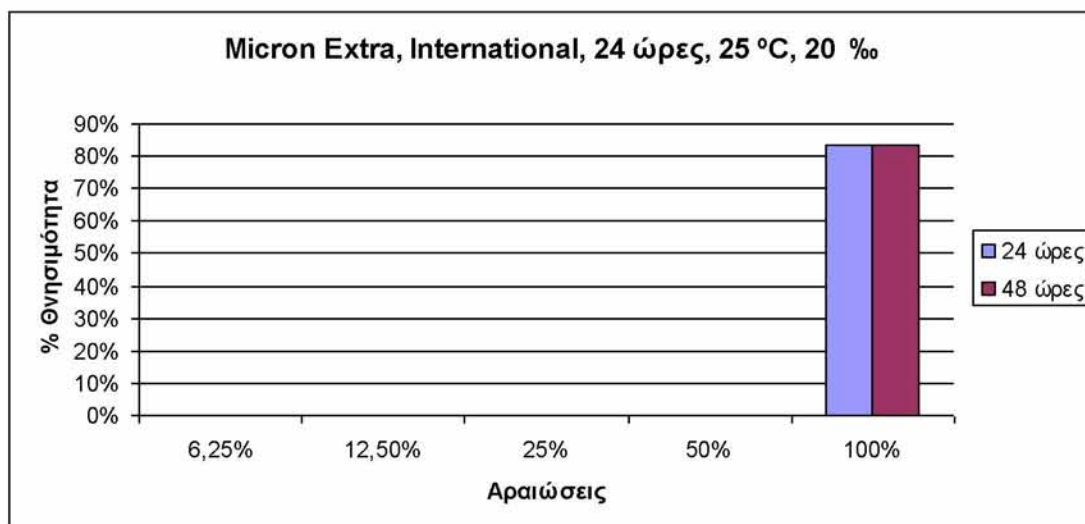
### 3.2.3.3. Πειράματα ελέγχου τοξικότητας σε διαφορετικές αλατότητες

#### 3.2.3.3.1 Αλατότητα 20‰

Στον Πίνακα 34 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 30) για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, σε αλατότητα 20 ‰.

**Πίνακας 34:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, αλατότητα 20 ‰

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %
25%	0 %	0 %
50%	0 %	0 %
100%	83,33%	83,33%



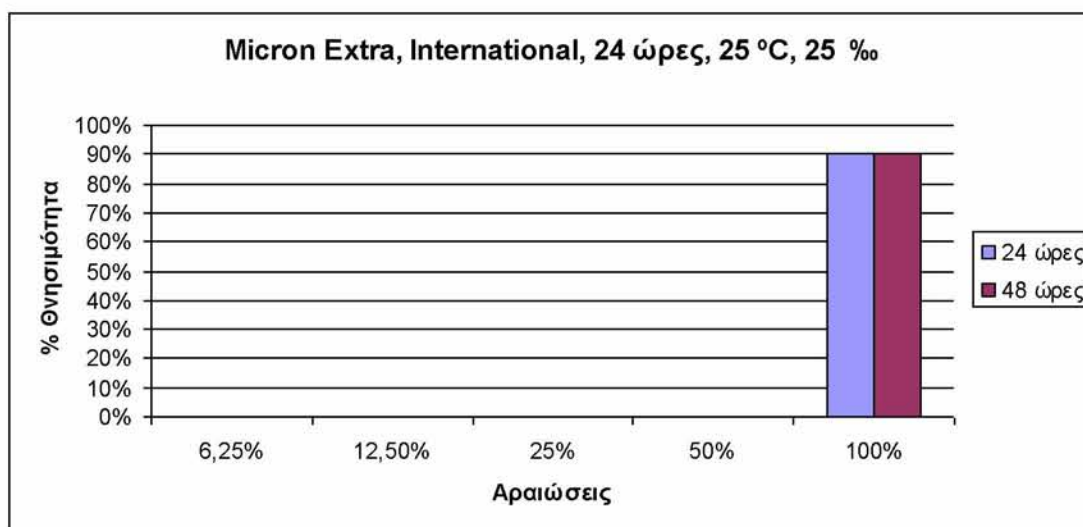
**Σχήμα 30:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, αλατότητα 20 ‰.

### 3.2.3.3.2 Αλατότητα 25%

Στον Πίνακα 35 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 31) για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, σε αλατότητα 25 %.

**Πίνακας 35:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, αλατότητα 25 %

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %
25%	0 %	0 %
50%	0 %	0 %
100%	90%	90%



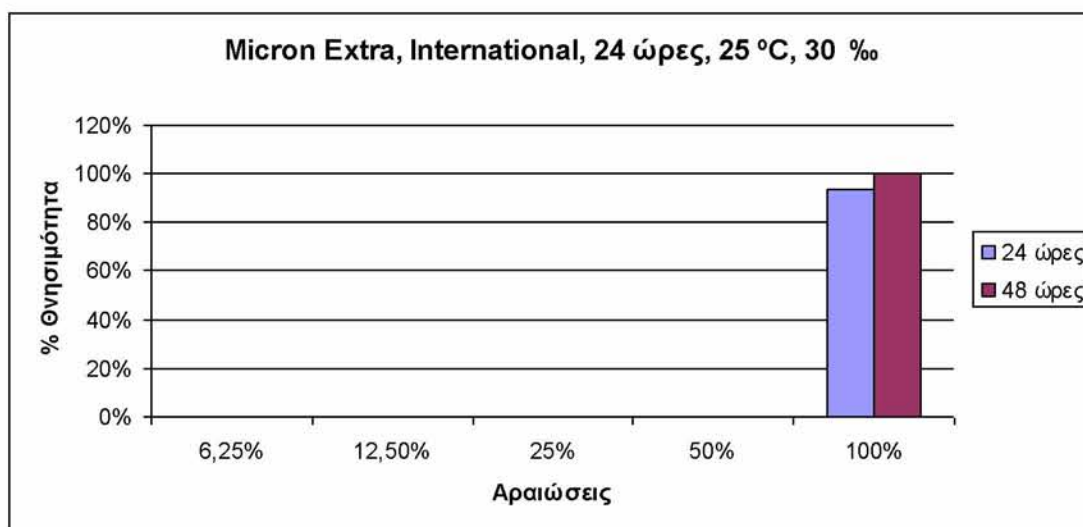
**Σχήμα 31:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, αλατότητα 25 %.

### 3.2.3.3.3 Αλατότητα 30%

Στον Πίνακα 36 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 32) για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, σε αλατότητα 30 %.

**Πίνακας 36:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, αλατότητα 30 %

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %
25%	0 %	0 %
50%	0 %	0 %
100%	93,33%	100%



**Σχήμα 32:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, αλατότητα 30 %.

Τα αποτελέσματα αλατότητας 35 % είναι ίδια με τα αποτελέσματα των προπειραμάτων.

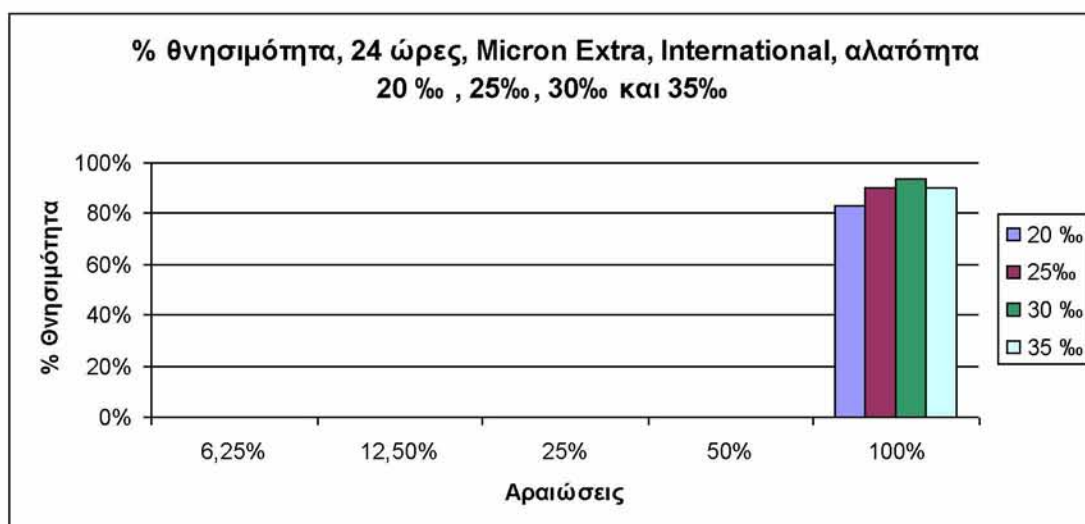


#### 3.2.3.3.4. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα αλατότητας

Στους Πίνακες 37 και 38 παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας και τα αντίστοιχα διαγράμματα (Σχ. 33 και 34) που αφορούν την επίδραση της αλατότητας στο υφαλόχρωμα Micron Extra, International.

**Πίνακας 37:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 ωρών, Micron Extra, International, αλατότητα 20 ‰, 25‰, 30‰ και 35‰

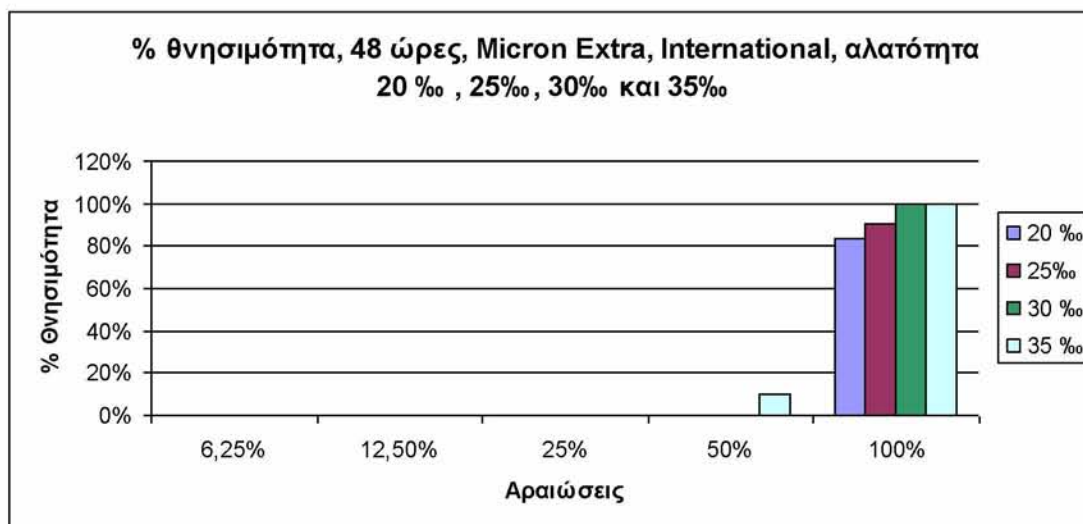
Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	20 ‰	25‰	30 ‰	35 ‰
6,25%	0%	0%	0%	0%
12,5%	0%	0%	0%	0%
25%	0%	0%	0%	0%
50%	0%	0%	0%	0%
100%	83,33%	90%	93,33%	90%



**Σχήμα 33:** % θνησιμότητα 24 ωρών, Micron Extra, International, αλατότητα 20 ‰, 25‰, 30‰ και 35‰

**Πίνακας 38:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 48 ωρών, Micron Extra, International, αλατότητα 20 ‰ , 25‰, 30‰ και 35‰

Αραιώσεις	Θερμοκρασία			
	20 ‰	25‰	30 ‰	35 ‰
6,25%	0 %	0 %	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %	0 %	0 %
25%	0 %	0 %	0 %	0 %
50%	0 %	0 %	0 %	10 %
100%	83,33%	90%	100%	100%



**Σχήμα 34:** % θνησιμότητα 48 ωρών, Micron Extra, International, αλατότητα 20 ‰ , 25‰, 30‰ και 35‰

### 3.2.4. Advance, Premium self polishing, Boatcare

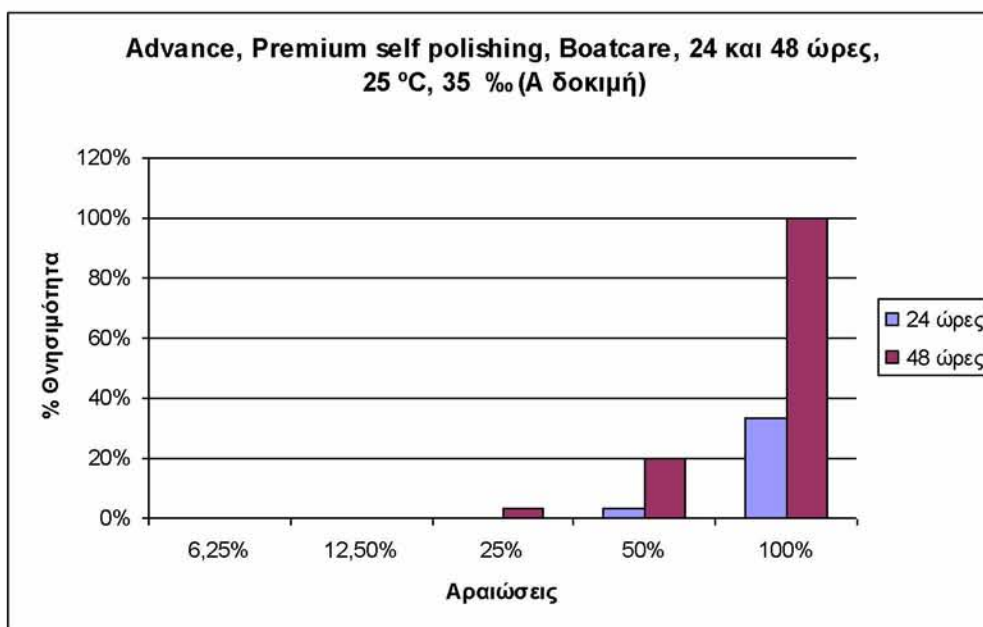
#### 3.2.4.1. Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰.

Στους Πίνακες 39 και 40 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και τα αντίστοιχα διαγράμματα (Σχ. 35 και 36) για το υφαλόχρωμα Advance, Premium self polishing, Boatcare.

**Πίνακας 39:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Advance, Premium self polishing, Boatcare, θερμοκρασία 25°C (Α δοκιμή)

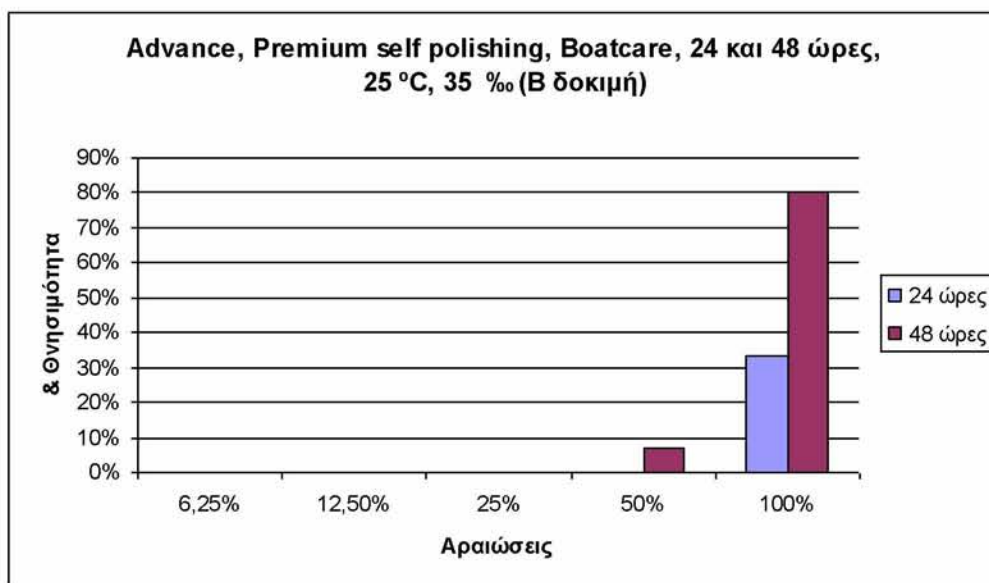
Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %
25%	0%	3,33 %
50%	3,33 %	20 %
100%	33,33%	100 %



**Σχήμα 35:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Advance, Premium self polishing, Boatcare (Α δοκιμή)

**Πίνακας 40:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Advance, Premium self polishing, Boatcare, θερμοκρασία 25°C (B δοκιμή)

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %
25%	0 %	0 %
50%	0 %	6,67 %
100%	33,33%	80 %



**Σχήμα 36:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Advance, Premium self polishing, Boatcare (B δοκιμή)

### 3.2.5 Endurance AntiF for power cruising, Boatcare

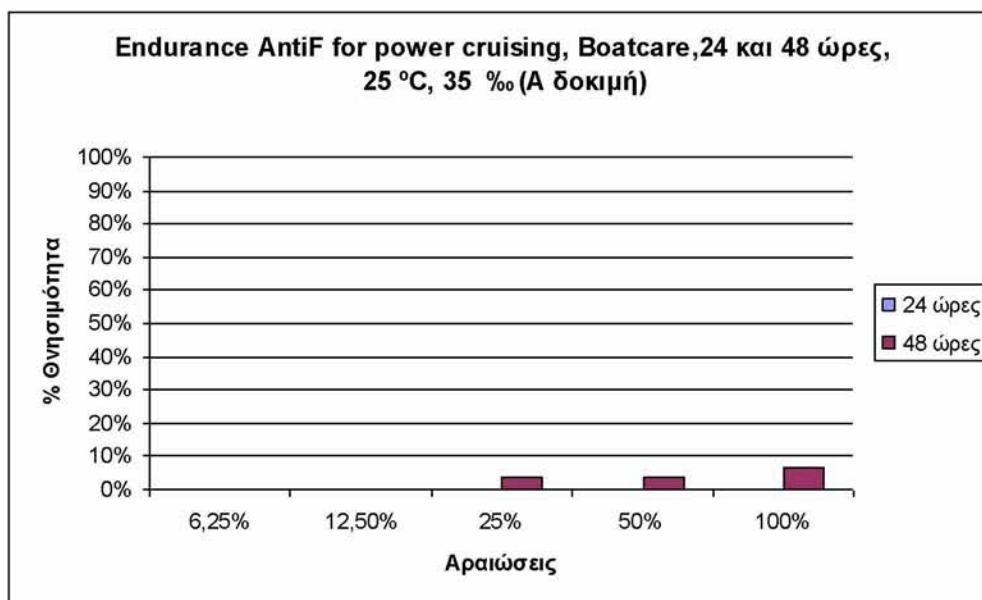
#### 3.2.5.1 Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰.

Στους Πίνακες 41 και 42 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και τα αντίστοιχα διαγράμματα (Σχ. 37 και 38) για το υφαλόχρωμα Endurance AntiF for power cruising, Boatcare.

**Πίνακας 41:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Endurance AntiF for power cruising, Boatcare, θερμοκρασία 25°C (Α δοκιμή)

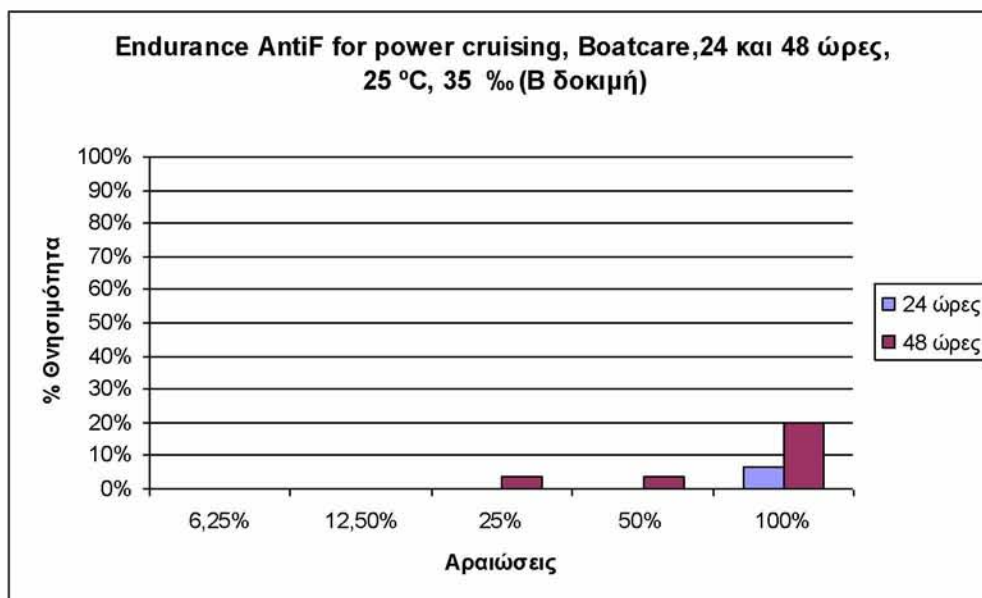
Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %
25%	0 %	3,33 %
50%	0 %	3,33%
100%	0 %	6,67%



**Σχήμα 37:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Endurance AntiF for power cruising, Boatcare (Α δοκιμή)

**Πίνακας 42:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Endurance AntiF for power cruising, Boatcare, θερμοκρασία 25°C (B δοκιμή)

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %
25%	0 %	3,33 %
50%	0 %	3,33%
100%	6,67%	20 %



**Σχήμα 38:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Endurance AntiF for power cruising, Boatcare (B δοκιμή)

### 3.2.6 Professional AFP, Attiva Marine

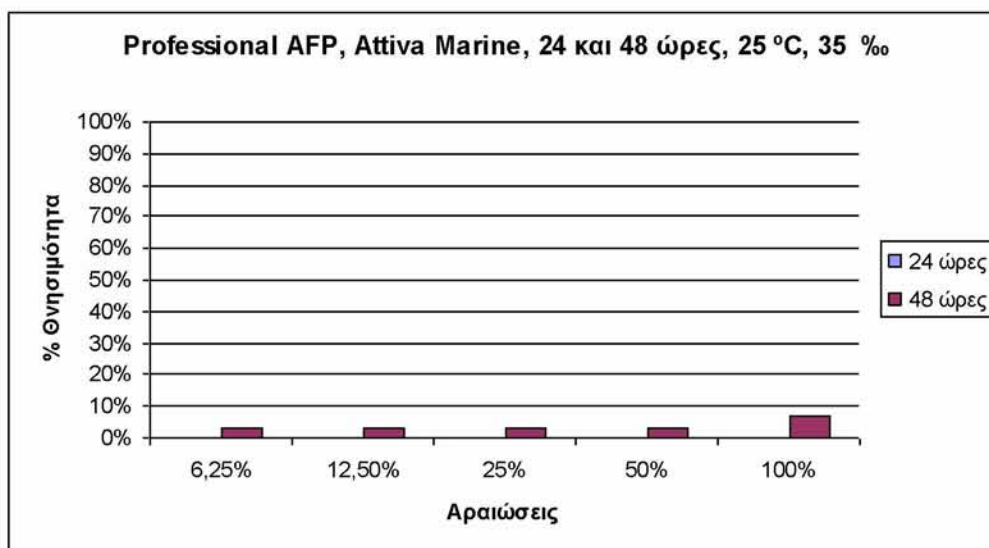
#### 3.2.6.1 Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰.

Στον Πίνακα 43 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 39) για το υφαλόχρωμα Professional AFP, Attiva Marine.

**Πίνακας 43:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Professional AFP, Attiva Marine, θερμοκρασία 25°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	3,33%
12,5%	0 %	3,33%
25%	0 %	3,33%
50%	0 %	3,33%
100%	0 %	6,67%



**Σχήμα 39:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Professional AFP, Attiva Marine

### 3.2.7 Classic, Syntex

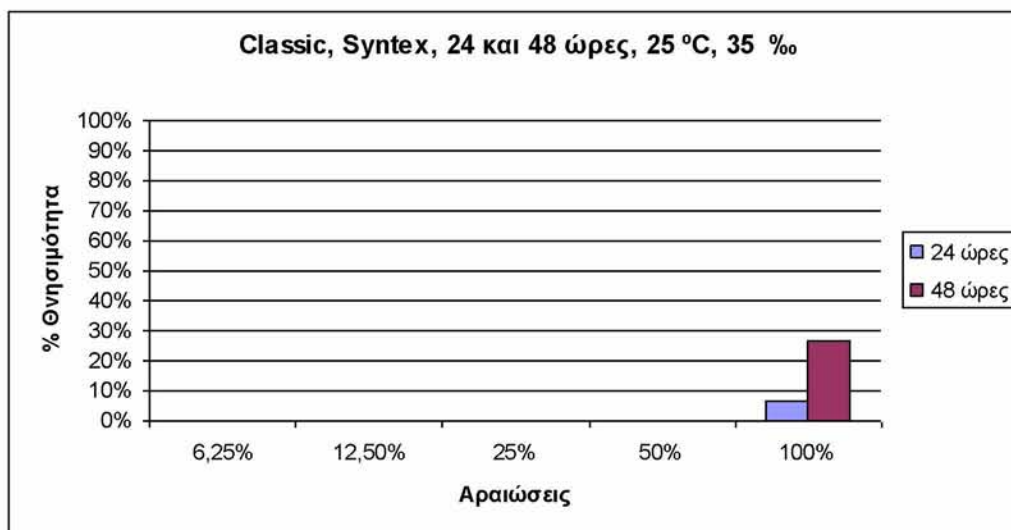
#### 3.2.7.1 Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰.

Στον Πίνακα 44 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 40) για το υφαλόχρωμα Classic, Syntex.

**Πίνακας 44:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Classic, Syntex, θερμοκρασία 25°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0 %	0 %
12,5%	0 %	0 %
25%	0 %	0 %
50%	0 %	0 %
100%	6,67%	26,67%



**Σχήμα 40:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Classic, Syntex



### 3.2.8 AntiF, Neotex

#### 3.2.8.1 Προπείραμα ελέγχου τοξικότητας

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 %.

Στον Πίνακα 45 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας για το υφαλόχρωμα AntiF, Neotex.

**Πίνακας 45:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, AntiF, Neotex, θερμοκρασία 25°C

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
<b>6,25%</b>	0 %	0 %
<b>12,5%</b>	0 %	0 %
<b>25%</b>	0 %	0 %
<b>50%</b>	0 %	0 %
<b>100%</b>	0 %	0 %

### 3.3 Έλεγχος τοξικότητας με διπλή στρώση βαφής και συσχέτιση με το βάρος και το πάχος της βαμμένης επιφάνειας

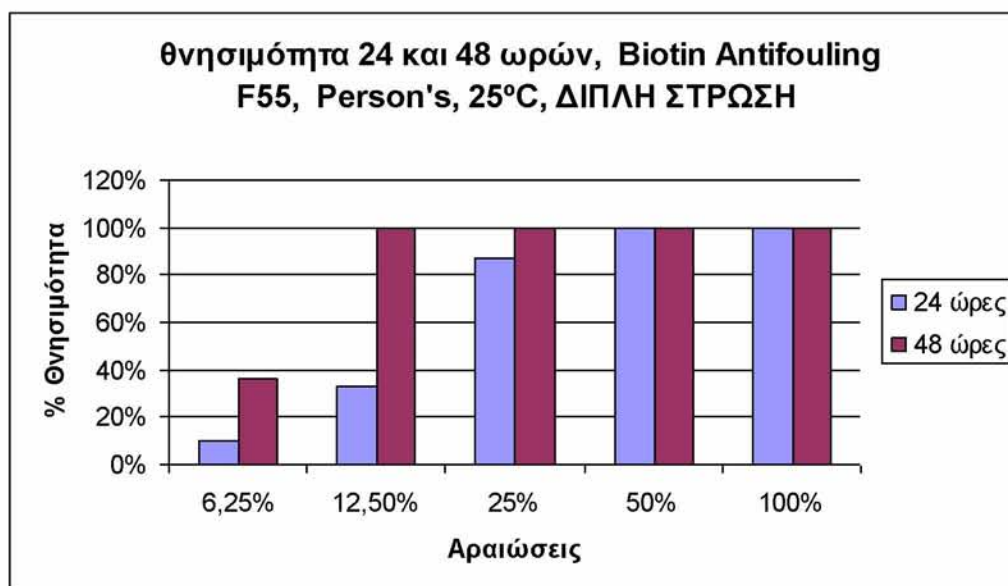
#### 3.3.1 Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 %.

Στον Πίνακα 46 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 41) για τη διπλή στρώση βαφής για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's. .

**Πίνακας 46:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασία 25°C, ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	10%	36,67%
12,5%	33,33%	100%
25%	86,67%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%

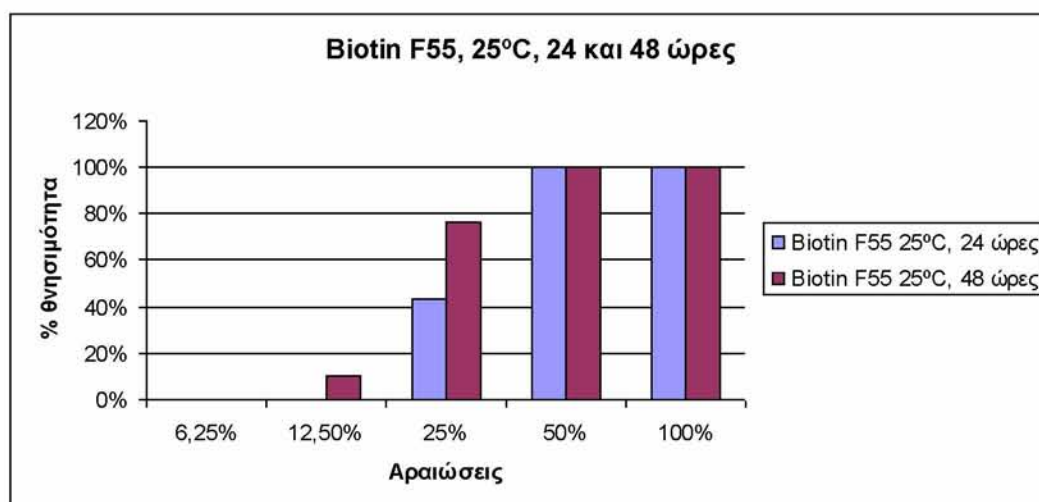


**Σχήμα 41:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, διπλή στρώση

Στον Πίνακα 47 παρατίθενται ξανά τα αποτελέσματα μονής στρώσης και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 42) (από τα αρχικά προπειράματα) για πιο εύκολη σύγκριση.

**Πίνακας 47:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, θερμοκρασία 25°C, ΜΟΝΗ ΣΤΡΩΣΗ

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	0%	0%
12,5%	0%	10%
25%	43,33%	76,67%
50%	100%	100%
100%	100%	100%

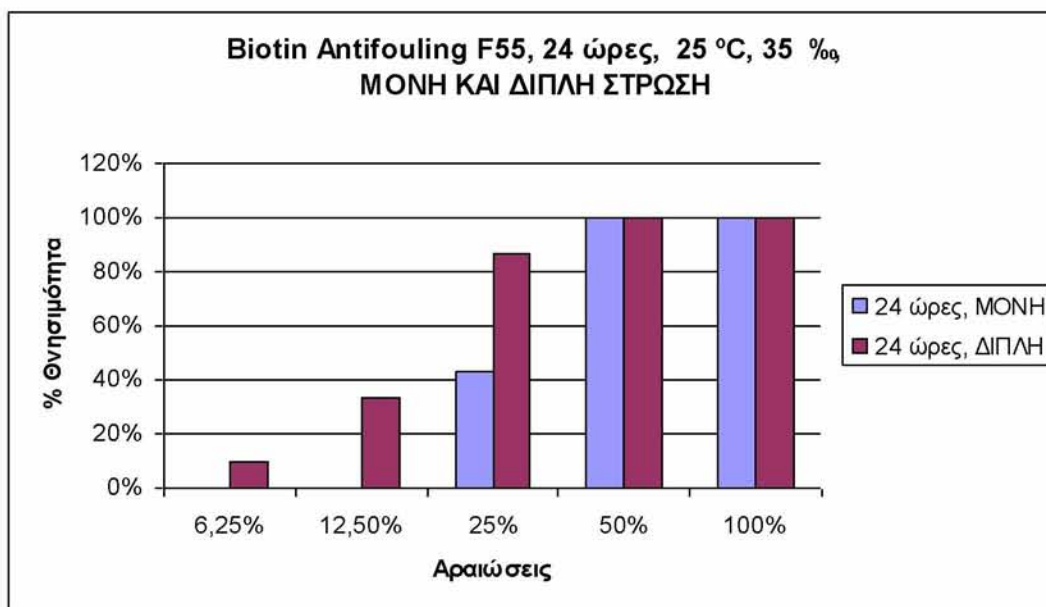


**Σχήμα 42:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, μονή στρώση

Στους επόμενους πίνακες (Πιν. 48 και 49) και διαγράμματα (Σχ. 43 και 44) πραγματοποιείται σύγκριση στα αποτελέσματα τοξικότητας για τη μονή και τη διπλή στρώση στις 24 και τις 48 ώρες αντίστοιχα.

**Πίνακας 48:** Συγκριτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, 25 °C, 35 ‰, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

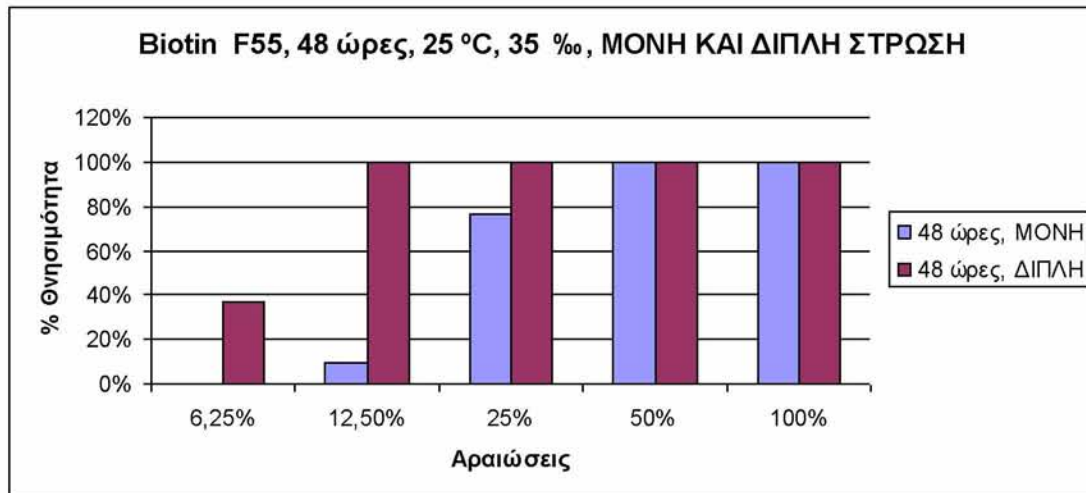
	24 ώρες, ΜΟΝΗ	24 ώρες, ΔΙΠΛΗ
6,25%	0%	10%
12,5%	0%	33,33%
25%	43,33%	86,67%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



**Σχήμα 43:** Συγκριτικό διάγραμμα % θνησιμότητας 24 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, 25 °C, 35 ‰, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

**Πίνακας 49:** Συγκριτικός Πίνακας % θνησιμότητας 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, 25 °C, 35 ‰, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

	48 ώρες, ΜΟΝΗ	48 ώρες, ΔΙΠΛΗ
6,25%	0%	36,67%
12,5%	10%	100%
25%	76,67%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



**Σχήμα 44:** Συγκριτικό διάγραμμα % θνησιμότητας 48 ωρών, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, 25 °C, 35 ‰, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

Στον Πίνακα 50 παρατίθενται τα αποτελέσματα του βάρους και του πάχους της βαμμένης επιφάνειας σε μονή και διπλή στρώση βαφής που αντιστοιχούν στα αποτελέσματα ελέγχου τοξικότητας που αναφέρθηκαν παραπάνω.

**Πίνακας 50:** Βάρος και πάχος βαμμένης επιφάνειας, μονή και διπλή στρώση, Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's

	<b>Βάρος (g)</b>	<b>Πάχος (mm)</b>
<b>Μονή Στρώση</b>	0,35 g	Κάτω: 0,757mm Πάνω: 0,52mm
<b>Διπλή Στρώση</b>	0,99 g	Κάτω: 0,87 mm Πάνω: 0,64 mm

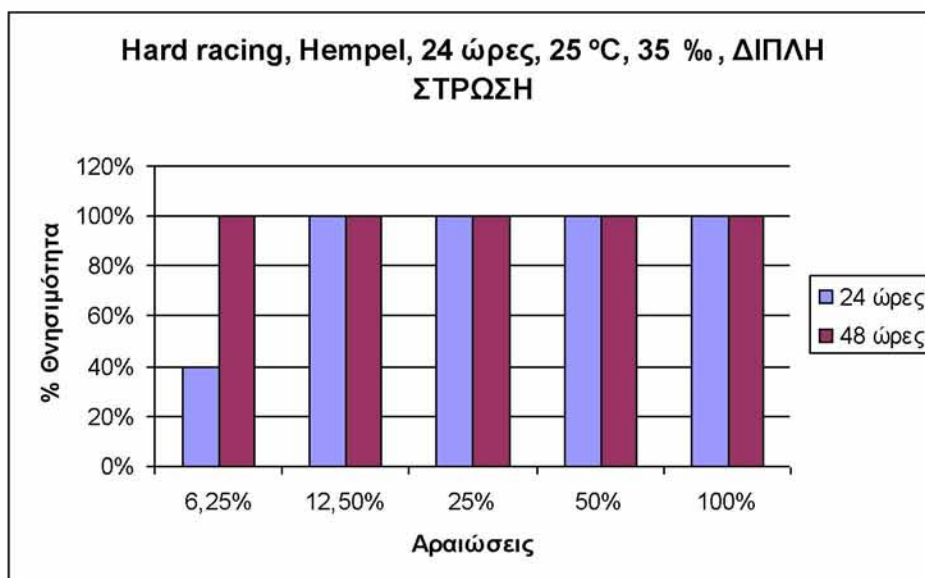
### 3.3.2 Hard racing, Hempel

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰.

Στον Πίνακα 51 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 45) για τη διπλή στρώση βαφής για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel.

**Πίνακας 51:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Hard racing, Hempel, θερμοκρασία 25°C, ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	40%	100%
12,5%	100%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%



**Σχήμα 45:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, διπλή στρώση

Στον Πίνακα 52 παρατίθενται ξανά τα αποτελέσματα μονής στρώσης για πιο εύκολη σύγκριση.

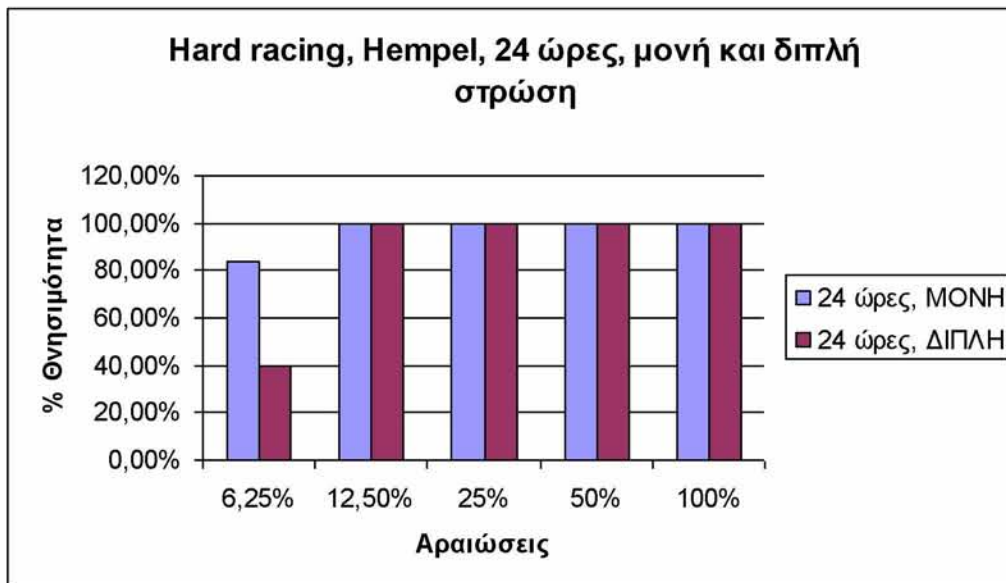
**Πίνακας 52:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Hard racing, Hempel, 25 °C, 35 ‰, ΜΟΝΗ ΣΤΡΩΣΗ

Αραιώσεις	Χρόνος έκθεσης στο τοξικό διάλυμα	
	24 ώρες	48 ώρες
6,25%	83,33 %	100%
12,5%	100%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%

Στους επόμενους πίνακες (Πιν. 53 και 54) και διαγράμματα (Σχ. 46 και 47) πραγματοποιείται σύγκριση στα αποτελέσματα τοξικότητας για τη μονή και τη διπλή στρώση στις 24 και τις 48 ώρες αντίστοιχα.

**Πίνακας 53:** Συγκριτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 ωρών, Hard racing, Hempel, 25 °C, 35 ‰, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

	24 ώρες, ΜΟΝΗ	24 ώρες, ΔΙΠΛΗ
6,25%	83,33 %	40%
12,5%	100%	100%
25%	100%	100%
50%	100%	100%
100%	100%	100%

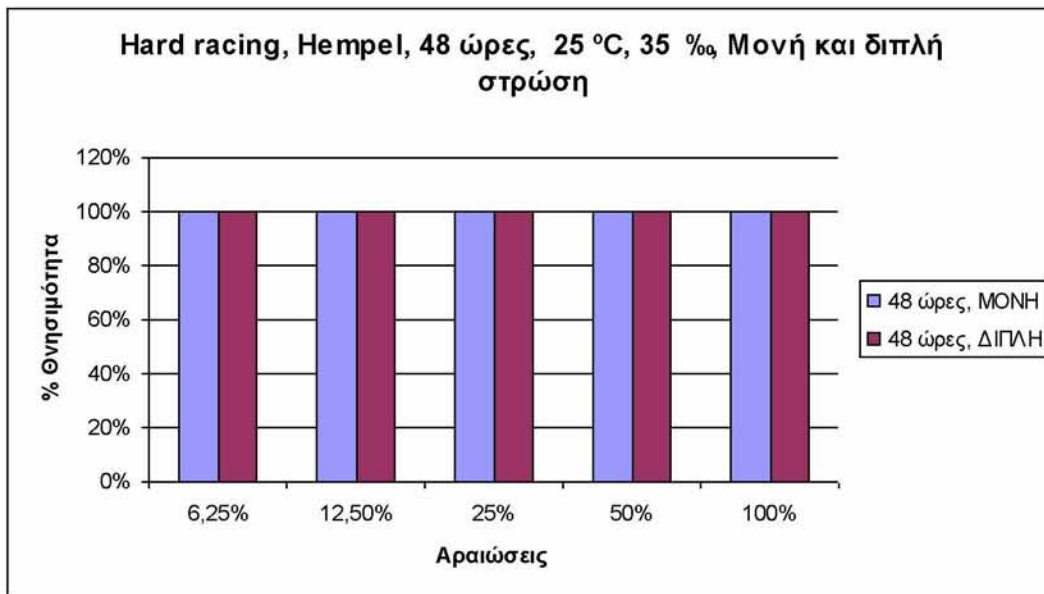


**Σχήμα 46:** Συγκριτικό διάγραμμα % θνησιμότητας 24 ωρών, Hard racing, Hempel, 25 °C, 35 %, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

**Πίνακας 54:** Συγκριτικός Πίνακας % θνησιμότητας 48 ωρών, Hard racing, Hempel, 25 °C, 35 %, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

	<b>48 ώρες, ΜΟΝΗ</b>	<b>48 ώρες, ΔΙΠΛΗ</b>
<b>6,25%</b>	100%	100%
<b>12,5%</b>	100%	100%
<b>25%</b>	100%	100%
<b>50%</b>	100%	100%
<b>100%</b>	100%	100%





**Σχήμα 47:** Συγκριτικό διάγραμμα % θνησιμότητας 48 ωρών, Hard racing, Hempel, 25 °C, 35 %<sub>v</sub>, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

Στον Πίνακα 55 παρουσιάζονται το βάρος και το πάχος της βαμμένης επιφάνειας για τη μονή και διπλή στρώση βαφής που αντιστοιχούν στο υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel.

**Πίνακας 55:** Βάρος και πάχος βαμμένης επιφάνειας, μονή και διπλή στρώση, Hard racing, Hempel

	<b>Βάρος (g)</b>	<b>Πάχος (mm)</b>
<b>Μονή Στρώση</b>	0,55 g	Κάτω: 0,5mm Πάνω: 0,2mm
<b>Διπλή Στρώση</b>	1,17 g	Κάτω: 1,5 mm Πάνω: 1 mm

### 3.3.3 Micron Extra, International

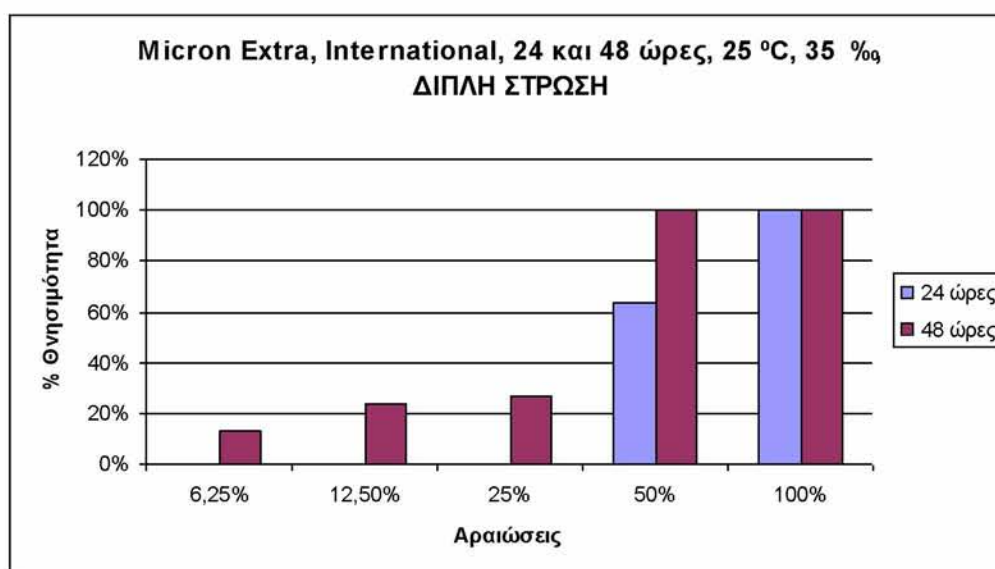
Στο Micron Extra, International για διπλή στρώση πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμές. (Α και Β)

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εξής συνθήκες: χρόνος στεγνώματος 24 ώρες, θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰.

Στον Πίνακα 56 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας και το αντίστοιχο διάγραμμα (Σχ. 48) για τη διπλή στρώση βαφής για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International.

**Πίνακας 56:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, 25 °C, 35 ‰, ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ (Δοκιμή Α)

	<b>24 ώρες</b>	<b>48 ώρες</b>
<b>6,25%</b>	0%	13,33%
<b>12,5%</b>	0%	23,33%
<b>25%</b>	0%	26,67%
<b>50%</b>	63,33%	100%
<b>100%</b>	100%	100%

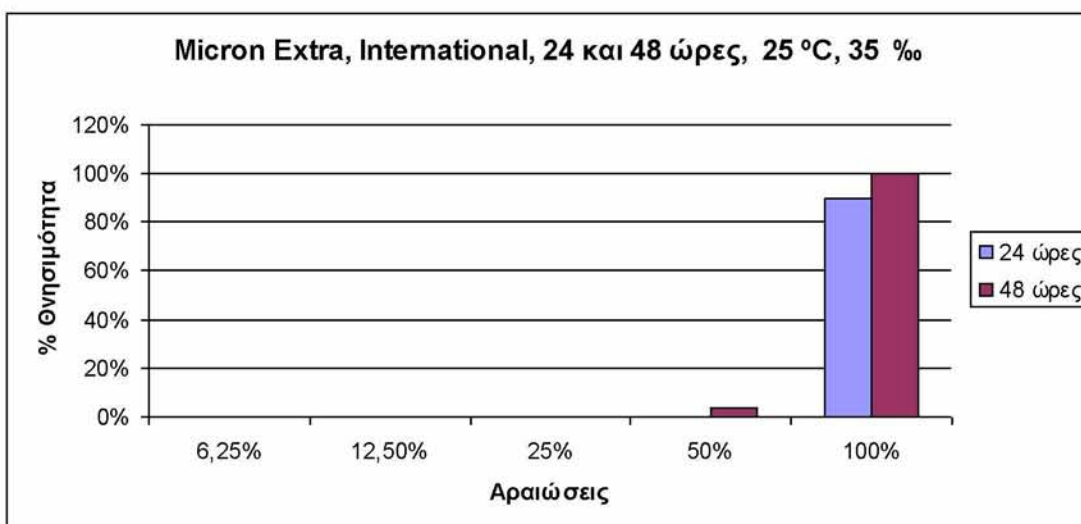


**Σχήμα 48:** Αναλυτικό διάγραμμα τοξικότητας 24 και 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, διπλή στρώση

Στον Πίνακα 57 και το Σχήμα 49 παρατίθενται ξανά τα αποτελέσματα μονής στρώσης για πιο εύκολη σύγκριση. Στους Πίνακες 58 και 59 και τα Σχήματα 49 και 50 πραγματοποιείται σύγκριση των αποτελεσμάτων τοξικότητας μονής και διπλής στρώσης για 24 και 48 ώρες αντίστοιχα.

**Πίνακας 57:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, 25 °C, 35 %, ΜΟΝΗ ΣΤΡΩΣΗ

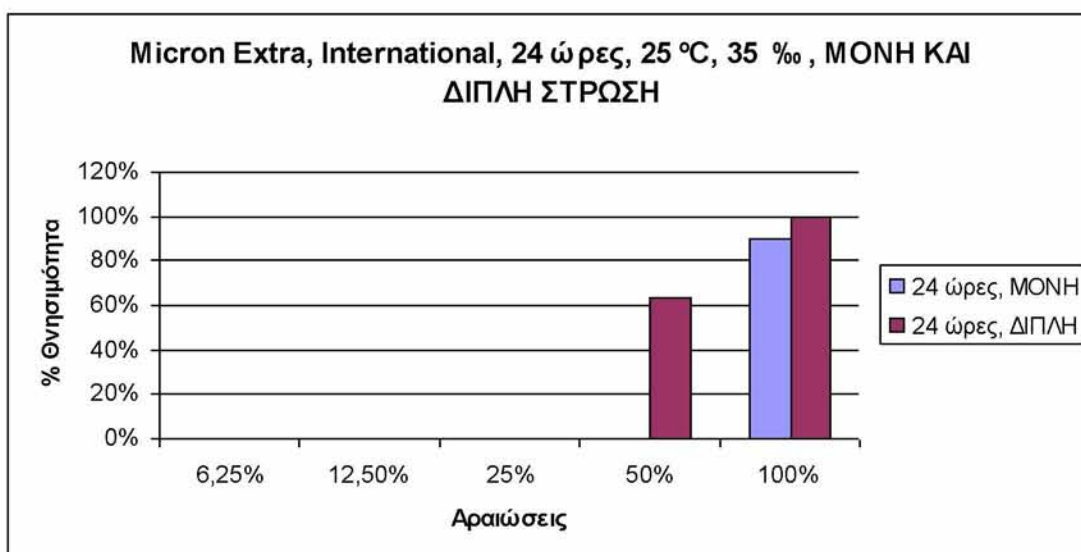
	<b>24 ώρες</b>	<b>48 ώρες</b>
<b>6,25%</b>	0%	0%
<b>12,5%</b>	0%	0%
<b>25%</b>	0%	0%
<b>50%</b>	0%	3,33%
<b>100%</b>	90%	100%



**Σχήμα 49:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, 25 °C, 35 %, ΜΟΝΗ ΣΤΡΩΣΗ

**Πίνακας 58:** Συγκριτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 ωρών, Micron Extra, International, 25 °C, 35 %, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

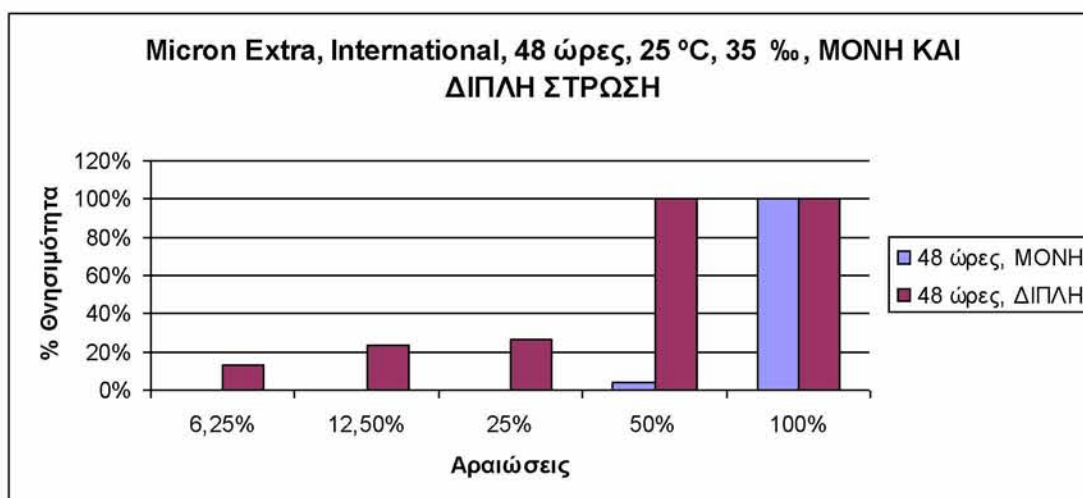
	<b>24 ώρες, ΜΟΝΗ</b>	<b>24 ώρες, ΔΙΠΛΗ</b>
<b>6,25%</b>	0%	0%
<b>12,5%</b>	0%	0%
<b>25%</b>	0%	0%
<b>50%</b>	0%	63,33%
<b>100%</b>	90%	100%



**Σχήμα 50:** Συγκριτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 ωρών, Micron Extra, International, 25 °C, 35 ‰, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

**Πίνακας 59:** Συγκριτικός Πίνακας % θνησιμότητας 48 ωρών, Micron Extra, International, 25 °C, 35 ‰, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

	48 ώρες, ΜΟΝΗ	48 ώρες, ΔΙΠΛΗ
6,25%	0%	13,33%
12,5%	0%	23,33%
25%	0%	26,67%
50%	3,33%	100%
100%	100%	100%



**Σχήμα 51:** Συγκριτικός Πίνακας % θνησιμότητας 48 ωρών, Micron Extra, International, 25 °C, 35 ‰, ΜΟΝΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ

Στον Πίνακα 60 παρουσιάζονται το βάρος και πάχος της βαμμένης επιφάνειας για τη μονή και διπλή στρώση βαφής που αντιστοιχούν στο υφαλόχρωμα Micron Extra, International.

**Πίνακας 60:** Βάρος και πάχος βαμμένης επιφάνειας, μονή και διπλή στρώση, Micron Extra, International

	<b>Βάρος (g)</b>	<b>Πάχος (mm)</b>
<b>Μονή Στρώση</b>	0,955 g	Κάτω: 0,4mm Πάνω: 0,2mm
<b>Διπλή Στρώση</b>	2,36 g	Κάτω: 1,9mm Πάνω: 1,2mm

Στο συγκεκριμένο υφαλόχρωμα η διπλή στρώση επιφέρει αύξηση της θνησιμότητας, γεγονός που επαληθεύεται και από τη δοκιμή Β, που παρατίθεται παρακάτω (Πίνακας 61).

**Πίνακας 61:** Συγκεντρωτικός Πίνακας % θνησιμότητας 24 και 48 ωρών, Micron Extra, International, 25 °C, 35 %, ΔΙΠΛΗ ΣΤΡΩΣΗ (Δοκιμή Β)

	<b>24 ώρες</b>	<b>48 ώρες</b>
<b>6,25%</b>	0%	20%
<b>12,5%</b>	0%	26,67%
<b>25%</b>	0%	33,33%
<b>50%</b>	70%	100%
<b>100%</b>	100%	100%

### 3.3.4 AntiF, Neotex

Για το AntiF, Neotex πραγματοποιήθηκαν πειράματα με μονή και διπλή στρώση και τα αποτελέσματα δεν έδειξαν καμία θνησιμότητα.

Στον Πίνακα 62 παρουσιάζονται το βάρος και πάχος της βαμμένης επιφάνειας για τη μονή και διπλή στρώση βαφής που αντιστοιχούν στο υφαλόχρωμα AntiF, Neotex.

**Πίνακας 62:** Βάρος και πάχος βαμμένης επιφάνειας, μονή και διπλή στρώση, AntiF, Neotex

	Βάρος (g)	Πάχος (mm)
Μονή Στρώση	0,13 g	Κάτω: 0,46 mm Πάνω: 0,73 mm
Διπλή Στρώση	0,38 g	Κάτω: 0,54 mm Πάνω: 0,83 mm

#### 3.4 Έλεγχος τοξικότητας σε στατική και δυναμική φάση

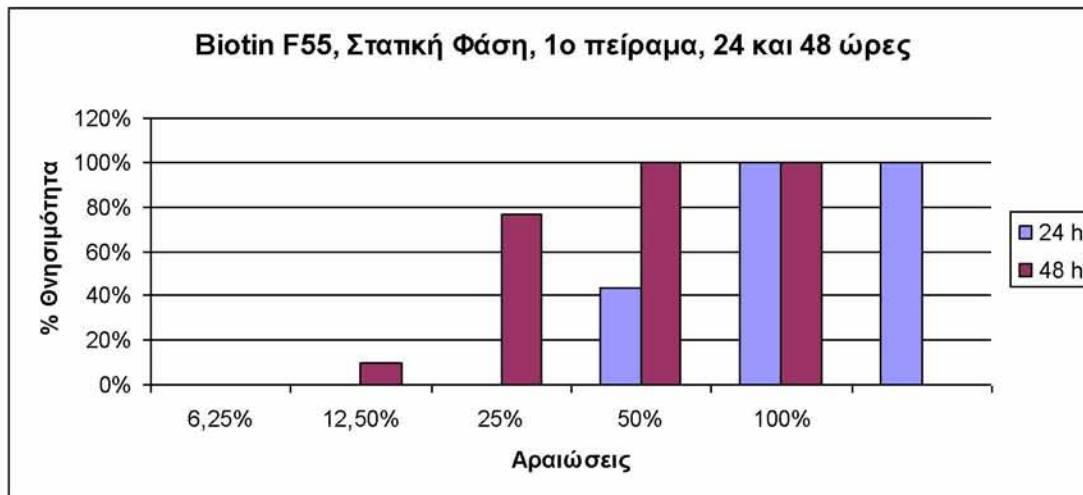
Όλα τα επόμενα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στις εξής συνθήκες: θερμοκρασία: 25 °C, αλατότητα: 35 ‰, χρόνος στεγνώματος 15 ώρες, Στατική ή Δυναμική (Κινητή) φάση και σκοτάδι.

##### 3.4.1 Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's

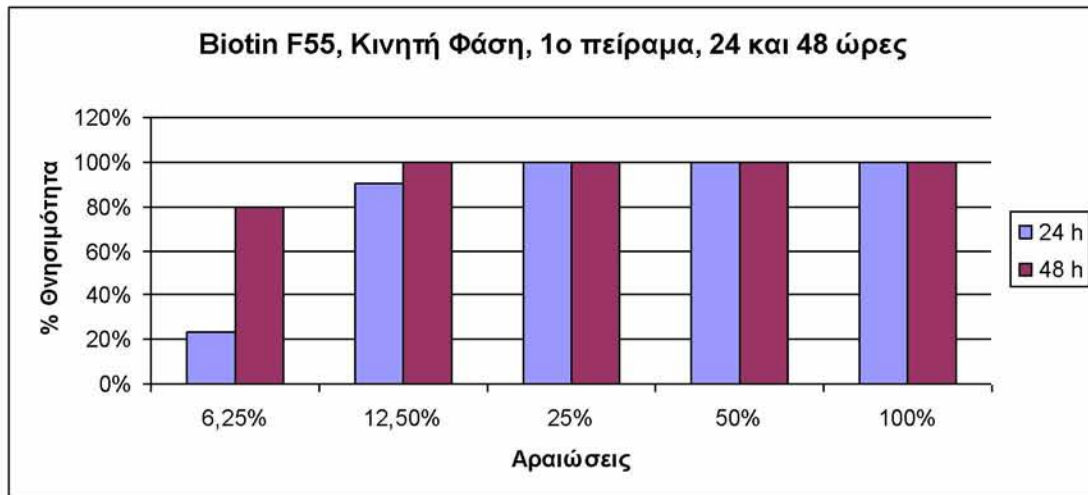
Η θνησιμότητα που βρέθηκε για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's παρουσιάζεται για τη στατική φάση (24 και 48 ώρες αντίστοιχα), την κινητή φάση (24 και 48 ώρες αντίστοιχα) και συγκεντρωτικά τα ποσοστά θνησιμότητας παρουσιάζονται στον Πίνακα 63 και τα Σχήματα 52 και 53.

**Πίνακας 63:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, Στατική και Κινητή φάση

Στατική Φάση			Κινητή Φάση		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>100%</b>	100%	100%	<b>100%</b>	100%	100%
<b>50%</b>	100%	100%	<b>50%</b>	100%	100%
<b>25%</b>	43,33%	76,67%	<b>25%</b>	100%	100%
<b>12,50%</b>	0%	10%	<b>12,50%</b>	90%	100%
<b>6,25%</b>	0%	0%	<b>6,25%</b>	23,33%	80%



**Σχήμα 52:** Συγκεντρωτικό διάγραμμα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, Στατική φάση



**Σχήμα 53:** Συγκενρωτικό διάγραμμα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, Κινητή φάση

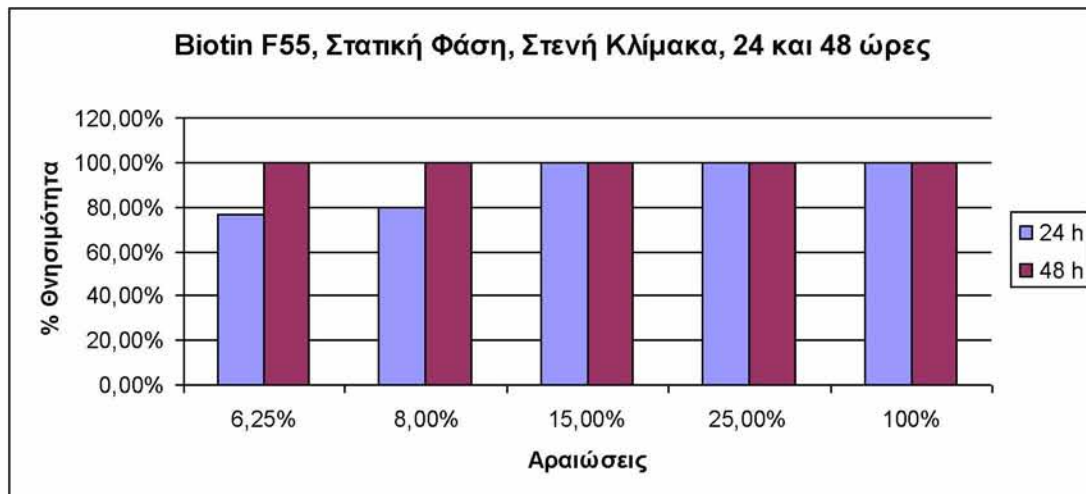
Καθώς παρατηρήθηκαν μεγάλες διαφορές στις θνησιμότητες ανάμεσα στις συγκεντρώσεις 12,5 και 25 % για τη στατική φάση και ανάμεσα στις συγκεντρώσεις 6,25 και 12,5 % στην κινητή φάση, έγινε επανάληψη του πειράματος σε στενή κλίμακα προκειμένου να βρεθεί η  $LC_{50}$ . Για τη στατική φάση χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις 6.25, 8, 15, 25 και 100 %, ενώ για την κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις 6.25, 8, 10, 12.5 και 100 %.

Τα αποτελέσματα του επαναληπτικού πειράματος για στατική και κινητή φάση παρουσιάζονται στον Πίνακα 64 και τα αντίστοιχα διαγράμματα στα Σχήματα 54 και 55.

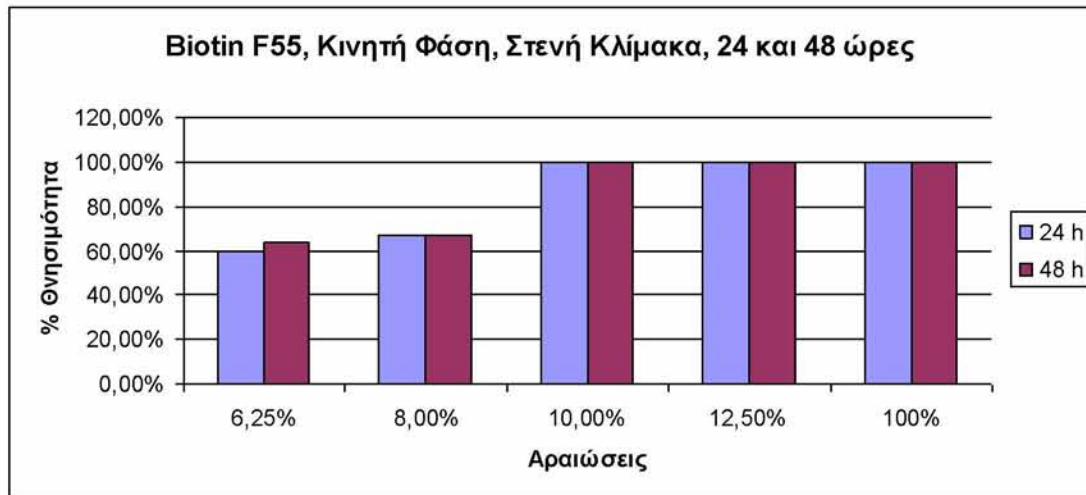


**Πίνακας 64:** Συγκενρωτικά αποτελέσματα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, Στατική και Κινητή φάση, Στενή κλίμακα

Στατική Φάση			Κινητή Φάση		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μ</b>	0%	0%
<b>100%</b>	100%	100%	<b>100%</b>	100%	100%
<b>25,00%</b>	100%	100%	<b>12,50%</b>	100%	100%
<b>15,00%</b>	100%	100%	<b>10%</b>	100%	100%
<b>8,00%</b>	80%	100%	<b>8,00%</b>	66,67%	66,67%
<b>6,25%</b>	76,67%	100%	<b>6,25%</b>	60%	63,33%



**Σχήμα 54:** Συγκενρωτικό διάγραμμα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, Στατική φάση, στενή κλίμακα



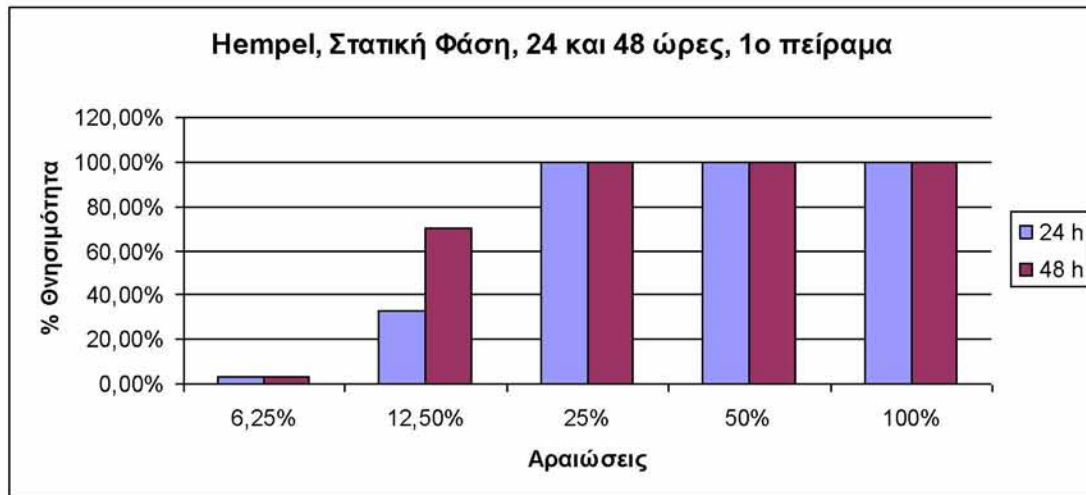
**Σχήμα 55:** Συγκεντρωτικό διάγραμμα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, Κινητή φάση, στενή κλίμακα

### 3.4.2 Hard racing, Hempel

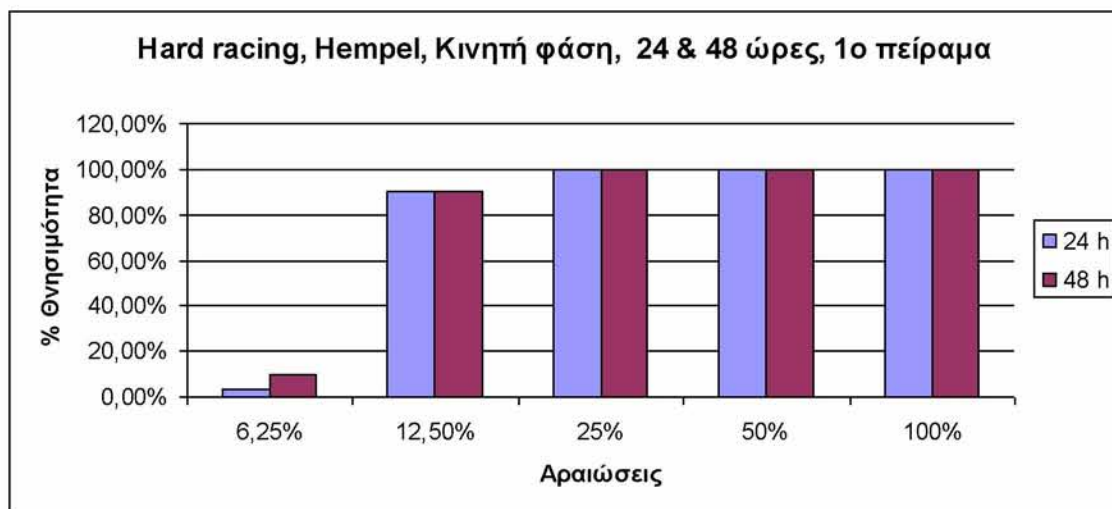
Το Hard racing, Hempel αποδείχτηκε από τα πιο τοξικά υφαλοχρώματα καθώς εμφανίστηκαν πολύ μεγάλες θνησιμότητες στις συγκεντρώσεις 12,5 και πάνω. Τα αποτελέσματα τοξικότητας για στατική και κινητή φάση παρουσιάζονται στον Πίνακα 65 και τα αντίστοιχα διαγράμματα στα Σχήματα 56 και 57.

**Πίνακας 65:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, Στατική και Κινητή φάση

Στατική Φάση			Κινητή Φάση		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>M</b>	0%	0%
<b>100%</b>	100%	100%	<b>100%</b>	100%	100%
<b>50%</b>	100%	100%	<b>50%</b>	100%	100%
<b>25%</b>	100%	100%	<b>25%</b>	100%	100%
<b>12,5%</b>	33,30%	70%	<b>12,5%</b>	90%	90%
<b>6,25%</b>	3,33%	3,33%	<b>6,25%</b>	3,33%	10%



**Σχήμα 56:** Συγκεντρωτικό διάγραμμα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, Στατική φάση

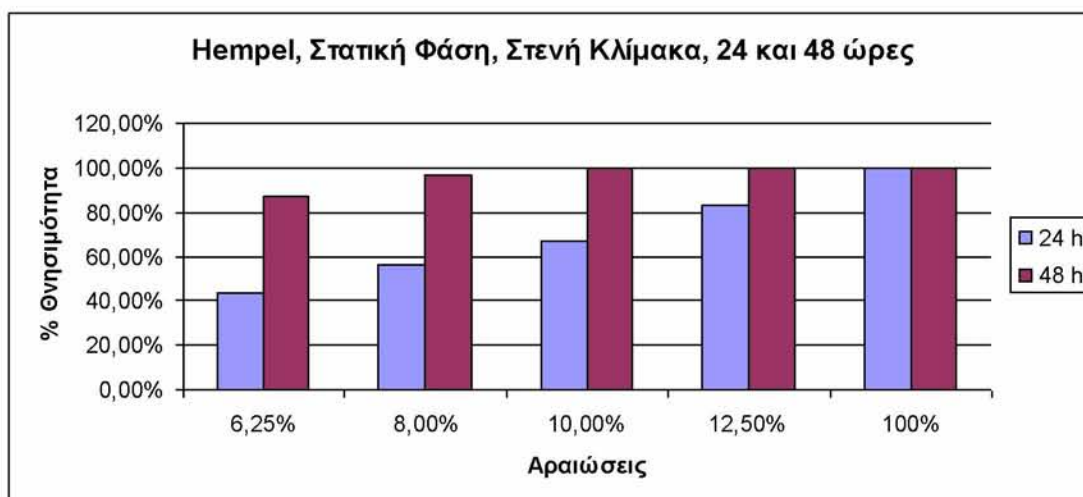


**Σχήμα 57:** Συγκεντρωτικό διάγραμμα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, Κινητή φάση

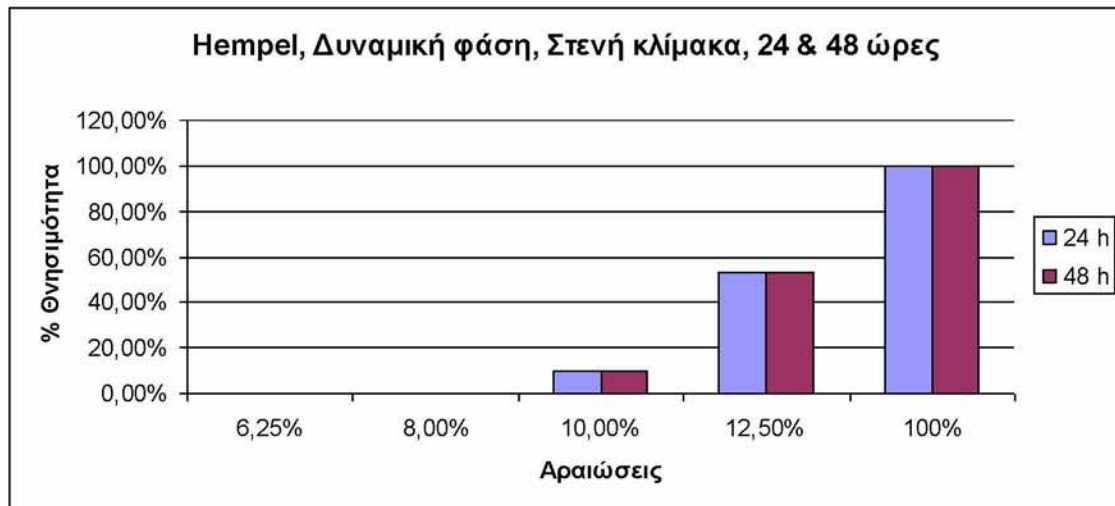
Επειδή εμφανίστηκαν μεγάλες διαφορές στις θνησιμότητες ανάμεσα στις συγκεντρώσεις 6,25 και 12,5, έγινε επανάληψη του πειράματος με στενή κλίμακα αραιώσεων. Για τη στατική φάση χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις 6.25, 8, 10, 12.5 και 100 %, ενώ για την κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις 1.5, 3.10, 6.25, 8 και 12.5 %. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 66 και τα Σχήματα 58 και 59.

**Πίνακας 66:** Συγκενρωτικά αποτελέσματα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, Στατική και Κινητή φάση, Στενή κλίμακα

Στατική Φάση			Κινητή Φάση		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>M</b>	0%	0%	<b>M</b>	0%	0%
<b>100%</b>	100%	100%	<b>12,50%</b>	100%	100%
<b>12,50%</b>	83,33%	100%	<b>8,00%</b>	53,33%	53,33%
<b>10%</b>	66,67%	100%	<b>6,25%</b>	10%	10%
<b>8,00%</b>	56,67%	96,67%	<b>3,10%</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	43,33%	86,67%	<b>1,50%</b>	0%	0%



**Σχήμα 58:** Συγκενρωτικό διάγραμμα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, Στατική φάση, Στενή κλίμακα



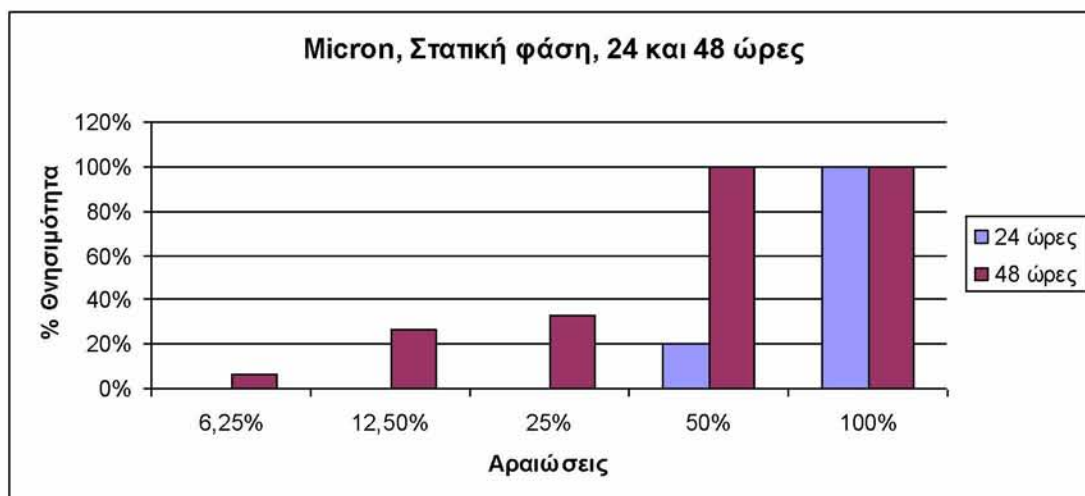
**Σχήμα 59:** Συγκεντρωτικό διάγραμμα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, Κινητή φάση, Στενή κλίμακα

### 3.4.3 Micron Extra, International

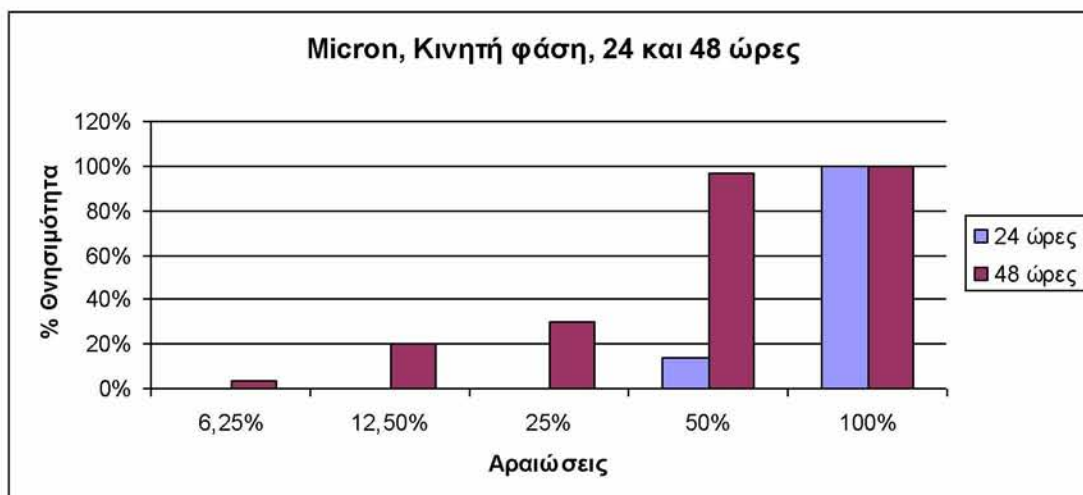
Για το Micron Extra, International πραγματοποιήθηκε μία επανάληψη στην στατική και κινητή φάση. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 67 και τα Σχήματα 60 και 61.

**Πίνακας 67:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, Στατική και Κινητή φάση

Στατική Φάση			Κινητή Φάση		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>100%</b>	100%	100%	<b>100%</b>	100%	100%
<b>50%</b>	20%	100%	<b>50%</b>	13,33%	96,67%
<b>25%</b>	0%	33,33%	<b>25%</b>	0%	30%
<b>12,50%</b>	0%	26,67%	<b>12,50%</b>	0%	20%
<b>6,25%</b>	0%	6,67%	<b>6,25%</b>	0%	3,33%



**Σχήμα 60:** Συγκεντρωτικό διάγραμμα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, Στατική φάση



**Σχήμα 61:** Συγκεντρωτικό διάγραμμα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, Κινητή φάση

### 3.4.4 AntiF, Neotex

Στο υφαλόχρωμα Anti-F δεν παρουσιάστηκε τοξικότητα σε καμία σειρά πειραμάτων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω στον Πίνακα 68.

**Πίνακας 68:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα θνησιμότητας για το υφαλόχρωμα, AntiF, Neotex, Στατική και Κινητή φάση

Αραιώσεις	Αρχικό Πείραμα				Επανάληψη			
	24 h		48 h		24 h		48 h	
	Στατική Φάση	Κινητή Φάση	Στατική Φάση	Κινητή Φάση	Στατική Φάση	Κινητή Φάση	Στατική Φάση	Κινητή Φάση
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	10%	0%
<b>100%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>50%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3,33%
<b>25%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>12,50%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3,33%
<b>6,25%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

### 3.5 Σύγκριση μεθόδων βαμμένων κυλίνδρων και τροποποιημένης σύριγγας

#### 3.5.1. Πειράματα ελέγχου τοξικότητας σε ίδια θερμοκρασία και αλατότητα (25 °C, 35 ‰)

Όλα τα παρακάτω πειράματα πραγματοποιήθηκαν στις εξής συνθήκες:

Χρόνος στεγνώματος: 24 ώρες

Θερμοκρασία: 25 °C

Αλατότητα: 35 ‰

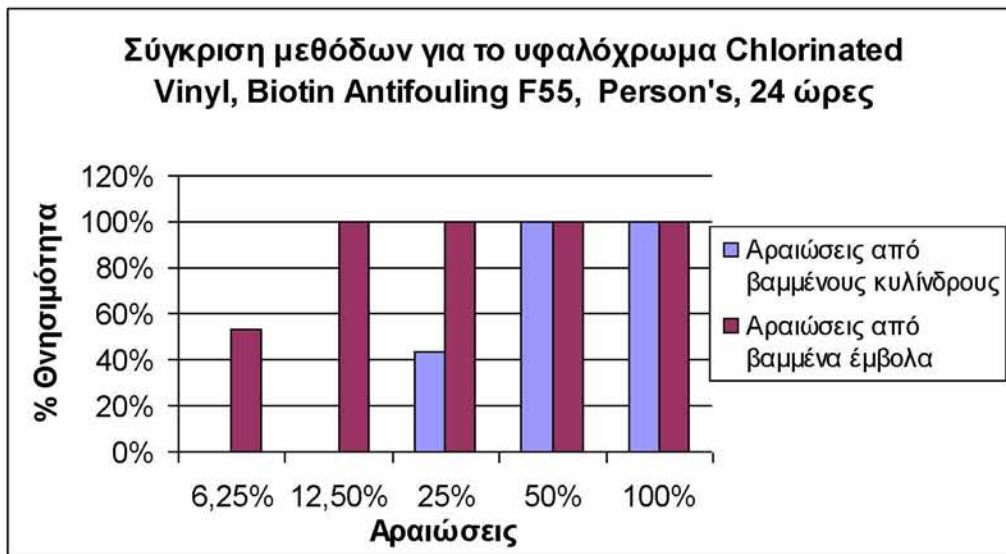
##### 3.5.1.1 Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's

Για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's τα αποτελέσματα από τα πειράματα τοξικότητας με τη μέθοδο των κυλίνδρων και τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi- Catharios *et al.* 2007) παρουσιάζονται στον Πίνακα 69 και τα Σχήματα 62 και 63.

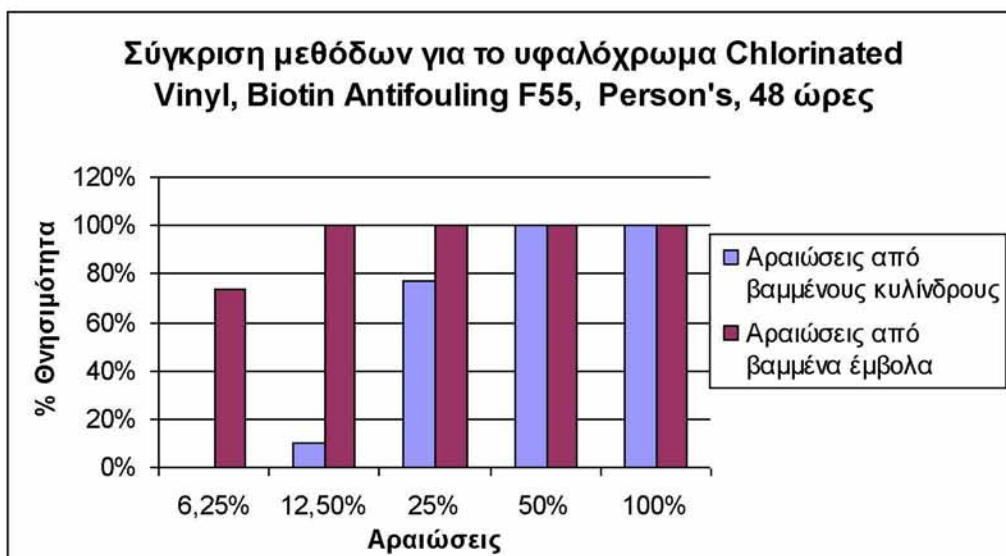
**Πίνακας 69:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας του υφαλοχρώματος Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's από δύο μεθόδους

Αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους			Αραιώσεις από βαμμένα έμβολα		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	0%	0%	<b>6,25%</b>	53,33%	73,33%
<b>12,5%</b>	0%	10%	<b>12,5%</b>	100%	100%
<b>25%</b>	43,33%	76,67%	<b>25%</b>	100%	100%
<b>50%</b>	100%	100%	<b>50%</b>	100%	100%
<b>100%</b>	100%	100%	<b>100%</b>	100%	100%





**Σχήμα 62:** Σύγκριση μεθόδων για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, 24 ώρες



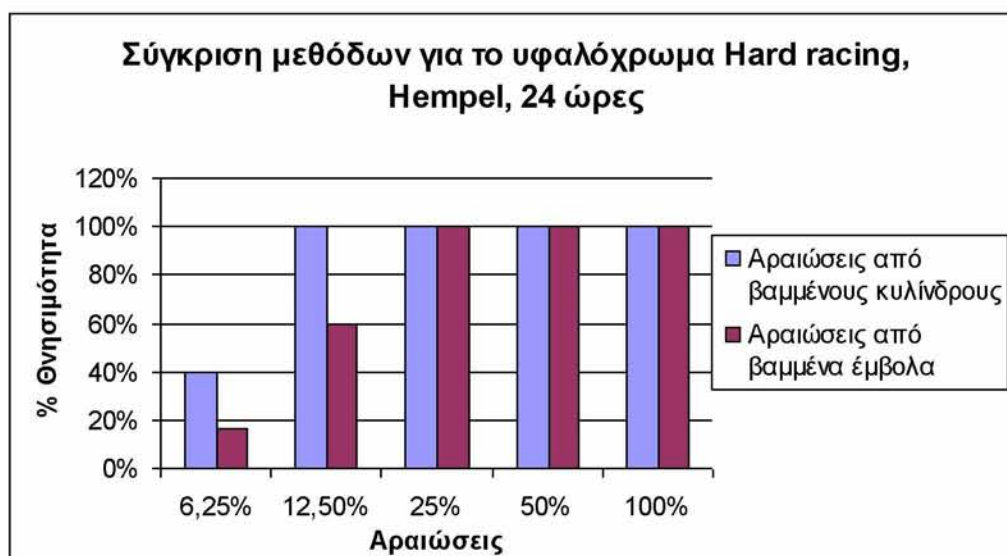
**Σχήμα 63:** Σύγκριση μεθόδων για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, 48 ώρες

### 3.5.1.2 Hard racing, Hempel

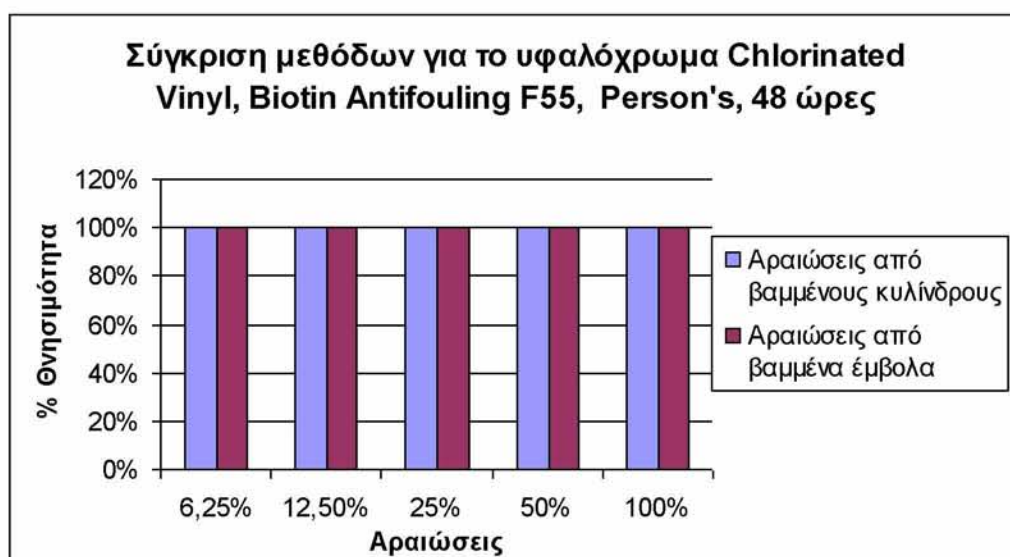
Για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel τα αποτελέσματα από τα πειράματα τοξικότητας με τη μέθοδο των κυλίνδρων και τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi- Catharios *et al.* 2007) παρουσιάζονται στον Πίνακα 70 και τα Σχήματα 64 και 65.

**Πίνακας 70:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας του υφαλοχρώματος Hard racing, Hempel από δύο μεθόδους

Αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους			Αραιώσεις από βαμμένα έμβολα		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	40%	100%	<b>6,25%</b>	16,67%	100%
<b>12,5%</b>	100%	100%	<b>12,5%</b>	60%	100%
<b>25%</b>	100%	100%	<b>25%</b>	100%	100%
<b>50%</b>	100%	100%	<b>50%</b>	100%	100%
<b>100%</b>	100%	100%	<b>100%</b>	100%	100%



**Σχήμα 64:** Σύγκριση μεθόδων για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, 24 ώρες



**Σχήμα 65:** Σύγκριση μεθόδων για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel, 48 ώρες

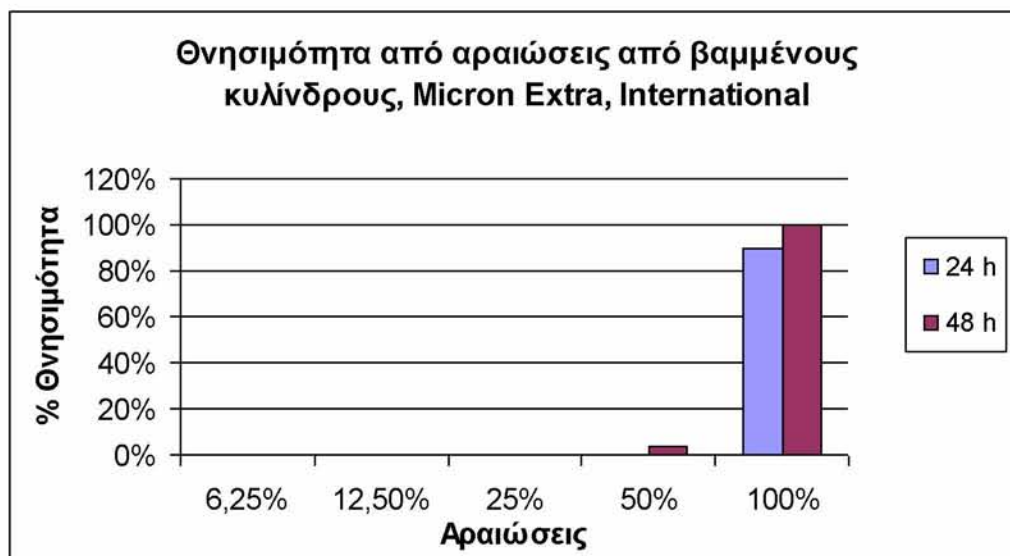
### 3.5.1.3 Micron Extra, International

Για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International τα αποτελέσματα από τα πειράματα τοξικότητας με τη μέθοδο των κυλίνδρων και τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi- Catharios *et al.* 2007) παρουσιάζονται στον Πίνακα 71 και τα Σχήματα 66 και 67.

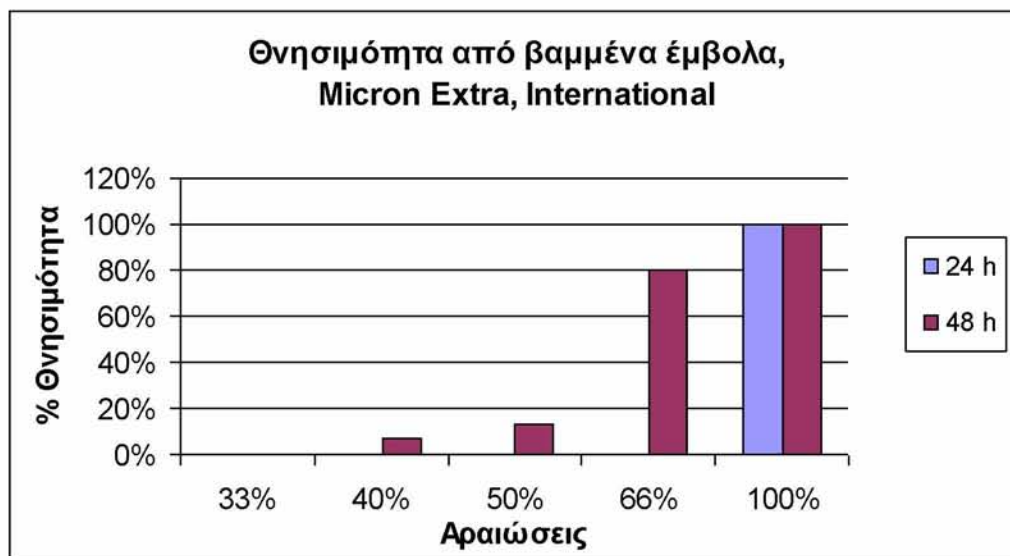
**Πίνακας 71:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας του υφαλοχρώματος Micron Extra, International από δύο μεθόδους

Αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους			Θνησιμότητα από βαμμένα έμβολα		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	0%	0%	<b>33%</b>	0%	0%
<b>12,5%</b>	0%	0%	<b>40 %</b>	0%	6,67%
<b>25%</b>	0%	0%	<b>50%</b>	0%	13,33%
<b>50%</b>	0%	3,33%	<b>66%</b>	0%	80%
<b>100%</b>	90%	100%	<b>100%</b>	100%	100%

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα το Micron Extra, International, θεωρείται τοξικό υφαλόχρωμα, με  $LC_{50}$  24 ωρών και  $LC_{50}$  48 ωρών μεταξύ 100% και 50%.



Σχήμα 66: Θνησιμότητα από αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους, Micron Extra, International



Σχήμα 67: Θνησιμότητα από βαμμένα έμβολα, Micron Extra, International

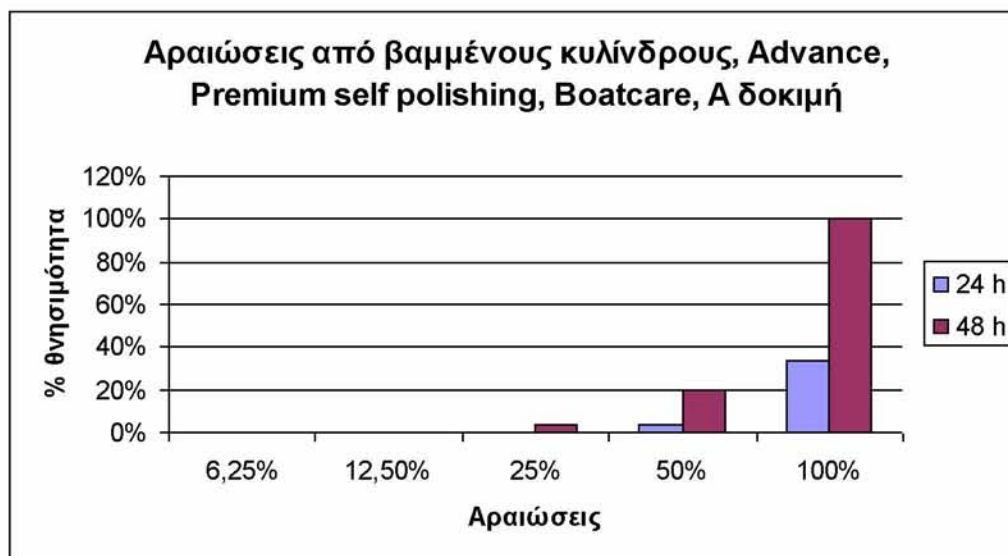
### 3.5.1.4 Advance, Premium self polishing, Boatcare

Για το υφαλόχρωμα Advance, Premium self polishing, Boatcare τα αποτελέσματα από τα πειράματα τοξικότητας με τη μέθοδο των κυλίνδρων και τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi- Catharios *et al.* 2007) παρουσιάζονται στον Πίνακα 72 και τα Σχήματα 68 και 69.

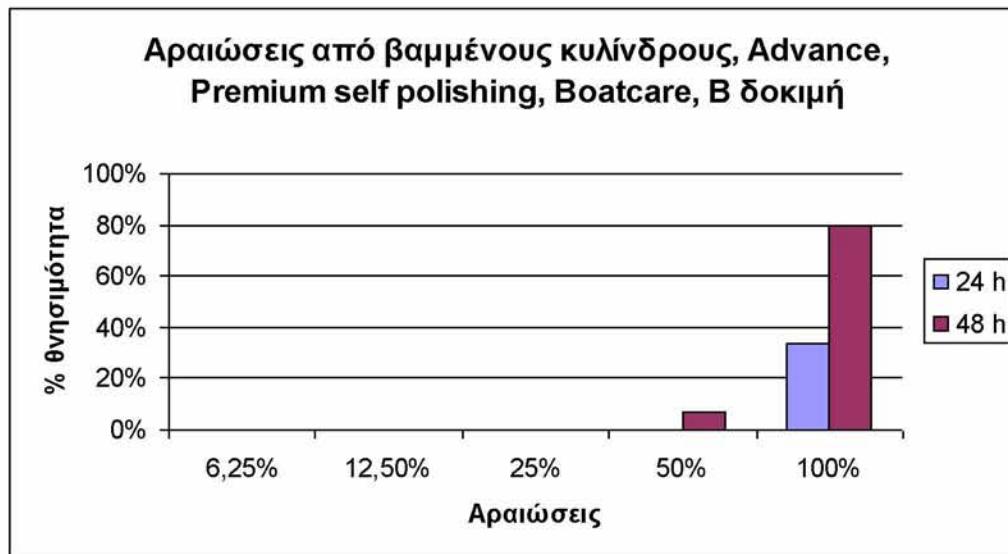
Για τη μέθοδο του βαμμένου κυλίνδρου πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμές.

**Πίνακας 72:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας του υφαλοχρώματος Advance, Premium self polishing, Boatcare από βαμμένους κυλίνδρους

Αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους (Α δοκιμή)			Αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους (Β δοκιμή)		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	0%	0%	<b>6,25%</b>	0%	0%
<b>12,5%</b>	0%	0%	<b>12,5%</b>	0%	0%
<b>25%</b>	0%	3,33%	<b>25%</b>	0%	0%
<b>50%</b>	3,33%	20%	<b>50%</b>	0%	6,67%
<b>100%</b>	33,33%	100%	<b>100%</b>	33,33%	80%



**Σχήμα 68:** Θνησιμότητα από αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους, Α δοκιμή

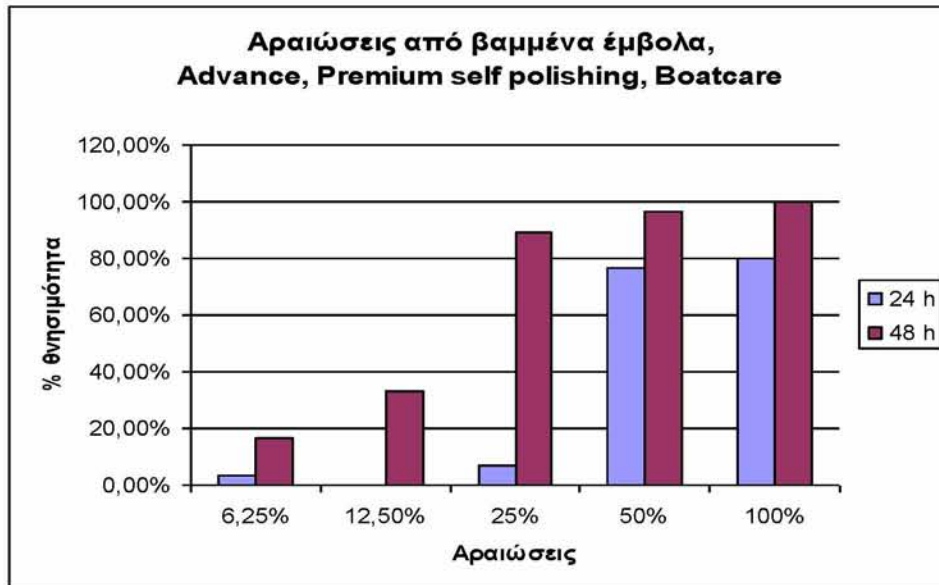


**Σχήμα 69:** Θνησιμότητα από αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους, B δοκιμή

Παρατηρήθηκαν διαφορές στη θνησιμότητα που εμφανίζεται σε κάθε επανάληψη στο συγκεκριμένο υφαλόχρωμα, παρά το γεγονός ότι οι συνθήκες διεξαγωγής του πειράματος ήταν ακριβώς ίδιες. Στον Πίνακα 73 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τοξικότητας από αραιώσεις από βαμμένα έμβολα, ενώ το αντίστοιχο διάγραμμα παρουσιάζεται στο Σχήμα 70.

**Πίνακας 73:** Συγκενρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας του υφαλοχρώματος Advance, Premium self polishing, Boatcare από βαμμένα έμβολα

<b>Αραιώσεις από βαμμένα έμβολα</b>		
<b>Συγκέντρωση</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	3,33%	16,67%
<b>12,5%</b>	0%	33,33%
<b>25%</b>	6,67%	88,89%
<b>50%</b>	76,67%	96,67%
<b>100%</b>	80%	100%



**Σχήμα 70:** Θνησιμότητα από αραιώσεις από βαμμένα έμβολα

### 3.5.1.5 Endurance AntiF for power cruising, Boatcare

Για το υφαλόχρωμα Endurance AntiF for power cruising, Boatcare τα αποτελέσματα από τα πειράματα τοξικότητας με τη μέθοδο των κυλίνδρων και τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi- Catharios *et al.* 2007) παρουσιάζονται παρακάτω. Για τη μέθοδο του βαμμένου κυλίνδρου πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμές, οι οποίες παρουσιάζονται στον Πίνακα 74.

**Πίνακας 74:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας του υφαλοχρώματος Endurance AntiF for power cruising, Boatcare από βαμμένους κυλίνδρους

Αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους (Α δοκιμή)			Αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους (Β δοκιμή)		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	0%	0%	<b>6,25%</b>	0%	0%
<b>12,5%</b>	0%	0%	<b>12,5%</b>	0%	0%
<b>25%</b>	0%	3,33%	<b>25%</b>	0%	3,33%
<b>50%</b>	0%	3,33%	<b>50%</b>	0%	3,33%
<b>100%</b>	0%	6,67%	<b>100%</b>	6,67%	20%

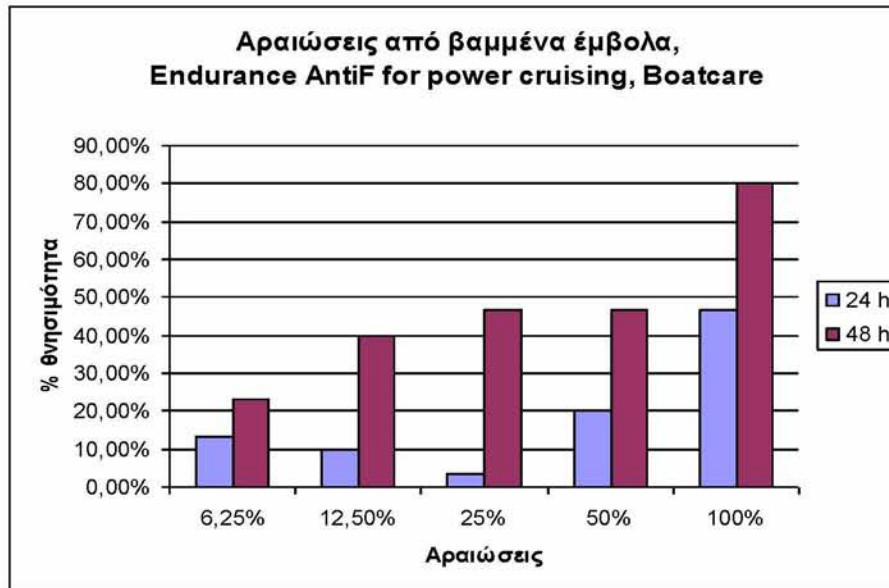
Παρατηρήθηκε ότι στην Α δοκιμή δεν παρουσιάζεται τοξικότητα, ενώ στη Β δοκιμή στις 48 ώρες και στο αρχικό διάλυμα (100) υπάρχει θνησιμότητα 20%. Έτσι, το υφαλόχρωμα Endurance AntiF for power cruising, Boatcare, με τη συγκεκριμένη μέθοδο θεωρείται μη τοξικό.

Τα συγκεκριμένα πειράματα επαναλήφθηκαν με αραιώσεις από βαμμένα έμβολα με σκοπό τη διερεύνηση της τοξικότητας και την επαλήθευση των αποτελεσμάτων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 75 και το αντίστοιχο διάγραμμα στο Σχήμα 71.

**Πίνακας 75:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας του υφαλοχρώματος Endurance AntiF for power cruising, Boatcare από βαμμένα έμβολα

<b>Αραιώσεις από βαμμένα έμβολα</b>		
<b>Συγκέντρωση</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	13,3%	23,33%
<b>12,5%</b>	10%	40%
<b>25%</b>	3,33%	46,6%
<b>50%</b>	20%	46,6%
<b>100%</b>	46,6%	80%





**Σχήμα 71:** Θνησιμότητα από αραιώσεις από βαμμένα έμβολα

Με τη συγκεκριμένη μέθοδο το υφαλόχρωμα Endurance AntiF for power cruising, Boatcare παρουσιάζει σχετικά υψηλή τοξικότητα, στις 48 ώρες.

#### 3.5.1.6 Professional AFP, Attiva Marine

Για το υφαλόχρωμα Professional AFP, Attiva Marine τα αποτελέσματα από τα πειράματα τοξικότητας με τη μέθοδο των κυλίνδρων και τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi- Catharios *et al.* 2007) παρουσιάζονται στον Πίνακα 76.

**Πίνακας 76:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας του υφαλοχρώματος Professional AFP, Attiva Marine από δύο μεθόδους

Αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους			Αραιώσεις από βαμμένα έμβολα		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	0%	3,33%	<b>6,25%</b>	3,33%	6,67%
<b>12,5%</b>	0%	3,33%	<b>12,5%</b>	10%	23,3%
<b>25%</b>	0%	3,33%	<b>25%</b>	0%	6,67%
<b>50%</b>	0%	3,33%	<b>50%</b>	3,33%	16,6%
<b>100%</b>	0%	6,67%	<b>100%</b>	50%	66,67%

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα το υφαλόχρωμα Professional AFP, Attiva Marine, δε θεωρείται τοξικό με τη μέθοδο των κυλίνδρων. Ωστόσο, με τη μέθοδο των βαμμένων εμβόλων παρουσιάζει τοξικότητα.

#### 2.5.1.7 Classic, Syntex

Για το υφαλόχρωμα Classic, Syntex τα αποτελέσματα από τα πειράματα τοξικότητας με τη μέθοδο των κυλίνδρων και τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi- Catharios *et al.* 2007) παρουσιάζονται στον Πίνακα 77.

**Πίνακας 77:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας του υφαλοχρώματος Classic, Syntex από δύο μεθόδους

Αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους			Αραιώσεις από βαμμένα έμβολα		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	0%	3,33%	<b>6,25%</b>	0%	10%
<b>12,5%</b>	0%	3,33%	<b>12,5%</b>	10%	13,33%
<b>25%</b>	0%	3,33%	<b>25%</b>	0%	10%
<b>50%</b>	0%	3,33%	<b>50%</b>	6,67%	36,67%
<b>100%</b>	6,67%	26,67%	<b>100%</b>	0%	3,33%

Παρατηρείται μικρή θνησιμότητα (26,67%) στις 48 ώρες στο αρχικό τοξικό διάλυμα (100).

#### 2.5.1.8 AntiF, Neotex

Για το υφαλόχρωμα AntiF, Neotex τα αποτελέσματα από τα πειράματα τοξικότητας με τη μέθοδο των κυλίνδρων και τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi- Catharios *et al.* 2007) παρουσιάζονται στον Πίνακα 78.

**Πίνακας 78:** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα τοξικότητας του υφαλοχρώματος AntiF, Neotex από δύο μεθόδους

Αραιώσεις από βαμμένους κυλίνδρους			Αραιώσεις από βαμμένα έμβολα		
Συγκέντρωση	24 h	48 h	Συγκέντρωση	24 h	48 h
<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%	<b>Μάρτυρας</b>	0%	0%
<b>6,25%</b>	0%	0%	<b>6,25%</b>	0%	0%
<b>12,5%</b>	0%	0%	<b>12,5%</b>	0%	0%
<b>25%</b>	0%	0%	<b>25%</b>	0%	0%
<b>50%</b>	0%	0%	<b>50%</b>	0%	0%
<b>100%</b>	0%	0%	<b>100%</b>	0%	0%

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η αξιολόγηση μιας τροποποιημένης μεθόδου που βασίζεται στην έρευνα των Persoone and Castritsi- Catharios (1989), O.B.I. 20040100346 και η προσπάθεια τυποποίησής της αποτέλεσαν το βασικό στόχο κατά την πραγματοποίηση των πειραμάτων τοξικότητας.

Καταρχάς, η χρήση της *Artemia* σε βραχυπρόθεσμες βιοδοκιμές ελέγχου τοξικότητας τις τελευταίες δεκαετίες είναι ενδεδειγμένη και ιδιαίτερα πλεονεκτική όταν απαιτείται έγκαιρη διάγνωση της τοξικής δράσης των υφαλοχρωμάτων. Η *Artemia* αποτελεί ίσως ένα από τα πιο πολύτιμα διαθέσιμα πειραματόζωα σε δοκιμές οικοτοξικολογίας και οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί έως τώρα επιβεβαιώνουν την επιλογή της σε μία ευρεία κλίμακα πειραματικών διαδικασιών. Βασικά πλεονεκτήματα της χρήσης της ως πειραματόζωο είναι η διαθεσιμότητά της, το χαμηλό κόστος και η ευκολία κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων. Η εκκόλαψη των κύστεών της είναι εύκολη, ανέξοδη και ευνοείται από την ευελιξία της σε θρεπτικές πηγές, την ανοχή της σε μια ευρεία κλίμακα θερμοκρασίας και αλατότητας, τον εύκολο χειρισμό, το σύντομο χρόνο παραγωγής ναυπλίων και την αυξημένη αναπαραγωγική ικανότητα. Επίσης, στα πειράματα ελέγχου τοξικότητας όπου μελετάται η θνησιμότητα των ναυπλίων, η λήψη αποτελεσμάτων είναι εύκολη, αφού έχουν τη μορφή δυαδικών απαντήσεων (ζωής ή θανάτου). Η συγκεκριμένη προσέγγιση αποδεικνύεται χρήσιμη για μια σφαιρική προσέγγιση των κινδύνων που σχετίζονται με τα οικοσυστήματα, μέσω της ενσωμάτωσης των αποτελεσμάτων σε ποικίλα οργανωτικά και τροφικά επίπεδα.

Στην περίπτωση των πειραμάτων τοξικότητας που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα, δεν απαιτείται προσθήκη θρεπτικών συστατικών για την ανάπτυξη της *Artemia* σε τόσο σύντομο χρονικό διάστημα, γεγονός που διευκολύνει την

πειραματική διαδικασία και μειώνει τις πιθανότητες εμφάνισης θνησιμότητας από εξωγενείς παράγοντες. Μετά την εκκόλαψη λαμβάνεται ένας σημαντικός αριθμός ναυπλίων ίδιου αναπτυξιακού σταδίου οι οποίοι τρεφόμενοι από τη λέκιθο, αναπτύσσονται μέχρι και τις 72 ώρες χωρίς να απαιτείται εξωγενής προσθήκη τροφής. Αυτό είναι ένα σημαντικό πλεονέκτημα της *Artemia* στα πειράματα της παρούσας εργασίας όπου η μέγιστη διάρκεια χρήσης των πειραματόζωων ήταν 72 ώρες.

Από την άλλη πλευρά, η ανθεκτικότητα της *Artemia* έχει απασχολήσει ιδιαίτερα την επιστημονική κοινότητα και έχει οδηγήσει στην αμφισβήτηση της επιλογής της σε πειράματα Οικοτοξικολογίας. Στην παρούσα πειραματική μελέτη, η *Artemia* παρουσίασε ιδιαίτερη ανοχή τόσο σε τοξικούς παράγοντες όσο και σε αλλαγές των αβιοτικών συνθηκών, γεγονός που επιβεβαιώνει την αντοχή της σε δυσμενείς συνθήκες θρεπτικών και την μερική αδυναμία αξιολόγησης των τοξικών δράσεων και επιπτώσεων των υφαλοχρωμάτων που μελετήθηκαν στο περιβάλλον. Πράγματι, η *Artemia* αποτελεί ένα από τα λιγότερο ευαίσθητα είδη στην Οικοτοξικολογία, σε σύγκριση με άλλους οργανισμούς υπό τις ίδιες πειραματικές συνθήκες, όπως *Streptocephalus rubricaudatus* και *S. texanus* (Crisinel et al. 1994), *Echinometra lucunter* και *Crassostrea rhizophorae* (Nascimento et al. 2000) ή φύκη όπως *Selenastrum capricornutum* και *Dunaliella tertiolecta* (Gaggi et al. 1994). Ο Guerra (2001) επισήμανε την ανθεκτικότητα της *Artemia* σε σχέση με εμπορικά διαθέσιμους ελέγχους τοξικότητας (Microtox και Rotokit M), καθώς και σε σύγκριση με την τυποποιημένη μέθοδο της *Daphnia magna*. Ωστόσο, η προσαρμοστικότητα της *Artemia* σε μια ποικιλία συνθηκών δοκιμής ανταποκρίνεται στις πραγματικές απαιτήσεις των τυποποιημένων δοκιμών. Η γενετική ποικιλότητα των παρθενογενετικών στελεχών που χαρακτηρίζει το πειραματόζωο μπορεί να αποτελέσει πλεονέκτημα μέσω της επιλογής

του πλέον κατάλληλου στελέχους με βάση τις απαιτήσεις σε ευαισθησία, τα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά, τη σχετική αφθονία και τη γεωγραφική κατανομή. Έτσι, η εκ φύσεως ανθεκτικότητά της μπορεί να αντιμετωπιστεί ως πλεονέκτημα, σε σύγκριση με άλλα πειραματόζωα που είναι λιγότερο προσαρμοσμένα σε μια τόσο ευρεία κλίματα αβιοτικών συνθηκών.

Η ακρίβεια της μεθόδου εξετάστηκε και με την αξιολόγηση της ομοιομορφίας κατά την επίστρωση του υφαλοχρώματος και τη μελέτη του πάχους της βαμμένης επιφάνειας. Η απόκλιση που εμφανίστηκε στο πάχος της βαμμένης επιφάνειας επιβεβαιώνει ότι η ακρίβεια της συγκεκριμένης μεθόδου δεν είναι τόσο υψηλή όσο εκείνη της μεθόδου των *Castritsi-Catharios et al.* (2007) με τη χρήση τροποποιημένης σύριγγας για τη βαφή των επιφανειών. Η ακρίβεια της μεθόδου των *Castritsi-Catharios et al.* (2007) επαληθεύτηκε με Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM), με τη βοήθεια της οποίας μετρήθηκε το πάχος της βαμμένης επιφάνειας των δίσκων, η βαφή των οποίων θα μπορούσε να θεωρηθεί τυποποιημένη, αφού δεν παρουσίασε απόκλιση σε καμία περίπτωση. Αντίθετα, με τη μέθοδο των βαμμένων κυλίνδρων όπου η βαφή των επιφανειών εξαρτάται κάθε φορά από τη σταθερότητα των χειρισμών του ερευνητή και το χρόνο παραμονής του κυλίνδρου στο υφαλόχρωμα κατά την πραγματοποίηση της διαδικασίας η απόκλιση των μετρήσεων πάχους και βάρους επιβεβαιώνουν το αποτέλεσμα.

Από τα αρχικά πειράματα ελέγχου τοξικότητας που πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰ για όλα τα υφαλοχρώματα, τα μεγαλύτερα ποσοστά θνησιμότητας παρατηρήθηκαν στην περίπτωση του υφαλοχρώματος *Hard racing, Hempel*, όπου η θνησιμότητα φτάνει το 100% στις 48 ώρες έκθεσης στον τοξικό παράγοντα ακόμα και στη μικρότερη συγκέντρωση (6,25%). Επίσης, τοξικά

υφαλοχρώματα θεωρούνται τα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's και Micron Extra, International τα οποία εμφάνισαν επίσης υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, μικρότερα όμως από αυτά του Hard racing, Hempel. Ακολουθεί το υφαλόχρωμα Advance, Premium self polishing, Boatcare, το οποίο εμφάνισε υψηλά ποσοστά τοξικότητας στο 100% σε 48 ώρες έκθεσης στον τοξικό παράγοντα. Τα υφαλοχρώματα Endurance AntiF for power cruising της Boatcare, Professional AFP της Attiva Marine, Classic της Syntex και AntiF της Neotex δεν εμφάνισαν υψηλή τοξικότητα και με τη μέθοδο των αραιώσεων από βαμμένους κυλίνδρους θεωρούνται μη τοξικά.

Για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, αφού παρουσίασε υψηλή θνησιμότητα και θεωρήθηκε τοξικό, πραγματοποιήθηκε έλεγχος τοξικότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες και αλατότητες. Στην περίπτωση όπου η αλατότητα παρέμεινε σταθερή (35 ‰) και μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας, τα μεγαλύτερα ποσοστά θνησιμότητας παρατηρήθηκαν στους 25 °C. Σε 24 ώρες έκθεσης στον τοξικό παράγοντα και σε εύρος θερμοκρασίας 10- 25 °C παρατηρήθηκε πως όσο η θερμοκρασία μειώνεται, τόσο ελαττώνεται και η θνησιμότητα της *Artemia franciscana*. Στη συγκεκριμένη περίπτωση η μείωση της θερμοκρασίας, ελαττώνει την τοξική δράση των ενεργών συστατικών του συγκεκριμένου υφαλοχρώματος. Σε θερμοκρασία 5 °C εμφανίστηκαν γενικά μικρότερα ποσοστά θνησιμότητας, ενώ τα πειραματόζωα παρέμειναν νάνα και εμφάνισαν χαμηλή κινητικότητα. Το γεγονός αυτό μπορεί να δικαιολογηθεί με δεδομένο ότι το εύρος της θερμοκρασίας στην οποία μπορεί να αναπτυχθεί η *Artemia* είναι 6-35 °C, ενώ η αλατότητα στην οποία προσαρμόζεται είναι 5–250 ‰ (Nunes *et al.* 2006). Η χαμηλή θερμοκρασία εμποδίζει τη σωστή ανάπτυξη της *Artemia*, γεγονός που δικαιολογεί το μικρό της μέγεθος. Ακόμη και ύστερα από 48 ώρες έκθεσης στον τοξικό παράγοντα (με ηλικία περίπου 72 ωρών) η

*Artemia* δεν έχει αναπτύξει πεπτικό σωλήνα και το μήκος της εξακολουθεί να είναι εμφανώς μικρότερο από το θεωρητικά αναμενόμενο μήκος που αντιστοιχεί σε φυσιολογικές συνθήκες (θερμοκρασία 25 °C και αλατότητα 35 ‰). Για τις περιπτώσεις ελέγχου τοξικότητας σε θερμοκρασίες 10, 15 και 25 °C, σε 48 ώρες έκθεσης στον τοξικό παράγοντα στις θερμοκρασίες 10 και 15 °C παρατηρείται κατακόρυφη αύξηση θνησιμότητας, κυρίως γύρω από την αραίωση 25%.

Η μείωση της τοξικότητας μπορεί να αποδοθεί στους μειωμένους μεταβολικούς ρυθμούς που παρουσιάζει η *Artemia* σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Οι υψηλότεροι μεταβολικοί ρυθμοί δείχνουν μεγαλύτερα ποσοστά ενεργειακών δαπανών και η αύξηση του μεταβολισμού που προκαλεί η αύξηση της θερμοκρασίας μπορεί να οδηγήσει σε ταχύτερη εξάντληση των ενεργειακών αποθεμάτων καθιστώντας το πειραματόζωο πιο ευαίσθητο στις τοξικές ουσίες.

Επίσης, είναι πιθανό να υπάρχει και άλλος τρόπος με τον οποίο η θερμοκρασία επηρεάζει την τελική τοξική επίδραση. Η θερμοκρασία ίσως επηρεάζει όχι μόνο την κατάσταση της *Artemia* από άποψη φυσιολογίας (και διαδοχικά την ευαισθησία της), αλλά επιδρά και στη βιοδιαθεσιμότητα του τοξικού παράγοντα. Η μείωση της θερμοκρασίας μειώνει αντίστοιχα τη διαλυτότητα των στερεών ενώσεων στο νερό. Το γεγονός αυτό δικαιολογεί τόσο τα διαφορετικά ποσοστά θνησιμότητας που παρατηρούνται κατά τη μείωση της θερμοκρασίας όσο και την ποικιλία των αποτελεσμάτων που παρατηρούνται όταν συγκρίνεται η τοξικότητα διαφορετικών ουσιών. Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώνεται από παρόμοια αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν από τους Kwok και Leung (2005) στη μελέτη των οποίων η αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνει σε ένα πολύ υψηλότερο βαθμό την τοξικότητα του χαλκού



σε σύγκριση με την τοξικότητα του TBT σε ισοτοξικές συγκεντρώσεις στο κωπήποδο *Tigriopus japonicus*.

Στην περίπτωση του υφαλοχρώματος Hard racing, Hempel, κατά τη μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας, παρατηρείται πως όσο μειώνεται η θερμοκρασία τόσο μειώνεται και η % θνησιμότητα της *Artemia*. Στη θερμοκρασία 5 °C επιβίωσαν περισσότερα πειραματόζωα, τα οποία ωστόσο παρέμειναν νάνα και παρουσίασαν χαμηλή κινητικότητα.

Για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, η θερμοκρασία φαίνεται να επιδρά αντίστροφα. Συγκεκριμένα, η μείωση της θερμοκρασίας επιφέρει αύξηση της θνησιμότητας ειδικά στην αραιώση 50%, όπου σε φυσιολογικές συνθήκες δεν παρουσιάζεται θνησιμότητα, ενώ σε θερμοκρασίες 5 °C και 10 °C αυξάνεται σημαντικά, γεγονός το οποίο μπορεί να οφείλεται στη σύσταση του συγκεκριμένου υφαλοχρώματος.

Η μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας για το υφαλόχρωμα AntiF, Neotex δεν παρουσίασε καμία διαφορά στη βιωσιμότητα της *Artemia franciscana*, γεγονός που αποδεικνύει ότι το συγκεκριμένο υφαλόχρωμα δεν είναι τοξικό.

Κατά τη μελέτη της επίδρασης της αλατότητας στα πειράματα ελέγχου τοξικότητας ερευνήθηκαν οι αλατότητες 20 ‰ , 25‰, 30‰ και 35‰ σε σταθερή θερμοκρασία 25 °C. Για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's παρατηρείται πως όσο μειώνεται η αλατότητα αυξάνεται η % θνησιμότητα. Στις 24 ώρες έκθεσης, μειωμένης της αλατότητας κάτω από 35‰ αυξάνεται η θνησιμότητα, ενώ στις 48 ώρες παρατηρείται 100% θνησιμότητα.

Για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel κατά τη μελέτη της επίδρασης της αλατότητας η θνησιμότητα αγγίζει το 100% στις περισσότερες περιπτώσεις. Το

συγκεκριμένο υφαλόχρωμα είναι εξαιρετικά τοξικό σε όλες τις συγκεντρώσεις στις φυσιολογικές συνθήκες. Επομένως, η επίδραση της αλατότητας στην τοξικότητά του θα μπορούσε να μελετηθεί και σε συγκεντρώσεις μικρότερες του 6,25%. Ωστόσο, το μόνο ασφαλές συμπέρασμα είναι πως η μείωση της αλατότητας δεν επηρεάζει την τοξική δράση του.

Στην περίπτωση του υφαλοχρώματος Micron Extra, International, παρατηρείται μικρή μείωση της θνησιμότητας, ειδικά στην αλατότητα 20‰, η οποία όμως δε θα μπορούσε να θεωρηθεί αξιοσημείωτη. Παρά το γεγονός ότι σε φυσιολογικές συνθήκες, στην αραίωση 50% παρατηρείται θνησιμότητα 10%, σε μικρότερες αλατότητες δεν παρατηρείται τοξικότητα. Σε γενικές γραμμές, η μείωση της αλατότητας ίσως επηρεάζει ελάχιστα την τοξικότητα του συγκεκριμένου υφαλοχρώματος.

Η μελέτη της επίδρασης της αλατότητας για το υφαλόχρωμα AntiF, Neotex δεν παρουσίασε καμία διαφορά στη βιωσιμότητα της *Artemia franciscana*, γεγονός που αποδεικνύει ότι το συγκεκριμένο υφαλόχρωμα δεν είναι τοξικό.

Οι περισσότερες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί και αφορούν την επίδραση της αλατότητας στην τοξικότητα αναφέρονται σε βαρέα μέταλλα (Verslycke *et al.* 2003). Το ισο-ωσμωτικό σημείο της *Artemia franciscana* έχει προσδιοριστεί περίπου σε αλατότητα 10‰ (Irwin *et al.* 2007), αν και οι Song & Brown (1998) το ορίζουν σε 9,5 ‰, ενώ οι Watts *et al.* (1996) στο 8‰. Όταν οι οργανισμοί βρίσκονται στην άριστη αλατότητα θεωρούνται από άποψη φυσιολογίας πιο αποτελεσματικοί στην καταπολέμηση του στρες και των ρύπων κοντά στα ωσμωτικά τους σημεία, γύρω από τα οποία χαρακτηρίζονται από μειωμένη προς τα έσω ροή του νερού, η οποία πιθανώς να συνοδεύεται από μειωμένη πρόσληψη των τοξικών ουσιών (Kwok and Leung 2005). Επιπλέον, τα επίπεδα του διαλυμένου οξυγόνου συσχετίζονται αρνητικά με την

αλατότητα. Έτσι, χαμηλές τιμές διαλυμένου οξυγόνου μπορούν να προξενίσουν δυσμενείς επιπτώσεις στην *Artemia* (Browne and Wanigasekera 2000). Επίσης, η αλλαγή της αλατότητας μπορεί να έχει αντίκτυπο στη βιοδιαθεσιμότητα του τοξικού παράγοντα, καθώς όσο η αλατότητα αυξάνεται τόσο μειώνεται η διαλυτότητα των ουδέτερων οργανικών ενώσεων. Με βάση τα παραπάνω θα μπορούσαν να δικαιολογηθούν τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τη μελέτη της επίδρασης της αλατότητας στα εν λόγω υφαλοχρώματα.

Με σκοπό τον έλεγχο της επίδρασης της διπλάσιας ουσιαστικά ποσότητας υφαλοχρώματος στα πειράματα ελέγχου τοξικότητας, βάφτηκαν δύο φορές κύλινδροι και η διαδικασία επαναλήφθηκε εκ νέου. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν συγκρίθηκαν με τα αρχικά πειράματα ελέγχου τοξικότητας που πραγματοποιήθηκαν στις ίδιες συνθήκες.

Για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, η διπλή στρώση εμφάνισε μεγαλύτερη τοξικότητα από τη μονή στρώση. Συγκεκριμένα, με διπλή στρώση βαφής παρατηρήθηκε τοξικότητα στις αραιώσεις 6,25% και 12,5%, όπου στη μονή στρώση η θνησιμότητα ήταν μηδενική. Επιπλέον, σε αραιώση 25% η θνησιμότητα της διπλής στρώσης στις 24 ώρες είναι ακριβώς διπλάσια από εκείνη της μονής στρώσης. Στις 48 ώρες έκθεσης στον τοξικό παράγοντα, η θνησιμότητα στην αραιώση 12,5% στη διπλή στρώση αγγίζει το 100%, ενώ η αντίστοιχη της μονής στρώσης είναι μόλις 10%. Τα παραπάνω δεδομένα επαληθεύουν την υπόθεση ότι θεωρητικά διπλάσια ποσότητα υφαλοχρώματος μπορεί να επιφέρει αύξηση στην τοξικότητα του δείγματος για το συγκεκριμένο υφαλόχρωμα. Το βάρος της διπλής στρώσης μετρήθηκε (0,99g) και συγκρίθηκε με εκείνο της μονής στρώσης (0,35g) και από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι πρακτικά η αύξηση της ποσότητας του

υφαλοχρώματος με τη συγκεκριμένη μέθοδο δεν είναι ακριβώς διπλάσια αλλά μεγαλύτερη. Ωστόσο, το πάχος της επιφάνειας δε διπλασιάζεται αλλά αυξάνεται ελάχιστα.

Για το υφαλόχρωμα Hard racing, Hempel δεν είναι δυνατή η παρατήρηση διαφοράς στην τοξικότητα μεταξύ μονής και διπλής στρώσης, αφού η θνησιμότητα είναι στο μέγιστο σχεδόν σε όλες τις αραιώσεις. Η παράδοξη μικρότερη τιμή θνησιμότητας που παρατηρείται στην αραιώση 6,25% της διπλής στρώσης (40%) σε σχέση με τη μονή (83,33%) θα μπορούσε ίσως να αποδοθεί σε σφάλμα κατά την αραιώση των δειγμάτων. Η σωστότερη προσέγγιση θα ήταν η επανάληψη του πειράματος σε συγκεντρώσεις μικρότερες του 6,25% ώστε να είναι δυνατός ο προσδιορισμός της τοξικότητας και της  $LC_{50}$ .

Για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International, η διπλή στρώση επιφέρει αύξηση της θνησιμότητας, γεγονός που επαληθεύεται και από τη δοκιμή Β. Στις 24 ώρες έκθεσης στον τοξικό παράγοντα παρατηρείται 63,33% θνησιμότητα στην αραιώση 50%, ενώ η αντίστοιχη αραιώση της μονής στρώσης είναι 0%. Στις 48 ώρες έκθεσης εμφανίζεται θνησιμότητα ακόμα και στη μικρότερη συγκέντρωση με την  $LC_{50}$  να μετατοπίζεται μεταξύ των αραιώσεων 50% και 25%, τη στιγμή που αντίστοιχη  $LC_{50}$  στη μονή στρώση είναι μεταξύ του 100% και 50%. Και σε αυτή την περίπτωση, τόσο το πάχος όσο και το βάρος της βαμμένης επιφάνειας στη διπλή στρώση είναι ουσιαστικά μεγαλύτερο από το διπλάσιο θεωρητικά αναμενόμενο.

Για το υφαλόχρωμα AntiF, Neotex, παρά το γεγονός ότι το βάρος και το πάχος διπλασιάζονται δεν παρατηρείται τοξικότητα σε καμία περίπτωση.

Η μελέτη της στατικής και της δυναμικής φάσης αποσκοπεί στον έλεγχο των πιθανών αλλαγών που θα μπορούσε να προκαλέσει η τοξικότητα των δειγμάτων όταν

το υφαλόχρωμα βρίσκεται στο νερό σε κινούμενη φάση, δίνοντας με αυτόν τον τρόπο της δυνατότητα να πραγματοποιηθεί ένα είδος προσομοίωσης με τις καταστάσεις του φυσικού περιβάλλοντος, όπου τα αυτολειαινόμενα υφαλοχρώματα χρησιμοποιούνται σε κινούμενα πλοία. Οι συνθήκες διεξαγωγής των εν λόγω πειραμάτων περιελάμβαναν αλλαγή στο χρόνο στεγνώματος (15 ώρες) του υφαλοχρώματος, σταθερή θερμοκρασία και αλατότητα (25 ° C και 35 % αντίστοιχα) και σκοτάδι.

Για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's, παρουσιάστηκε διαφορά αποτελεσμάτων στη δυναμική φάση σε συγκεντρώσεις μικρότερες του 25%, τόσο στις 24 όσο και στις 48 ώρες έκθεσης του πειραματόζωου στο τοξικό διάλυμα. Καθώς παρατηρήθηκαν μεγάλες διαφορές στις θνησιμότητες ανάμεσα στις συγκεντρώσεις 12,5 και 25 % για τη στατική φάση και ανάμεσα στις συγκεντρώσεις 6,25 και 12,5 % στην κινητή φάση, έγινε επανάληψη του πειράματος σε στενή κλίμακα προκειμένου να βρεθεί η LC<sub>50</sub>. Για τη στατική φάση χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις 6.25, 8, 15, 25 και 100 %, ενώ για τη δυναμική φάση χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις 6.25, 8, 10, 12.5 και 100 %. Τόσο στην πρώτη όσο και στη δεύτερη φάση παρατηρείται αδυναμία προσδιορισμού της LC<sub>50</sub>. Για την στατική φάση η θεωρητικά αναμενόμενη LC<sub>50</sub> ήταν κοντά στην αραιώση 25% για 24 ώρες, και μεταξύ 25% και 12,5 % για τις 48 ώρες, ενώ στην επανάληψη του πειράματος με στενή κλίμακα παρουσιάστηκε 100% θνησιμότητα και στις δυο περιπτώσεις. Αντίστοιχα, στη δυναμική φάση, η θεωρητικά αναμενόμενη LC<sub>50</sub> 24 ωρών ήταν μεταξύ 12,5% και 6,25%, ενώ στην στενή κλίμακα παρουσιάστηκε σε αραιώση μικρότερη από 6,25%.

Το Hard racing, Hempel αποδείχτηκε από τα πιο τοξικά υφαλοχρώματα καθώς εμφανίστηκαν πολύ μεγάλες θνησιμότητες στις συγκεντρώσεις 12,5% και πάνω. Επειδή

εμφανίστηκαν μεγάλες διαφορές στις θνησιμότητες ανάμεσα στις συγκεντρώσεις 6,25 και 12,5, έγινε επανάληψη του πειράματος με στενή κλίμακα αραιώσεων. Για τη στατική φάση χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις 6.25, 8, 10, 12.5 και 100 %, ενώ για την κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις 1.5, 3.10, 6.25, 8 και 12.5 %. Στην στατική φάση η  $LC_{50}$  24 και 48 ωρών είναι μεταξύ των αραιώσεων 12,5% και 6,25%. Στη μελέτη της στενής κλίμακας η  $LC_{50}$  24 ωρών προσδιορίστηκε περίπου στο 8% ενώ των 48 ωρών κάτω από την αραιώση 6,25%. Στη δυναμική φάση η  $LC_{50}$  24 και 48 ωρών είναι μεταξύ των αραιώσεων 12,5% και 6,25%. Στη μελέτη της στενής κλίμακας η  $LC_{50}$  24 και 48 ωρών προσδιορίστηκε περίπου στο 8% και στις δυο περιπτώσεις.

Για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International πραγματοποιήθηκε μία επανάληψη στην στατική και δυναμική φάση. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στη θνησιμότητα μεταξύ των δύο φάσεων, ενώ η  $LC_{50}$  προσδιορίζεται για τις 24 ώρες μεταξύ 100% και 50% και στις δύο περιπτώσεις, ενώ για τις 48 ώρες μεταξύ 50% και 25% για την στατική φάση και τη δυναμική φάση.

Στην περίπτωση του υφαλοχρώματος AntiF, Neotex δεν εμφανίστηκε θνησιμότητα σε καμία από τις σειρές πειραμάτων, γεγονός που επιβεβαιώνει πως το συγκεκριμένο δεν είναι τοξικό.

Με σκοπό την επαλήθευση των αποτελεσμάτων από τη μέθοδο των αραιώσεων από βαμμένους κυλίνδρους, τα πειράματα επαναλήφθηκαν με τη χρήση της μεθόδου της τροποποιημένης σύριγγας (Castritsi – Catharios et al. 2007). Τα έμβολα από τις σύριγγες βάρθηκαν και ύστερα από στέγνωμα πραγματοποιήθηκε προσθήκη αντίστοιχων ποσοτήτων τεχνητού θαλασσινού νερού ώστε να επιτευχθούν αραιώσεις 66%, 50%, 40% και 33% ή προσθήκη ίδιας ποσότητας (10 ml) τεχνητού θαλασσινού

νερού για 24 ώρες και αραιώσεις από το αρχικό διάλυμα (50%, 25%, 12,5% και 6,25%). Τα πειράματα ελέγχου τοξικότητας επαναλήφθηκαν με τον ίδιο τρόπο.

Από τα αποτελέσματα προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι θνησιμότητες σε αρκετές περιπτώσεις διαφέρουν σημαντικά. Η μέθοδος της τροποποιημένης σύριγγας είναι αποδεδειγμένα έγκυρη και ακριβής, γεγονός που καθιστά την αξιολόγηση της μεθόδου των βαμμένων κυλίνδρων πιο εύκολη.

Το κύριο συμπέρασμα που μπορεί να διεξαχθεί από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων είναι πως με τη μέθοδο της τροποποιημένης σύριγγας εμφανίζεται τοξικότητα όπου σε αντίστοιχο έλεγχο με τη μέθοδο των βαμμένων κυλίνδρων δεν παρουσιάστηκε θνησιμότητα ή η θνησιμότητα ήταν μειωμένη. Παραδείγματα που επιβεβαιώνουν το συγκεκριμένο συμπέρασμα αφορούν τα αποτελέσματα 24 και 48 ωρών σε αραιώσεις από 25% και κάτω για το υφαλόχρωμα Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's και αποτελέσματα 48 ωρών για το υφαλόχρωμα Micron Extra, International. Για τα υφαλοχρώματα Advance, Premium self polishing και Endurance AntiF for power cruising της εταιρείας Boatcare με τη μέθοδο της σύριγγας παρουσιάστηκε αυξημένη τοξικότητα, ενώ με τη μέθοδο των κυλίνδρων μειωμένη ή μηδενική τοξικότητα. Αυξημένη θνησιμότητα με τη μέθοδο της σύριγγας παρουσίασαν και τα υφαλοχρώματα Professional AFP, Attiva Marine και μέτρια θνησιμότητα το Classic, Syntex παρά το γεγονός ότι με τη μέθοδο των κυλίνδρων θεωρήθηκαν μη τοξικά. Σε μία προσπάθεια αιτιολόγησης των συγκεκριμένων διαφορών, οι πιθανοί λόγοι εμφάνισης τόσο διαφορετικών αποτελεσμάτων θα μπορούσαν να αφορούν την επιφάνεια και τον τρόπο βαφής των κυλίνδρων με τα αντίστοιχα υφαλοχρώματα.

Κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων με τις τροποποιημένες σύριγγες, η βαμμένη επιφάνεια έχει πάντα σταθερό πάχος, στεγνώνει οριζόντια και βρίσκεται ολόκληρη πάντα σε επαφή με το νερό. Στην περίπτωση των βαμμένων κυλίνδρων, η βαφή της επιφάνειας εξαρτάται κάθε φορά από το χειρισμό του ερευνητή, δεν έχει σταθερό πάχος και βάρος (γεγονός που επαληθεύτηκε από τις αντίστοιχες μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν) και στεγνώνει κάθετα, γεγονός που ευνοεί την εμφάνιση ανομοιογένειας στο χρώμα και στην κατανομή του τοξικού παράγοντα, καθώς και στην απελευθέρωση αυτού κατά την επαφή του κυλίνδρου με το νερό. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τα πειράματα που αφορούν το υφαλόχρωμα Classic, Syntex διαφέρουν από εκείνα των Isidori *et al.* (2000), οι οποίοι χαρακτήρισαν το συγκεκριμένο υφαλόχρωμα «πολύ τοξικό». Το ίδιο ισχύει και το υφαλόχρωμα AntiF, Neotex, γεγονός που δημιουργεί υποψίες για τη διαφορετική επίδραση του ίδιου υφαλοχρώματος όταν το μόνο που αλλάζει είναι το χρώμα του.

Τέλος, η χρωστική Rose Bengal αποδείχτηκε χρήσιμη καθώς βοηθά στο διαχωρισμό νεκρών και ζωντανών (βάφονται ροζ) πειραματοζώων. Ωστόσο, κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων παρατηρήθηκαν ποικίλες διαφοροποιήσεις κατά τη χρώση των οργανισμών γεγονός που καθιστά απαραίτητο τον προσδιορισμό της ελάχιστης απαραίτητης ποσότητας που είναι αναγκαία για τη χρώση, καθώς και της επίδρασης ποικίλων παραγόντων, όπως το φως, ο ελάχιστος χρόνος παραμονής στη χρωστική και η επίδρασή της σε συνδυασμό με αιθανόλη.



## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη συγκεκριμένη έρευνα πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση μιας τροποποιημένης μεθόδου που βασίζεται στην έρευνα των Persoone and Castritsi- Catharios (1989), O.B.I. 20040100346 και προσπάθεια τυποποίησής της με πειράματα ελέγχου τοξικότητας. Η επίδραση αβιοτικών παραγόντων όπως η θερμοκρασία και η αλατότητα καθώς και παραγόντων όπως η κίνηση και το πάχος της βαμμένης επιφάνειας μελετήθηκαν εκτενώς για τρία τοξικά υφαλοχρώματα και ένα μη τοξικό. Το πιο τοξικό υφαλόχρωμα αποδείχτηκε το Hard racing της Hempel. Η θερμοκρασία και η αλατότητα βρέθηκε ότι επιδρούν ποικιλοτρόπως στη θνησιμότητα. Η συγκεκριμένη μέθοδος, παρά το γεγονός ότι πραγματοποιήθηκαν πειράματα στενής κλίμακας, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων δεν ευνοεί τον ακριβή προσδιορισμό της  $LC_{50}$ . Αντίθετα, η μέθοδος της τροποποιημένης σύριγγας αποδεικνύεται περισσότερο ακριβής και εύκολη κατά τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας.

Τα υφαλοχρώματα που χρησιμοποιήθηκαν διατίθενται στην ελληνική αγορά και τα περισσότερα από αυτά είναι αυτολειαινόμενα. Μία γενική παρατήρηση είναι πως η τοξικότητα που προκαλούν παρουσιάζει αξιοσημείωτες διαφορές, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στη διαφορετική τους σύσταση. Παρά το γεγονός ότι τα περισσότερα διαθέτουν χαλκό, ο διαφορετικός συνδυασμός συστατικών μπορεί να προκαλέσει διαφορετικά αποτελέσματα που αποκλίνουν κατά πολύ από τα αναμενόμενα αποτελέσματα ελέγχου τοξικότητας μεμονωμένων συστατικών. Ο βαθμός επίδρασης του υφαλοχρώματος εξαρτάται από την αναλογία των συστατικών του, τα οποία μπορεί να δρουν συνεργιστικά ή ανταγωνιστικά, ανάλογα με την περίπτωση. Έτσι, η μελέτη της τοξικότητας πρέπει να αφορά το σύνολο των συστατικών ενός υφαλοχρώματος ώστε να παρέχεται ολοκληρωμένη εικόνα της επίδρασής του στο περιβάλλον και τους

οργανισμούς. Έχοντας την πλήρη σύσταση όλων των χρωμάτων, μετά την πραγματοποίηση πειραμάτων προσδιορισμού της τοξικότητάς τους, θα μπορεί να ελεγχθεί η χρήση τους και να απαγορευθεί η κυκλοφορία των πλέον τοξικών χρωμάτων.

Η επίδραση των τοξικών ουσιών δεν αφορά μόνο τη θνησιμότητα, αλλά και τη φυσιολογία του πειραματόζωου, ενώ εξαρτάται από τις αβιοτικές παραμέτρους, γεγονός που επαληθεύτηκε από τη μελέτη της τοξικότητας σε χαμηλές θερμοκρασίες, όπου η *Artemia* παρουσίασε χαμηλή κινητικότητα ενώ τα άτομα παρέμειναν νάνα, αδυνατώντας να αναπτύξουν πεπτικό σωλήνα και να προσλάβουν τις τοξικές ουσίες από το νερό. Επιπλέον, η διαφορά που παρατηρείται στα αποτελέσματα μονής και διπλής στρώσης υφαλοχρώματος θα πρέπει να διερευνηθεί ώστε να εξακριβωθεί κατά πόσο αυτή οφείλεται στην επιπλέον ποσότητα χρώματος ή στην αύξηση της βαμμένης επιφάνειας. Η χρήση της μεθόδου των βαμμένων κυλίνδρων δε μπορεί να αποτελέσει το μέσον για τον έλεγχο της παραπάνω παρατήρησης. Για αυτό θα πρέπει να γίνει μια νέα τροποποίηση των πειραμάτων που θα επιτρέψει την ασφαλή εξαγωγή συμπερασμάτων.

Εξετάζοντας συνολικά τα αποτελέσματα όλων των σειρών πειραμάτων αποδεικνύεται πως η δράση των τοξικών παραγόντων που περιέχονται στα υφαλοχρώματα εξακολουθεί να προκαλεί το θάνατο οργανισμών μη- στόχων (non-target) όπως η *Artemia*. Παρά το γεγονός ότι η χρήση των υφαλοχρωμάτων αποτελεί την πιο αποτελεσματική χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την καταπολέμηση των προβλημάτων βιοεπίστρωσης, δεν παύει να προκαλεί θανατηφόρα προβλήματα στους οργανισμούς του περιβάλλοντος. Το γεγονός αυτό καθιστά απαραίτητη την εύρεση νέων ουσιών, κατά προτίμηση φυσικών, και νέων τεχνολογιών για την καταπολέμηση

της βιοεπίστρωσης, εξαλείφοντας έτσι τη χρήση τοξικών ουσιών που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή υφαλοχρωμάτων και δεν αναγράφονται καν στη σύστασή τους. Η βασική ιδιότητα ενός καλού τοξικού παράγοντα που περιέχεται σε υφαλόχρωμα σε σχέση με το περιβάλλον είναι η ικανότητά του για αποτελεσματική πρόληψη της ρύπανσης μιας βαμμένης επιφάνειας χωρίς να υφίσταται σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από εκείνες που μπορούν να προκαλέσουν δυσμενείς περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Εναλλακτικές λύσεις, φιλικές προς το περιβάλλον, έχουν διερευνηθεί από τους επιστήμονες και προέρχονται από το περιβάλλον. Δραστικές φυσικές ουσίες από τη θάλασσα μπορούν να λειτουργήσουν ως αντιρρυπαντικά και αποτελούν προϊόντα των θαλάσσιων οργανισμών που χρησιμεύουν για την πρόληψη της αποίκισής τους από άλλους οργανισμούς.

Η πρόκληση της εύρεσης ενός φυσικού αντιρρυπαντικού που να πληρεί τα απαιτούμενα κριτήρια χαμηλής τοξικότητας, στοχευμένης δραστηριότητας στους οργανισμούς βιοεπίστρωσης και ευκολίας στην παραγωγή δεν έχει υλοποιηθεί μέχρι στιγμής και είναι ο λόγος που τέτοιου είδους υφαλοχρώματα δεν κυκλοφορούν ακόμα στο εμπόριο. Επιπλέον, οι ρυθμιστικές αρχές απαιτούν πλέον τη δοκιμή των νέων δραστικών ουσιών και τη μελέτη των επιπτώσεών τους στο περιβάλλον πριν χορηγηθεί η άδεια κυκλοφορίας τους. Το κόστος διερεύνησης μιας νέας ουσίας είναι αρκετά υψηλό αν ληφθούν υπόψη όλες οι παράμετροι που πρέπει να ελεγχθούν με βάση συγκεκριμένα πρωτόκολλα και νομικές διαδικασίες, όπως οι μελέτες τοξικότητας, η εκπόνηση περιβαλλοντικών μελετών και πειραμάτων οικοτοξικολογίας, οι μελέτες σύνθεσης, η αξιολόγηση του περιβαλλοντικού κινδύνου πιθανών σεναρίων και το ανθρώπινο δυναμικό που απαιτείται κάθε φορά. Όμως, πάρα τις παραπάνω δυσκολίες, οι έλεγχοι θα πρέπει να εντείνονται και οι απαιτήσεις των αρχών να αυξάνονται ώστε

να αποφεύγεται η κυκλοφορία των υφαλοχρωμάτων που δεν θα πληρούν τους κανονισμούς.

Για τη μελέτη ενός υφαλοχρώματος είναι απαραίτητη η γνώση της ακριβούς σύστασής του, όχι μόνο ποιοτικά αλλά και ποσοτικά. Αναλυτικές πληροφορίες για τη σύσταση δεν αναγράφονται σε υφαλοχρώματα, γεγονός που καθιστά τον προσδιορισμό των αιτιών αυξημένης θνησιμότητας εξαιρετικά δύσκολο και δημιουργεί προβληματισμό για την τύχη των μη αναγραφόμενων συστατικών στην τροφική αλυσίδα καθώς και για την επίδραση αυτών στους οργανισμούς και στο περιβάλλον. Με βάση και τα παραπάνω συμπεράσματα, η μελέτη της τοξικότητας των υφαλοχρωμάτων επιβάλλεται να γίνεται επί του συνολικού χρώματος και όχι στα επιμέρους συστατικά. Η χρήση της μεθόδου των Castritsi – Catharios *et al.* (2007) μπορεί να αποτελέσει τη βάση πάνω στην οποία θα στηριχτεί η ανάπτυξη μιας νέας μεθόδου, τα αποτελέσματα της οποίας θα αποτελούν κριτήριο για την κυκλοφορία των υφαλοχρωμάτων στην τοπική και ξένη αγορά.

Η επιστήμη της Οικοτοξικολογίας φαίνεται πως σταδιακά αποκτά καθοριστικό ρόλο στην έρευνα των επιπτώσεων τοξικών παραγόντων που επιβαρύνουν το περιβάλλον και, κατ' επέκταση, τον άνθρωπο. Το μόνο σίγουρο συμπέρασμα που προκύπτει από τη μελέτη της βιβλιογραφίας και την αξιολόγηση των χρονοβόρων και πολύχρονων ερευνητικών διαδικασιών είναι πως η χρήση των υφαλοχρωμάτων θα πρέπει να μειωθεί, όχι μόνο στα πλοία αλλά και σε ποικίλες χρήσεις τους, όπως στις υδατοκαλλιέργειες, καθώς είναι πλέον βέβαιο πως οι τοξικοί παράγοντες συσσωρεύονται στα αποθέματα και μπορούν να βλάψουν και τον άνθρωπο.

Η *Artemia* ως πειραματόζωο αποδείχτηκε εύχρηστη και δεν παρουσίασε προβλήματα κατά τη διάρκεια διεξαγωγής των πειραμάτων, γεγονός που επιβεβαιώνει την αξία της στην επιστήμη της Οικοτοξικολογίας.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Ξένη βιβλιογραφία

Almeida E., Diamantino T. C., de Sousa O. (2007) Marine paints: The particular case of antifouling paints. *Progress in Organic Coatings*, 59(1): 2-20

Andersen R.J., Luu H.A., Chen D.Z.X., Homes C.F.B., Kent M.L., Le Blanc F., Taylor F.J.R., Williams D.E. (1993) Chemical and biological evidence links microcystins to salmon netpen liver disease. *Toxicon* 31: 1315–1325

Arai T., Harino H., Ohji M., Langston W. J. (2009) *Ecotoxicology of Antifouling Biocides*. Springer, Berlin

Bagshaw J. C., Raflee P., Matthews C. O., MacRae T. H. (1986). Cadmium and zinc reversibly arrest development of *Artemia* larvae. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 37: 289-296

Bao V. W. W., Leung K. M. Y., Lui G. C. S., Lam M. H. W. (2013) Acute and chronic toxicities of irgarol alone and in combination with copper to the marine copepod *tigriopus japonicus*. *Chemosphere*,90(3): 1140-1148

Barahona-Gomariz M.V., Sanz-Barrera F., Sanchez-Fortun S. (1994) Acute Toxicity of Organic Solvents on *Artemia salina*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 52: 766-771

Beattie K.A., Ressler J., Wiegand C., Krause E., Codd G.A., Steinberg C.E.W., Pflugmacher S. (2003) Comparative effects and metabolism of two microcystins and nodularin in the brine shrimp *Artemia salina*. *Aquatic Toxicology*, 62: 219-226

Boxall A.B.A., Comber S.D., Conrad A.U., Howcroft J., Zaman N. (2000) Inputs, monitoring and fate modeling of antifouling biocides in UK estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 898–905

Brezonik P.L., King S.O., Mach C.E. (1992) The influence of water chemistry on metal bioavailability and toxicity to aquatic organisms. In: Newman M.C., McIntosh A.W. (eds) *Metal Ecotoxicology: Concepts & Applications*. Lewis Publishers, Michigan , chapter 1

Brix K.V., Cardwell R.D., Adams W.J. (2003) Chronic toxicity of arsenic to the Great Salt Lake brine shrimp, *Artemia franciscana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54: 169-175

Browne R.A., Wanigasekera G. (2000) Combined effects of salinity and temperature on survival and reproduction of five species of *Artemia*. *Journal of Experimental Marine Biology*, 244: 29–44

Bryan G W. (1976) Heavy metal Contamination in the sea. In: Johnston R. (ed) *Marine Pollution*. Academic Press, London, p 185-302

California Senate Bill 623, Vessels: marine antifouling paint; 2011.

Calleja M.C., Geladi P., Persoone G. (1994) Modelling of human acute toxicity from physicochemical properties and non-vertebrate acute toxicity of the 38 organic chemicals of the MEIC priority list by PLS regression and neural network. *Food and Chemical Toxicology* 32: 923-941

Callow M.E. (1986) A world-wide survey of slime formation on anti-fouling paints. *Studies in Environmental Science*, 28 (C): 1-20

Candries M., Atlar M., Anderson C.D. (2003) Estimating the impact of new generation antifouling on ship performance: The presence of slime. *Proceedings of the Institute of Marine Engineering, Science and Technology Part A: Journal of Marine Engineering and Technology*, (2): 13-20

Cassé F., Swain G.W. (2006) The development of microfouling on four commercial antifouling coatings under static and dynamic immersion. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 57 (3): 179-185

Castritsi – Catharios J., Siriou V., Miliou H., Zouganelis G.D. (2013) Toxicity effects of bisphenol A to the nauplii of the brine shrimp *Artemia franciscana*. *Journal of Biological Research*, 19 :38-45

Castritsi-Catharios J., Bourdaniotis N., Persoone G. (2007) A new simple method with high precision for determining the toxicity of antifouling paints on brine shrimp larvae (*artemia*): First results. *Chemosphere*, 67(6): 1127-1132

Chambers L. D., Stokes K. R., Walsh F. C., Wood R. J. K. (2006) Modern approaches to marine antifouling coatings. *Surface and Coatings Technology*, 201(6): 3642-3652

Champ M. A. (2003) Economic and environmental impacts on ports and harbors from the convention to ban harmful marine anti-fouling systems. *Marine Pollution Bulletin*, 46(8): 935-940

Clare, A.S., Høeg, J.T. (2008) *Balanus amphitrite* or *Amphibalanus amphitrite*? A note on barnacle nomenclature. *Biofouling*, 24 (1): 55-57

Creasel, 1990. ARTOXKIT M: *Artemia* Toxicity Screening Test for Estuarine and Marine Waters. Standard Operational Procedure V071090.

Dimitriou P., Castritsi – Catharios J., Miliou E. (2003) Acute toxicity effects of Tributyltin Chloride and Triphenyltin Chloride on gilthead seabream, *Sparus aurata* L. embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54: 30-35

Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council of 16 February 1998 concerning the placing of biocidal products on the market OJ L 123, 24.4.1998, p. 1–63

Evans S.M., Kerrigan E., Palmer N. (2000) Causes of imposex in the dogwhelk *Nucella lapillus* (L.) and its use as a biological indicator of tributyltin contamination. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 212–219

Finlay J.A., Callow M.E., Ista L.K., Lopez G.P., Callow J.A. (2002) The influence of surface wettability on the adhesion strength of settled spores of the green alga *Enteromorpha* and the diatom *Amphora*. *Integrative and Comparative Biology*, 42 (6): 1116-1122

Guerra R. (2001) Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. *Chemosphere* 44: 1737-1747

Hadjispyrou S., Kungolos A., Anagnostopoulos A. (2001) Toxicity, Bioaccumulation, and Interactive Effects of Organotin, Cadmium, and Chromium on *Artemia franciscana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49: 179-186

Hlywka J.J., Beck M.M., Bullerman L.B. (1997) The use of the Chicken Embryo Screening Test and Brine Shrimp (*Artemia salina*) Bioassays to assess the toxicity of Fumonisin B1 Mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*, 35: 991-999

Irwin S., Wall V., Davenport J. (2007) Measurement of temperature and salinity effects on oxygen consumption of *Artemia franciscana* K., measured using fibre-optic oxygen microsensors. *Hydrobiologia*, 575:109–115

Johansson D., Ruohonen K., Kiessling A., Oppedal F., Stiansen J-E., Kelly M., Juell J-E. (2006) Effect of environmental factors on swimming depth preferences of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and temporal and spatial variations in oxygen levels in sea cages at a fjord site. *Aquaculture*, 254: 594–605

Kapanen A., Itavaara M. (2001) Ecotoxicity Tests for Compost Applications. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 49: 1-16

Katranitsas A., Castritsi-Catharios J., Persoone G. (2003) The effects of a copper based antifouling paint on mortality and enzymatic activity of a non-target marine organism. *Marine Pollution Bulletin*, 46 (11): 1491-1494

Kent ML. (1990) Netpen liver disease (NLD) of salmonid fishes reared in sea water: species susceptibility, recovery and probable cause. *Disease of Aquatic Organisms*, 8: 21–28



- Kiil S., Weinell C.E., Pedersen M.S., Dam-Johansen K. (2001) Analysis of self polishing antifouling paints using rotary experiments and mathematical modelling. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 40 (18): 3906-3920
- Kiil S., Weinell C.E., Yebra D.M., Dam-Johansen K. (2007) Marine biofouling protection: design of controlled release antifouling paints. In: *Computer Aided Chemical Engineering*, 23: 181-238
- Kiil, S., Dam-Johansen, K., Weinell, C., Pedersen, M. (2002) Sea watersoluble pigments and their potential use in self-polishing antifouling paints: simulation-based screening tool. *Progress in Organic Coatings*, 45: 423–434
- Konstantinou I.K., Albanis T.A. (2004) Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: A review. *Environment International*, 30 (2): 235-248
- Koutsaftis A., Aoyama I. (2007) Toxicity of four antifouling biocides and their mixtures on the brine shrimp *Artemia salina*. *Science of the Total Environment*, 387: 166–174
- Koutsaftis A., Aoyama I. (2008) Toxicity of Diuron and copper pyrithione on the brine shrimp, *Artemia franciscana*: The effects of temperature and salinity. *Journal of Environmental Science and Health*, 43: 1581-1585
- Kwok K.W.H., Leung K.M.Y. (2005) Toxicity of antifouling biocides to the intertidal harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* (Crustacea, Copepoda): Effects of temperature and salinity. *Marine Pollution Bulletin*, 51: 830–837
- Lader P., Dempster T., Fredheim A., Jensen C. (2008) Current induced net deformations in full-scale sea-cages for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquacultural Engineering*, 38: 52–65
- Li Y., Gao Y.H., Li X.S., Yang J.Y., Que G.H. (2010) Influence of surface free energy on the adhesion of marine benthic diatom *Nitzschia closterium* MMDL533. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75 (2): 550-556
- López-Galindo C., Garrido M. C., Casanueva J. F., & Nebot, E. (2010) Degradation models and ecotoxicity in marine waters of two antifouling compounds: Sodium hypochlorite and an alkylamine surfactant. *Science of the Total Environment*, 408(8): 1779-1785
- Migliore L., Civitareale C., Brambilla G., Dojmi di Delupis G. (1997) Toxicity of Several Important Agricultural Antibiotics to *Artemia*. *Water Research*, 31: 1801-1806
- Migliore L., Dojmi di Delupis G., Capellaro H., Brambilla G. (1993) Drugs in Aquaculture: Monitoring of Contamination and proposal for its reduction by the use of *Artemia salina* (L.) in Lakes and Reservoirs. In: Giusani G., Callieri C. (eds) *Strategies for Lake Ecosystems Beyond 2000*. Griggi G.M., Baveno, Italy, p 291-294

- Milne P.H. (1970) Fish farming: A guide to the design and construction of net enclosures. Marine Research, No. 1. Department of Agriculture and Fisheries for Scotland. Edinburgh (Scotland): HMSO pp 31
- Newman M.C., Zhao Y. (2008) Ecotoxicology Nomenclature: LC, LD, LOC, LOEC, MAC, In: Jorgensen S.E, Fath B. (eds) Encyclopedia of Ecology. Academic Press, Oxford, p 1187-1193
- Nipper M. (2000) Current approaches and future directions for contaminant-related impact assessments in coastal environments: Brazilian perspective. Aquatic Ecosystem Health and Management, 3: 433-447
- Nunes B.S., Carvalho F.D., Guilhermino L.M., Van Stappen G. (2006) Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. Environmental Pollution, 144: 453–462
- Okamura H., Aoyama I., Liu D., Maguire R.J., Pacepavicius G.J., Lau Y.L. (2000) Fate and Ecotoxicity of the New Antifouling Compound Irgarol 1051 in the Aquatic Environment. Water Research, 34: 3523-3530
- Okamura H., Watanabe T., Aoyama I., Hasobe M. (2002) Toxicity evaluation of new antifouling compounds using suspension-cultured fish cells. Chemosphere, 46(7):945-951
- Omae I. (2003a) Organotin antifouling paints and their alternatives. Applied Organometallic Chemistry, 17: 81–105
- Omae I. (2003b) General aspects of tin-free antifouling paints. Chemical Reviews, 103: 3431–3448
- Oppedal F., Dempster T., Stien L. (2011a) Environmental drivers of Atlantic salmon behaviour in sea-cages: a review. Aquaculture, 311: 1–18
- Oppedal F., Vagseth T., Dempster T., Juell J-E., Johansson D. (2011b) Fluctuating sea-cage environments modify the effects of stocking densities on the production and welfare of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture, 315: 361–368
- Panagoula B., Panayiota M., Iliopoulou-Georgudaki J. (2002) Acute Toxicity of TBT and IRGAROL in *Artemia salina*. International Journal of Toxicology, 21: 231-233
- Pandey A. S., MacRae T. H. (1991) Toxicity of organic mercury compounds to the developing brine shrimp, *Artemia*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 21: 68-79
- Panigrahi S. (1993) Bioassay of mycotoxins using terrestrial and aquatic, animal and plant species. Food Chemistry and Toxicology, 31: 767-790
- Parra L.A., Silva Yhebra R., Guerra Sardinias I., Iglesias Buela L. (2001) Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose

(LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine*, 8 (5): 395-400

Persoone G., Castritsi-Catharios J. (1989) A simple bioassay with artemia larvae to determine the acute toxicity of antifouling paints. *Water Research*, 23(7): 893-897

Persoone G., Vanhaecke P. (1981) Intercalibration exercise on a short-term standard toxicity test with *Artemia nauplii*. Final report. Contract CEEENV- 396 B(N): 30

Persoone G., Wells P.G. (1987) *Artemia* in aquatic toxicology: A review. In: Sorgellos P., Bengtson D.A., Declair W., Jaspers E. (eds) *Artemia Research and its Applications. Morphology, Genetics, Strain Characterization, Toxicology*, vol. I, Universa Press, Wetteren, Belgium

Phang I.Y., Aldred N., Clare A.S., Vancso G.J. (2008) Towards a nanomechanical basis for temporary adhesion in barnacle cyprids (*Semibalanus balanoides*). *Journal of the Royal Society Interface*, 5 (21): 397-401

Phillippi A.L., O'Connor N. J., Lewis A. F., Kim Y.K. (2001) Surface flocking as a possible anti-biofoulant. *Aquaculture*, 195(3-4): 225-238

Piola R.F., Dafforn K.A., Johnston E.L. (2009) The influence of antifouling practices on marine invasions. *Biofouling*, 25 (7):633-644

Rascio V. (1985) Antifouling protection by paints, in: Argentina–USA Workshop of Biodeterioration, in Proc. Sao Paulo: Aquatic Quimica, p 261.

Robbart E. (1961) Ship hull coated with anti-fouling silicone resin and method of coating. US2986474

Salta M., Wharton J.A., Stoodley P., Dennington S.P., Goodes L.R., Werwinski S., Mart U., Wood R.J.K., Stokes K.R. (2010) Designing biomimetic antifouling surfaces. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 368 (1929):4729-4754

Sarabia R., Torreblanca A., Del Ramo J.J., Diaz-Mayans J. (1998b) Effects of low mercury concentration exposure on hatching, growth and survival in the *Artemia* strain La Mata parthenogenetic diploid. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 120 : 93-97

Schiff K., Diehl D., Valkirs A. (2004) Copper emissions from antifouling paint on recreational vessels. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 371–377

Schultz, M.P. (2007) Effects of coating roughness and biofouling on ship resistance and powering. *Biofouling*, 23 (5): 331-341

Song M.Y., Brown J.J. (1998) Osmotic effects as a factor modifying insecticide toxicity on *Aedes* and *Artemia*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 41: 195-202

Stanley M.S., Callow M.E., Callow J.A. (1999) Monoclonal antibodies to adhesive cell coat glycoproteins secreted by zoospores of the green alga *Enteromorpha Planta*. 210 (1):61-71

Thomas K. V. (2009) *Advances in Marine Antifouling Coatings and Technologies*. Woodshead Publishing, Cambridge, pp 522

Thomas K.V., Brooks S. (2010) The environmental fate and effects of antifouling paint biocides. *Biofouling*, 26 (1): 73-88

Tothill I.E., Turner A.P.F. (1996) Developments in bioassay methods for toxicity testing in water treatment. *Trends in Analytical Chemistry* 75: 178-188

Touraki M., Niopas I., Kastritsis C. (1999) Bioaccumulation of Trimethoprim, Sulfamethoxazole and N-acetyl-sulfamethoxazole in *Artemia nauplii* and residual kinetics in seabass larvae after repeated oral dosing of medicated nauplii. *Aquaculture*, 175: 15-30

Tselentis B., Maroulakou M. (1999) Organotins in sediments and biological tissues from greek coastal areas: preliminary results. *Marine Pollution Bulletin*, 38: 46-153

Vanhaecke P., Cooreman A., Sorgeloos P. (1981a) International study on *Artemia*: 15. Effect of light intensity on hatching rate of *Artemia* cysts from different geographical origin. *Marine Ecology Progress Series*, 5: 111-114

Vanhaecke P., Persoone G. (1981) Report on an intercalibration exercise on a short term standard toxicity test with *Artemia nauplii* (ARC-test). Institut National de la Sante' et de la Recherche Medicale (INSERM), 106: 359-376

Vanhaecke P., Persoone G. (1984) The ARC test: a standardized short-term routine toxicity test with *Artemia nauplii*. Methodology and evaluation. In: Persoone G., Jaspers E., Claus C. (eds) *Ecotoxicological Testing for the Marine Environment*. State University of Ghent and Institute of Marine and Scientific Research, Belgium, p 143-158

Vanhaecke P., Persoone G., Claus C., Sorgeloos P. (1980b) Research on the development of a short-term standard toxicity test with *Artemia*. The Brine Shrimp *Artemia*. In: *Ecology, Culturing, Use in Aquaculture*, vol. 1, p 263-285

Vanhaecke P., Persoone G., Claus C., Sorgeloos P. (1981b) Proposal for a short-term toxicity test with *Artemia nauplii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 5: 328-387

Vanhaecke P., Steyaert H., Sorgeloos P., (1980a) International study on *Artemia*: 3. The use of Coulter Counter\_ equipment for the biometrical analysis of *Artemia* cysts: methodology and mathematics. The Brine Shrimp *Artemia*. In: *Ecology, Culturing, Use in Aquaculture*, vol. 1, p 107-115

Verriopoulos G., Moraitou-Apostolopoulou M., and Hatzispirou A. (1986) Evaluation of metabolic responses of *Artemia salina* to oil and oil dispersant as a potential indicator of toxicant stress. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 36: 444-451

Verslycke T., Vangheluwe M., Heijerick D., De Schampelaere K., Van Sprang P., Janssen C.R. (2003) The toxicity of metal mixtures to the estuarinemysid *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea) under changing salinity. *Aquatic Toxicology*, 64: 307-315

Vezie C., Sivonen K., Brient L., Bertru G., Lefevre J.C. (1996) Development of Toxic Cyanobacteria in Western France-Detection of Toxicity with *Artemia salina* Tests. *Annales de Limnologie*, 32: 123-128

Vivien W.W.B., Kenneth M.Y.L., Gilbert C.S.L., Michael H.W.L. (2013) Acute and chronic toxicities of Irgarol alone and in combination with copper to the marine copepod *Tigriopus japonicus*. *Chemosphere*, 90 (3):1140-1148

Voulvoulis N., Scrimshaw M.D., Lester J.N. (1999) Alternative antifouling Biocides. *Applied Organometallic Chemistry*, 13: 135-143

Wahl M. (1989) Marine epibiosis. Fouling and antifouling: Some basic aspects. *Marine Ecology Progress Series*, 58: 175-189

Washington Senate Bill 5436, Recreational water vessels and antifouling paints; 2011. *WA SB5436 | 2011-2012 | Regular Session*. (2011, May 03). *LegiScan*.

Watts S.A., Yeh E.W., Henry R.P. (1996) Hypoosmotic stimulations of ornithine decarboxylase activity in the brine shrimp *Artemia franciscana*. *Journal of Experimental Zoology*, 274 : 15-22

Wells P.G. (1999) Biomonitoring the Health of Coastal Marine Ecosystems: The Roles and Challenges of Microscale Toxicity Tests. *Marine Pollution Bulletin*, 39: 39-47

Yebra, D.M., Kiil, S., Dam-Johansen, K. (2004) Antifouling technology - Past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Progress in Organic Coatings*, 50: 75-104

Ytreberg E., Karlsson J., Eklund B. (2010) Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater. *Science of the Total Environment*, 408 (12): 2459-2466

#### Ελληνική βιβλιογραφία

Ακρίωτης Τ. (2001) Σημειώσεις Οικοτοξικολογίας, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Μυτιλήνη

Μαρουλάκου Μ., Σακελλαριάδου Φ., Τσελέντης Β.Σ. (1997) Προκαταρκτικά αποτελέσματα της συγκέντρωσης οργανοκασσιτερικών ενώσεων σε επιφανειακά ιζήματα από μαρίνες του Σαρωνικού Κόλπου. Πρακτικά 5<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συμπόσιου Ωκεανογραφίας & Αλιείας. Τόμος Ι, Καβάλα, σελ. 35-38

Χαραλαμπίδης Ε.Χ.Α. (2005) Γεωχημικές μελέτες στα λιμάνια του Πειραιά, του Λαυρίου και της Ραφήνας και στον κόλπο της Ελευσίνας. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πειραιώς, σελ. 475

## ABSTRACT

The phenomenon of biofouling on surfaces which are immersed in the marine environment was observed from the first contact of people with the sea and, until today, it causes a number of important problems. The most effective method against biofouling is the use of antifouling paints . The purpose of this dissertation is the use of a modified method based on the research of Persoone and Castritsi-Catharios (1989), O.BI 20040100346, in order to study the toxicity of seven antifouling and the examination of the influence of various parameters , such as temperature, salinity, and dynamic faze on their toxicity. Also, one of the main goals is to compare the results of the toxicity resulting from the method of the modified syringe (Castritsi-Catharios *et al.* 2007) with the new method with cylinders. The most toxic antifouling paint proved to be Hard racing, Hempel, followed by Chlorinated Vinyl, Biotin Antifouling F55, Person's and Micron Extra, International. The comparison of the new modified method against the one of Castritsi-Catharios *et al.* (2007 ) showed significant differences in toxicity. Antifouling paints which, according to the new method, were considered non-toxic, showed high levels of toxicity when they were examined with the method of the modified syringe. The effect of temperature, salinity and dynamic faze seems dependent on the nature of each antifouling paint. Finally, the difference observed in the results of single and double layer of antifouling paint should be investigated to determine whether this is due to the extra amount of paint or the increase of the painted surface.