

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

«ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ»

**Συσσώρευση βαρέων μετάλλων σε εκτρεφόμενα είδη ψαριών από τη
χρήση χημικών για τον έλεγχο της βιοεπίστρωσης**

Νικολάου Μαρίνα

Βόλος 2013

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

POSTGRADUATE MASTER'S THESIS

**«Accumulation of heavy metals in cultured fish from the use of
chemicals to control biofouling»**

Marina Nikolaou

Volos 2013

**«Συσώρευση βαρέων μετάλλων σε εκτρεφόμενα είδη ψαριών από τη
χρήση χημικών για τον έλεγχο της βιοεπίστρωσης»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

- 1. Νικόλαος Νεοφύτου**, Λέκτορας Π.Θ., Υδατοκαλλιέργειες και Περιβάλλον, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Επιβλέπων*.
- 2. Κωνσταντίνος Σκόρδας**, Λέκτορας Π.Θ., Περιβαλλοντική Γεωχημεία. Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*.
- 3. Ιωάννα Καστρίτση-Καθαρίου**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Π.Θ., Εφαρμοσμένη Υδροβιολογία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*.

Στους γονείς μου,
στον αδερφό μου.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όσους συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής. Κατ' αρχάς θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Νικόλαο Νεοφύτου, Λέκτορα του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ο οποίος μου έδωσε τη δυνατότητα να εκπονήσω αυτή τη διατριβή, για την πολύτιμη βοήθεια του, την καθοδήγηση και τη διαρκή υποστήριξη του καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της διατριβής.

Ευχαριστώ επίσης τον κ. Κωνσταντίνο Σκόρδα, Λέκτορα του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την πολύτιμη βοήθεια του και τη διαρκή καθοδήγηση κατά τη διεξαγωγή του πειράματος και κατά τη συγγραφή της παρούσας διατριβής. Παράλληλα θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα Ιωάννα Καστρίτση- Καθάρη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τις πολύτιμες επισημάνσεις και διορθώσεις κατά την εκπόνηση της διατριβής μου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Κοσμίδη Δημήτριο, Γεωλόγο ΠΕ για την άμεση και πολύτιμη βοήθεια του στον τομέα των εργαστηριακών αναλύσεων, την Μόλλα Κατερίνα, Διδάκτορα Γεωπόνου ΠΕ και την Μπρόζου Ευαγγελία, Υποψήφια Διδάκτορα Γεωπόνου ΠΕ για την πολύτιμη βοήθεια τους κατά τη διάρκεια εργαστηριακών αναλύσεων.

Ευχαριστίες επίσης απευθύνω στους ιδιοκτήτες και στο προσωπικό των μονάδων ιχθυοκαλλιέργειας για την φιλοξενία τους, την παροχή δειγμάτων καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια τους.

Τέλος, εκφράζω τις ευχαριστίες μου στους φίλους μου και στον αδερφό μου, που ήταν δίπλα μου όταν τους χρειαζόμουν και στους γονείς μου για την αμέριστη συμπαράσταση βοήθεια και κατανόηση καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή είχε σαν στόχο τη διερεύνηση των μεταβολών των περιεχόμενων χημικών στοιχείων (Cu, Zn) στα ιζήματα και στους εκτρεφόμενους οργανισμούς τσιπούρας (*Sparus aurata*) και λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*), με σκοπό τη μελέτη της συσσώρευσης βαρέων μετάλλων που προέρχονται από τη χρήση υφαλοχρωμάτων στα δίχτυα των ιχθυοκαλλιεργειών. Ερευνήθηκαν τα περιεχόμενα μέταλλα στα επιφανειακά ιζήματα και στους ιστούς (βράγχια, συκώτι, μυϊκό ιστό) των εκτρεφόμενων οργανισμών και πραγματοποιήθηκε στατιστική σύγκριση μεταξύ αυτών που προέρχονται από μονάδες που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα.

Επιλέχθηκαν τέσσερις μονάδες υδατοκαλλιέργειας, δύο εκ των οποίων χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα για τον έλεγχο της βιοεπίστρωσης και δύο που δεν χρησιμοποιούν. Τα δείγματα ιζήματος και οι ιστοί των δυο ειδών αναλύθηκαν προκειμένου να προσδιοριστεί ο περιεχόμενος χαλκός (Cu) και ψευδάργυρος (Zn).

Ο προσδιορισμός των περιεχόμενων μετάλλων έγινε έπειτα από διαλυτοποίηση των δειγμάτων ιζήματος σύμφωνα με τη μέθοδο EPA 3051 και βιολογικών ιστών σύμφωνα με τη μέθοδο EPA 3052. Οι αναλύσεις των χημικών στοιχείων έγιναν με τη μέθοδο της Φασματομετρίας Ατομικής Απορρόφησης (AAS).

Οι αναλύσεις των δειγμάτων του ιζήματος έδειξαν ότι το περιεχόμενο του χαλκού και του ψευδάργυρου είναι υψηλότερο στα ιζήματα των μονάδων που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα, ενώ το ποσοστό βιοδιαθεσιμότητας τους στις μονάδες αυτές είναι διπλάσιο ή και τριπλάσιο σε σχέση με αυτές που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα. Η στατιστική επεξεργασία που πραγματοποιήθηκε μεταξύ των δειγμάτων ιζήματος για τις μονάδες που χρησιμοποιούν όχι υφαλοχρώματα έδειξε στατιστικώς μη σημαντικές διαφορές για τα περιεχόμενα μέταλλα. Σε σύγκριση με τα κριτήρια ποιότητας, τα

ιζήματα της παρούσας εργασίας ως επί το πλείστον θεωρούνται μέτρια ρυπασμένα, σύμφωνα με τις ανώτατες αποδεκτές τιμές που αναφέρονται στην περιβαλλοντική νομοθεσία ΕΡΑ και δεν απαιτείται η λήψη μέτρων αποκατάστασης τους.

Οι αναλύσεις των βιολογικών δειγμάτων έδειξαν ότι ο περιεχόμενος χαλκός στο μυϊκό ιστό της τσιπούρας και του λαβρακιού είναι χαμηλότερος στα δείγματα των μονάδων που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα. Οι υψηλότερες τιμές του χαλκού και για τα δυο εκτρεφόμενα είδη, παρατηρούνται στο συκώτι. Η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) έδειξε στατιστικώς σημαντικές διαφορές στο περιεχόμενο βαρέων μετάλλων σε όλα τα δείγματα ιστών των δύο μελετούμενων ειδών μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα εκτός από το χαλκό στα βράγχια της τσιπούρας και τον ψευδάργυρο στον μυϊκό ιστό και στα βράγχια της τσιπούρας και του λαβρακιού. Ο περιεχόμενος χαλκός και ψευδάργυρος που βρέθηκε στα δείγματα μυϊκού ιστού είναι σε κάθε περίπτωση χαμηλότερος από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια που υποδεικνύουν οι διεθνείς οδηγίες σε σχέση με την καταλληλότητα για ανθρώπινη κατανάλωση.

Τέλος, από τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας φαίνεται σαφώς ότι η χρήση των υφαλοχρωμάτων στις υδατοκαλλιέργειες μπορεί να επηρεάσει σε σημαντικό βαθμό το περιεχόμενο των βαρέων μετάλλων στα ιζήματα και στους εκτρεφόμενους οργανισμούς.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

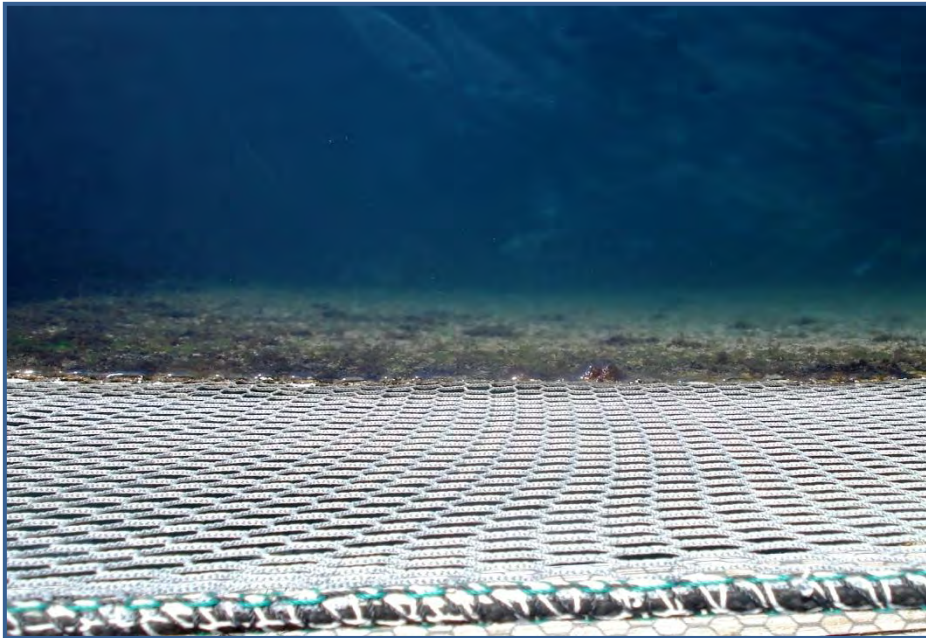
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Βιοεπίστρωση.....	1
1.2 Οργανισμοί της βιοεπίστρωσης	2
1.3 Χρονική εναπόθεση των οργανισμών της βιοεπίστρωσης.....	3
1.4 Αρνητικές επιπτώσεις της βιοεπίστρωσης	5
1.5 Υφαλοχρώματα	6
1.5.1 Τα υφαλοχρώματα στην πορεία του χρόνου	7
1.5.2 Βαρέα μέταλλα στα υφαλοχρώματα	8
1.5.3 Υφαλοχρώματα και βαρέα μέταλλα στα ιζήματα	9
1.5.4 Υφαλοχρώματα και βαρέα μέταλλα στους υδρόβιους οργανισμούς.....	11
1.6 Σκοπός της παρούσας έρευνας.....	13
1.7 Βιβλιογραφική ανασκόπηση	14
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	17
2.1 Δειγματοληψίες	17
2.2 Προετοιμασία δειγμάτων	18
2.2.1 Δείγματα ιζήματος.....	18
2.2.2 Βιολογικά δείγματα	19
2.3 Διαλυτοποίηση δειγμάτων	20
2.3.1 Διαλυτοποίηση δειγμάτων ιζήματος	21
2.3.1.1 Ολική διαλυτοποίηση	21
2.3.1.2 Μέθοδος «0.5N HCl».....	22
2.3.2 Διαλυτοποίηση βιολογικών δειγμάτων	23
2.4 Αναλυτική μέθοδος	24
2.5 Στατιστική ανάλυση.....	24
2.6 Κριτήρια προσδιορισμού περιβαλλοντικής επιβάρυνσης ιζημάτων	25
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	27
3.1 Δείγματα ιζήματος.....	27
3.1.1 Μέθοδος ολικής διαλυτοποίησης	27
3.1.2 Μέθοδος «0.5N HCl».....	31
3.2 Βιολογικά δείγματα.....	36
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	51

4.1	Δείγματα ιζήματος.....	51
4.1.1	Μέθοδος ολικής διαλυτοποίησης.....	51
4.1.2	Συσχέτιση ολικής διαλυτοποίησης και «0.5N HCl»	58
4.2	Βιολογικά δείγματα.....	60
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	70
6.	ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	74
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	75
	ABSTRACT.....	84

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Βιοεπίστρωση

Ως βιοεπίστρωση ορίζεται η φυσική ανάπτυξη οργανισμών στις επιφάνειες των ανθρώπινων κατασκευών που είναι βυθισμένες στο νερό και η οποία μπορεί να έχει σημαντικές αρνητικές οικονομικές επιπτώσεις σε αυτές (WHOI 1952). Η βιοεπίστρωση εμφανίζεται σε όλους τους ωκεανούς και σε όλα τα βάθη. Παρόλα αυτά όμως, ο χαρακτήρας και το μέγεθός της ποικίλλουν έντονα ανάλογα με τους φυσικοχημικούς και βιολογικούς παράγοντες του περιβάλλοντος (Benson *et al.* 1973).



Εικόνα 1.1: Βιοεπίστρωση σε δίχτυα ιχθυοκλωβού (Φωτογραφία του συγγραφέα)

Όταν μια κατασκευή βυθίζεται στο θαλασσινό νερό η κάλυψη της από οργανισμούς είναι αναπόφευκτη (Yebrá *et al.* 2004). Όλες οι επιφάνειες, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων του εξοπλισμού της ιχθυοκαλλιέργειας, που είναι βυθισμένες στο θαλασσινό νερό, υποβάλλονται σε μια σειρά διακριτών χημικών και βιολογικών αλλαγών (Gunn *et al.* 1987). Η ανάπτυξη των οργανισμών της

βιοεπίστρωσης είναι μια σταδιακή διαδικασία κατά την οποία σε κάθε διακριτό στάδιο σχηματίζεται το υπόβαθρο για το επόμενο στρώμα επικαθήμενων οργανισμών (Daniel & Chamberlain 1981, Davis & Williamson 1996).

1.2 Οργανισμοί της βιοεπίστρωσης

Η βιοεπίστρωση είναι ένα πολύπλοκο φυσικό φαινόμενο. Σε παγκόσμιο επίπεδο έχουν αναφερθεί περισσότερα από 4.000 είδη που συμμετέχουν στο φαινόμενο της βιοεπίστρωσης, τα περισσότερα εκ των οποίων ζουν κατά κύριο λόγο σε ρηχά νερά και κατά μήκος των ακτών όπου υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά (Yebera *et al.* 2004).

Οι θαλάσσιοι οργανισμοί που προκαλούν τη βιοεπίστρωση μπορούν να χωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Η πρώτη περιλαμβάνει τους οργανισμούς της μικροεπίστρωσης (microfouling), οι οποίοι είναι τα βακτήρια και τα διάτομα. Η άλλη κατηγορία περιλαμβάνει τους οργανισμούς της μακροεπίστρωσης (macrofouling), τα πιο σημαντικά είδη της οποίας είναι οι πεταλίδες, τα μύδια, οι πολύχαιτοι, τα φύκια και τα υδρόζωα (Olsen 2009).



Εικόνα 1.2: Πεταλίδες (*Megalobanus californicus*)
(www.week.divebums.com)



Εικόνα 1.3: Μύδια (*Mytilus edulis*)
(<http://www.sciencephoto.com>)



Εικόνα 1.4: Φύκη (*Laminaria saccharina*)
(www.superstock.com)



Εικόνα 1.5: Υδρόζωα (*Obelia geniculata*)
(<http://www.discoverlife.org>)

Είναι γνωστό ότι η βιοεπίστρωση αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα για τη θαλάσσια υδατοκαλλιέργεια σε παγκόσμιο επίπεδο (Hodson & Burke 1994, Hodson *et al.* 1997). Οι ιχθυοκλωβί μπορεί να γεμίσουν ορατά από οργανισμούς της βιοεπίστρωσης μετά από 1-2 εβδομάδες βύθισης τους στο νερό (Cheah & Chua 1979).



Εικόνα 1.6: Βιοεπίστρωση σε δίχτυα (www.dfo-mpo.gc.ca)

1.3 Χρονική εναπόθεση των οργανισμών της βιοεπίστρωσης

Το φαινόμενο της βιοεπίστρωσης στο θαλασσινό νερό αποτελείται από τρία διακριτά στάδια:

- Αρχικά, στην επιφάνεια της κατασκευής σχηματίζεται μέσα από μια απλή φυσική αντίδραση ένα υπόστρωμα, το οποίο αποτελείται από οργανικά υλικά, όπως πρωτεΐνη και πολυσακχαρίτες. Αυτό το βήμα είναι χρονικά σύντομο (ενός λεπτού) και παρέχει μια κολλώδη επιφάνεια (μεμβράνη) στην οποία προσκολλώνται αργότερα οι διάφοροι μικροοργανισμοί (βιολογική μεμβράνη) (Callow & Fletcher 1994).
- Στη βιολογική αυτή μεμβράνη αναπτύσσονται στη συνέχεια βακτήρια και μικροφύκη (Lewin 1984). Τα διάτομα είναι αυτά που υπερισχύουν στη βιολογική μεμβράνη που αναπτύσσεται σε συγκεκριμένους τύπους υφαλοχρωμάτων (Callow & Callow 2002)
- Μετά το σχηματισμό και την ανάπτυξη της βιολογικής μεμβράνης, πραγματοποιείται η προσκόλληση των προνυμφών των οργανισμών της μακροεπίστρωσης. Δύο ή τρεις εβδομάδες αργότερα, αυτές τελικά θα εξελιχθούν σε μια βιολογική κοινότητα (Guardiola *et al.* 2012).

Σε πειράματα βύθισης κατασκευών στη θάλασσα, η προσκόλληση των μικροοργανισμών εμφανίζεται συνήθως μετά το σχηματισμό της βιολογικής μεμβράνης (Abarzua *et al.* 1995, Chambers *et al.* 2006). Ωστόσο, δεν γίνεται πάντα έτσι (Cooksey & Wigglesworth 1995, Yebra *et al.* 2004), καθώς ορισμένα είδη της βιοεπίστρωσης προσκολλώνται πριν από το σχηματισμό της βιολογικής μεμβράνης (Hung *et al.* 2005).

Ένα σημαντικό θέμα για τη βιοεπίστρωση είναι οι πολυάριθμες παράμετροι που επηρεάζουν την ταχύτητα της ανάπτυξής της και τα είδη των οργανισμών που την απαρτίζουν. Η ανάπτυξη της βιοεπίστρωσης σε μια επιφάνεια είναι αποτέλεσμα φυσικών, χημικών και βιολογικών παραμέτρων όπως: η θερμοκρασία, η αγωγιμότητα,

η ενεργός οξύτητα (pH), το διαλυμένο οξυγόνο, η περιεκτικότητα σε οργανική ύλη, οι υδροδυναμικές συνθήκες, η τοποθεσία, η εποχή, το φως και, κατά συνέπεια, το βάθος (Delauney *et al.* 2010).

1.4 Αρνητικές επιπτώσεις της βιοεπίστρωσης

Η βιοεπίστρωση στη βιομηχανία των υδατοκαλλιεργειών επηρεάζει τον εξοπλισμό, τις υποδομές ή ακόμα και τους ίδιους τους εκτρεφόμενους οργανισμούς.

Οι επιφάνειες που επηρεάζονται μπορεί να είναι κινητές, όπως βάρκες και δίχτυα ή στάσιμες όπως άγκυρες και ιχθυοκλωβοί. Αυτή η υψηλή μεταβλητότητα στους τύπους των υλικών και στην επιφάνειά τους, επηρεάζει τη συγκέντρωση των οργανισμών της βιοεπίστρωσης καθώς παρέχει μια μεγάλη ποικιλία ενδιαιτημάτων η οποία ικανοποιεί τις διαφορετικές απαιτήσεις αυτών των οργανισμών, οδηγώντας έτσι σε διαφορετικές συγκεντρώσεις βιοεπίστρωσης ακόμα και μέσα στην ίδια τη μονάδα (Dürr & Thomason 2010). Η βιοεπίστρωση προσθέτει σημαντικό βάρος στις κατασκευές οι οποίες είναι βυθισμένες και μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα που αφορούν το χειρισμό του εξοπλισμού, ιδίως όταν πρέπει να αφαιρεθούν τα δίχτυα για να καθαριστούν.

Για τους εκτρεφόμενους οργανισμούς η βιοεπίστρωση αποτελεί επίσης μεγάλο πρόβλημα, καθώς φράσσει τα δίχτυα των ιχθυοκλωβών μειώνοντας έτσι την ταχύτητα ροής του νερού και άρα τα επίπεδα του διαλυμένου οξυγόνου. Τα ψάρια σταματούν να τρέφονται και η θνησιμότητά τους είναι υψηλή. Επιπλέον, η απομάκρυνση των προϊόντων μεταβολισμού γίνεται δύσκολα και ο ιχθυοκλωβός λειτουργεί ως μια κλειστή δεξαμενή που είναι φορέας ασθενειών και παράσιτων για τους εκτρεφόμενους οργανισμούς (Dürr & Thomason 2010).

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι η βιοεπίστρωση είναι ένα δαπανηρό πρόβλημα για τη βιομηχανία των υδατοκαλλιεργειών (Enright 1993, Hodson *et al.* 1997). Σημαντικά ποσά χρόνου και χρημάτων ξοδεύονται για την καταπολέμησή της μέσα από διαδικασίες συνεχούς συντήρησης και χρήσης υφαλοχρωμάτων. Η χρήση υφαλοχρωμάτων σε ένα δίκτυο μπορεί να έχει ένα σημαντικό χρηματικό κόστος. Παρόλα αυτά, δεν υπάρχουν διαθέσιμα επιστημονικά στοιχεία για τις οικονομικές επιπτώσεις που μπορεί να έχει συνολικά η βιοεπίστρωση στον τομέα των υδατοκαλλιεργειών (Bennett 1996).

1.5 Υφαλοχρώματα

Οι έρευνες διαφόρων τεχνολογιών για τον έλεγχο της βιοεπίστρωσης έχουν διάφορα επίπεδα πρακτικής εφαρμογής όσον αφορά τη βιομηχανία των υδατοκαλλιεργειών, κυρίως όμως έχουν επικεντρωθεί στην καταπολέμηση της βιοεπίστρωσης των πλοίων.

Στις υδατοκαλλιέργειες, για την καταπολέμηση του φαινομένου της βιοεπίστρωσης πραγματοποιείται η συχνή αλλαγή και ο καθαρισμός των δικτύων (Enright 1993, Beveridge 1996, Hodson *et al.* 1997, Tan *et al.* 2002), η χρήση κλωβών οι οποίοι είναι ανθεκτικοί στη βιοεπίστρωση ή περιστρεφόμενοι (Blair *et al.* 1982) και ο χημικός έλεγχος (Enright 1993, Beveridge 1996, Hodson *et al.* 1997).

Τα υφαλοχρώματα είναι η πιο διαδεδομένη λύση για την αποφυγή της βιοεπίστρωσης των πλοίων και των δικτύων (Lovegrove 1979b, Short & Thrower 1987, Evans & Clarkson 1993, Douglas-Helders *et al.* 2003). Οι επιφάνειες του εξοπλισμού των υδατοκαλλιεργειών που βυθίζονται στο νερό βάφονται με υφαλοχρώματα, τα οποία περιέχουν τοξικά χημικά στοιχεία, και τις καθιστούν ακατάλληλες για την προσκόλληση των οργανισμών της βιοεπίστρωσης (μικρόβια και άλλες ανώτερες

μορφές φυτικών ή ζωικών ειδών) (Dürr & Thomason 2010). Δυστυχώς όμως, η πλειονότητα των χημικών αυτών ουσιών έχει ανεπιθύμητες επιδράσεις και σε άλλους οργανισμούς που δεν αποτελούν στόχο τους (Terlizzi *et al.* 2001). Τα υφαλοχρώματα χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία των υδατοκαλλιεργειών επειδή η χρήση τους είναι οικονομικότερη σε σχέση με το χειρωνακτικό καθαρισμό των δικτύων (Short & Thrower 1987). Καθώς όμως αυξάνεται η παγκόσμια αγωνία για όλο και περισσότερο υπεύθυνες πρακτικές στον τομέα των υδατοκαλλιεργειών, υπάρχει μεγαλύτερη ανησυχία για τις επιπτώσεις που μπορεί να έχει η χρήση των υφαλοχρωμάτων στις υδατοκαλλιέργειες και ιδιαίτερα για εκείνες που μπορεί ενδεχομένως να γίνουν επικίνδυνες για τον άνθρωπο, για το ιχθυαπόθεμα και για το περιβάλλον. Η χρήση των υφαλοχρωμάτων στις υδατοκαλλιέργειες ελέγχεται ήδη από νομοθεσίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Maréchal & Hellio 2009, Guardiola *et al.* 2012).

1.5.1 Τα υφαλοχρώματα στην πορεία του χρόνου

Κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1960, οι χημικές βιομηχανίες δημιούργησαν αποτελεσματικά υφαλοχρώματα χρησιμοποιώντας οργανοκασιτερικές ενώσεις όπως: τον τριβουτυλοκασσίτερο (TBT) και τον τριφαινυλοκασσίτερο (TPT). Τα υφαλοχρώματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν στη συνέχεια στις υδατοκαλλιέργειες (αρχές του 1980). Αυτές οι χημικές ουσίες έχει αποδειχτεί ότι είναι εξαιρετικά τοξικές για πολλούς υδρόβιους οργανισμούς, ότι μεταφέρονται μέσω της τροφικής αλυσίδας και ότι εμφανίζουν μεγάλη ανθεκτικότητα στη διάρκεια του χρόνου (Terlizzi *et al.* 2001, Dimitriou *et al.* 2003). Το Σεπτέμβριο του 2008 (IMO), απαγορεύτηκε η χρήση του τριβουτυλοκασσίτερου (TBT) στα υφαλοχρώματα λόγω αρκετών δυσμορφιών που προκάλεσε σε οστρακοειδή και λόγω της βιοσυσσώρευσης του στα ψάρια (Evans *et al.* 1995, Strand & Jacobsen 2005). Τα τελευταία χρόνια, άρχισαν να χρησιμοποιούνται τα

οργανικά ενισχυτικά βιοκτόνα, ως εναλλακτική λύση των οργανοκασσιτερικών ενώσεων που υπήρχαν στα υφαλοχρώματα (Guardiola *et al.* 2012). Σήμερα πλέον, τα υφαλοχρώματα χωρίζονται σε δυο κατηγορίες: σε αυτά που περιέχουν βιοκτόνες ουσίες και σε αυτά που δεν περιέχουν (Dürr & Thomason 2010).

Ο χαλκός (Cu) αποτελεί το κύριο βιοκτόνο συστατικό των περισσότερων υφαλοχρωμάτων που χρησιμοποιούνται σήμερα στη βιομηχανία των υδατοκαλλιεργειών (Douglas-Helders *et al.* 2003, Braithwaite & McEvoy 2005, BurrIDGE *et al.* 2010). Συνήθως, χρησιμοποιείται με τη μορφή του οξειδίου του χαλκού (Cu₂O) (Yebra *et al.* 2004). Επίσης, ο ανόργανος ψευδάργυρος (Zn) χρησιμοποιείται συχνά σε συνδυασμό με το χαλκό με σκοπό να αυξηθεί η συνολική τοξικότητα του σκευάσματος και να διευκολυνθεί η διαδικασία διάχυσης των υδατοδιαλυτών τμημάτων του, απελευθερώνοντας έτσι την τοξική ουσία της βαφής (Watermann *et al.* 2005).

Πολλές χώρες έχουν ως στόχο τη μείωση των υφαλοχρωμάτων (που έχουν ως βάση το χαλκό) στην υδατοκαλλιέργεια, καθώς σύμφωνα με την οδηγία 67/548/ΕΟΚ θεωρείται ιδιαίτερα τοξικός για τους υδρόβιους οργανισμούς και μπορεί να έχει μακροπρόθεσμες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον (Braithwaite & McEvoy 2005).

1.5.2 Βαρέα μέταλλα στα υφαλοχρώματα

Τα βαρέα μέταλλα (χαλκός, ψευδάργυρος, υδράργυρος, κασσίτερος, μόλυβδος, νικέλιο, χρώμιο και κάδμιο) αποτελούν συστατικά των υφαλοχρωμάτων που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο του φαινομένου της βιοεπίστρωσης (Turner *et al.* 2009).

Τα βαρέα αυτά μέταλλα θεωρούνται επικίνδυνα λόγω της υψηλής τοξικότητάς τους, της κυκλοφορίας τους μέσω της τροφικής αλυσίδας και της συσσώρευσης στους οργανισμούς (Chambers *et al.* 2006).

Σήμερα, ο χαλκός θεωρείται το κύριο συστατικό των υφαλοχρωμάτων (Jones & Bolam 2007) και η χρήση αυτών θεωρείται ως μια σημαντική ανθρωπογενής πηγή χαλκού στο υδάτινο περιβάλλον (Claisse & Alzieu 1993, Matthiessen *et al.* 1999, Warnken *et al.* 2004). Όσον αφορά άλλα συστατικά που υπάρχουν στα υφαλοχρώματα και τα οποία μπορεί ενδεχομένως να προκαλέσουν δυσμενείς επιδράσεις (όπως ο ψευδάργυρος) υπάρχει έλλειψη δεδομένων (Yebera *et al.* 2004, Karlsson & Eklund 2004, Karlsson *et al.* 2006, 2010). Τα υφαλοχρώματα που έχουν ως βάση το χαλκό είναι σχεδιασμένα ειδικά για τις υδατοκαλλιέργειες και είναι τα πλέον χρησιμοποιούμενα. Τα υφαλοχρώματα αυτά μπορεί να περιέχουν έως και 40% χαλκό (Braithwaite & McEvoy 2005).

1.5.3 Υφαλοχρώματα και βαρέα μέταλλα στα ιζήματα

Τα ιζήματα αποτελούνται από τα αδιάλυτα προϊόντα της αποσάθρωσης των γεωλογικών σχηματισμών, της διάβρωσης των εδαφών και της βιολογικής δραστηριότητας. Σημαντικό ποσοστό των θαλάσσιων ιζημάτων αποτελούνται από δευτερογενή ορυκτά όπως είναι οι άργιλοι καθώς επίσης και όλα τα διαλυτά είδη που συνδέονται με τις στερεές φάσεις μέσω διεργασιών που εξελίσσονται στη θάλασσα μάζα κατά την καταβύθιση των αιωρούμενων σωματιδίων. Η σύσταση των ιζημάτων εξαρτάται από την προέλευση, τον τρόπο μεταφοράς και το περιβάλλον απόθεσης (Αρβανίτης 2006).

Τα ιζήματα είναι η κυριότερη φυσική αποθήκη συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων στα υδάτινα οικοσυστήματα (Harding & Whitton 1978, Forstner & Wittman

1983, Thomson *et al.* 1984). Αντικατοπτρίζουν την κατάσταση ενός υδάτινου οικοσυστήματος από πλευράς ρύπανσης, καθώς επίσης και την ιστορική εξέλιξη των υδρολογικών και χημικών παραμέτρων. Μέσω του ιζήματος μπορούμε να αντλήσουμε πληροφορίες για τα φυσικά επίπεδα των ρύπων και για αυτά που συσσωρεύονται προερχόμενα από ανθρώπινες δραστηριότητες. Τα μέταλλα δεν βρίσκονται μόνιμα δεσμευμένα στα ιζήματα, αλλά μπορούν να ανακυκλωθούν, μέσω βιολογικών και χημικών παραγόντων και να επανέλθουν στην υδάτινη στήλη (BurrIDGE *et al.* 2010).

Τα δραστικά συστατικά των υφαλοχρωμάτων διαλύονται στο νερό (Singh & Turner 2008) και μπορεί να έχουν τοξικές επιδράσεις σε είδη τα οποία δεν αποτελούν στόχο τους αλλά ζουν στην υδάτινη στήλη ή στο ίζημα όπου έχουν τη τάση να συσσωρεύονται όλες αυτές οι χημικές ουσίες (BurrIDGE *et al.* 2010).

Ο χαλκός μετρήθηκε σε ιζήματα κοντά σε μονάδες υδατοκαλλιεργειών και οι συγκεντρώσεις του βρέθηκε να ξεπερνούν τα επιτρεπτά όρια που έχουν θεσμοθετηθεί για την ποιότητα των ιζημάτων (BurrIDGE *et al.* 1999, Parker & Aube 2002). Τα μέταλλα όπως ο χαλκός έχουν την τάση να συσσωρεύονται στα ιζήματα λόγω της μικρής διαλυτότητας τους στο νερό. Το κρίσιμο ζήτημα για την τοξικότητα του χαλκού στα ιζήματα είναι σε ποιο ποσοστό ο χαλκός είναι βιοδιαθέσιμος (BurrIDGE *et al.* 2010). Γενικά, σε ιζήματα κοντά σε μονάδες υδατοκαλλιεργειών σολομού έχουν καταγραφεί αυξημένα περιεχόμενα χαλκού (BurrIDGE *et al.* 1999).

Ο ψευδάργυρος όπως και ο χαλκός δεσμεύεται σε λεπτά σωματίδια και σουλφίδια στο ίζημα και ακόμη και όταν είναι βιοδιαθέσιμος είναι λιγότερο τοξικός από ότι ο χαλκός (Newman & Unger 2003). Όσον αφορά τα θέματα της χημικής του μορφής και τη βιοδιαθεσιμότητά του στην υδάτινη στήλη και στο ίζημα, είναι παρόμοια

με του χαλκού. Όπως και ο χαλκός, ο ψευδάργυρος μετρήθηκε σε ίζημα κοντά σε ιχθυοκαλλιέργεια σολομού και βρέθηκε ότι το περιεχόμενο του υπερβαίνει κατά πολύ τις τιμές που αναφέρονται στις κατευθυντήριες οδηγίες για την ποιότητα των ιζημάτων. Δεδομένης της φύσης των ιζημάτων τα οποία βρίσκονται κάτω από ιχθυοκλωβούς σολομού, ο ψευδάργυρος θεωρείται γενικώς μη διαθέσιμος στους περισσότερους υδρόβιους οργανισμούς (BurrIDGE *et al.* 2010).

1.5.4 Υφαλοχρώματα και βαρέα μέταλλα στους υδρόβιους οργανισμούς

Η είσοδος των βαρέων μετάλλων στο υδάτινο περιβάλλον προκαλεί μια σημαντική ανησυχία δεδομένου ότι αποτελούν δυνητικό κίνδυνο για ένα μεγάλο αριθμό ειδών της χλωρίδας και της πανίδας συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου, μέσω της τροφικής αλυσίδας (Boran & Altinok 2010).

Η ευρέως διαδεδομένη χρήση τοξικών βιοκτόνων στα υφαλοχρώματα εισαγάγει υψηλά επίπεδα ρύπανσης στο περιβάλλον και προκαλεί ανησυχίες για τις τοξικές τους επιδράσεις στους θαλάσσιους οργανισμούς. Οι θαλάσσιοι οργανισμοί συσσωρεύουν τους ρυπαντές των υφαλοχρωμάτων τόσο ενεργητικά όσο και παθητικά, με την απορρόφηση από το νερό μέσω επιφανειών του σώματος τους, μέσω της αναπνοής και μέσω του πεπτικού συστήματος (Tinsley 2004). Η μεταφορά αυτών των ρύπων σε υψηλότερα τροφικά επίπεδα έχει μέγιστη σημασία, ειδικά όταν ο οργανισμός αυτός αποτελεί βασική πηγή τροφής για τον άνθρωπο (Antizar 2008). Οι ενεργειακές ανάγκες των οργανισμών και η θέση τους στην τροφική αλυσίδα παίζουν καθοριστικό ρόλο στο μηχανισμό πρόσληψης των μετάλλων (Baudo 1987, Varanasi & Markey 1987).

Παρά τα πλεονεκτήματα των υφαλοχρωμάτων όσον αφορά τον έλεγχο της βιοεπίστρωσης, οι βαφές που έχουν ως βάση το χαλκό μπορεί να έχουν μειονεκτήματα όσον αφορά την ιχθυοπαραγωγή. Η αυξημένη ποσότητα χαλκού σε ένα δίχτυ έχει

αποδειχτεί ότι μπορεί να είναι θανατηφόρα για τα εκτρεφόμενα ψάρια (BurrIDGE & Zitko 2002). Οι Anderson *et al.* (1995) και οι Bellas *et al.* (2001), αναφέρουν ότι οι οργανισμοί που έχουν εκτεθεί σε νερό με υψηλά ποσοστά χαλκού μπορεί να επηρεάζονται έμμεσα. Οι Douglas *et al.* (2003), αναφέρουν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας σε ψάρια που αναπτύσσονται σε ιχθυοκλωβούς στους οποίους έχουν χρησιμοποιηθεί τέτοιου είδους υφαλοχρώματα.

Σύμφωνα με την έρευνα των Katranitsas *et al.* (2003), τα υφαλοχρώματα είναι δυνατό να επηρεάσουν οργανισμούς που δεν αποτελούν στόχο τους. Στη συγκεκριμένη έρευνα ως πειραματόζωο επιλέχθηκε το είδος *Artemia*, το οποίο εκτέθηκε σε πάνελ τα οποία είχαν επικαλυφθεί με το υφαλόχρωμα Flexgard VI-II, το οποίο έχει ως βασικό συστατικό το οξείδιο του χαλκού (18% Cu₂O) και ένα βιοκτόνο (Chlorothalonil) για τον έλεγχο των οργανισμών της βιοεπίστρωσης οι οποίοι είναι ανθεκτικοί στο χαλκό. Το υφαλόχρωμα βρέθηκε να είναι ιδιαίτερα τοξικό προκαλώντας υψηλά ποσοστά θνησιμότητας.

Οι Cotou *et al.* (2012), μελέτησαν εάν τα επίπεδα χαλκού που απελευθερώνονται από τα επικαλυμμένα με υφαλοχρώματα δίχτυα επηρεάζουν το ανοσοποιητικό μηχανισμό άμυνας και/ ή αν προκαλούν οξειδωτικό στρες στο εκτρεφόμενο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο χαλκός που απελευθερώνεται από δίχτυα με υφαλοχρώματα δεν προκαλεί οξειδωτικό στρες αλλά επηρεάζει το ανοσοποιητικό σύστημα κάνοντας τα ψάρια πιο ευάλωτα σε ασθένειες. Συμπερασματικά αναφέρουν ότι τα υφαλοχρώματα με βάση το χαλκό μπορεί να αποτελέσουν κίνδυνο για την υγεία του λαβρακιού.

Όσον αφορά τον ψευδάργυρο, υπάρχει έλλειψη στοιχείων, αλλά έχει αποδειχτεί ότι στην ιοντική του μορφή είναι επίσης τοξικός για τους θαλάσσιους οργανισμούς σε μεγαλύτερες όμως συγκεντρώσεις από αυτές του χαλκού (BurrIDGE *et al.* 2010).

Η ρύπανση του θαλάσσιου περιβάλλοντος από βαρέα μέταλλα τα οποία απελευθερώνονται από τα υφαλοχρώματα οδηγεί σε αισθητή μείωση της ποικιλότητας των ειδών και επιδρά στη μειωμένη σταθερότητα των κοινοτήτων (Prater & Hoke 1980, Kelly *et al.* 1990, Weis & Weis 1995).

1.6 Σκοπός της παρούσας έρευνας

Η ρύπανση του υδάτινου περιβάλλοντος με βαρέα μέταλλα είναι δυνατό να προκληθεί από φυσικές και ανθρωπογενείς πηγές. Στις ανθρωπογενείς πηγές συμπεριλαμβάνεται και η χρήση των υφαλοχρωμάτων. Στην παρούσα έρευνα, εξετάστηκαν οι συγκεντρώσεις του χαλκού (Cu) και του ψευδάργυρου (Zn) που αποτελούν βασικά συστατικά των υφαλοχρωμάτων που χρησιμοποιούνται σήμερα στις μονάδες υδατοκαλλιέργειας. **Σκοπός της εργασίας** ήταν να ανιχνεύσει τον πιθανό βαθμό συσσώρευσης των μετάλλων που περιέχονται στα υφαλοχρώματα στα δυο πιο εμπορικά εκτρεφόμενα είδη της Ελλάδας, στην τσιπούρα και στο λαβράκι καθώς και να καταγράψει το περιεχόμενο τους σε ιζήματα κάτω από τους ιχθυοκλωβούς. Για το λόγο αυτό απομονώθηκαν ιστοί όπως: συκώτι, βράγχια και μυϊκός ιστός καθώς και δείγματα επιφανειακού ιζήματος, μελετήθηκε το περιεχόμενο του χαλκού (Cu) και του ψευδάργυρου (Zn) σε αυτά και πραγματοποιήθηκε σύγκριση των αποτελεσμάτων. Επίσης, στα δείγματα του ιζήματος έγινε εκτίμηση του ολικού περιεχόμενου και του περιεχόμενου των βαρέων μετάλλων τα οποία προέρχονται από ανθρωπογενείς πηγές. Με τον τρόπο αυτό έγινε προσπάθεια πληρέστερης εκτίμησης των επιπτώσεων των υφαλοχρωμάτων στους εκτρεφόμενους οργανισμούς.

1.7 Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Η έρευνα για την βιοεπίστρωση των ιχθυοκλωβών ξεκίνησε πριν από 40 χρόνια περίπου (Milne 1970). Το φαινόμενο της βιοεπίστρωσης στις ιχθυοκαλλιέργειες έχει μελετηθεί από ένα μεγάλο αριθμό ερευνητών (Chean & Chua 1979, Gunn *et al.* 1987, Enright 1993, Hodson *et al.* 1995, 1997, 2000, Yebra *et al.* 2004, Braithwaite & McEvoy 2005, Dürr & Thomason 2010). Ο έλεγχος του φυσικού αυτού φαινομένου στη βιομηχανία των υδατοκαλλιεργειών έχει μελετηθεί αρκετά και μπορεί να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας διάφορα διαχειριστικά μέτρα (Blair *et al.* 1982, Enright 1993, Li 1994, Beveridge 1996, Lodeiros & Himmelman 1996, Hodson *et al.* 1997, Tan *et al.* 2002, Braithwaite & McEvoy 2005, Dürr & Thomason 2010), μεταξύ των οποίων είναι και η χρήση υφαλοχρωμάτων (Lovegrove 1979b, Short & Thrower 1986, Evans & Clarkson 1993, Douglas-Helders *et al.* 2003, Braithwaite & McEvoy 2005, Dürr & Thomason 2010). Οι περισσότερες έρευνες αφορούν υφαλοχρώματα που περιέχουν υψηλά ποσοστά χαλκού στη μορφή του μονοσθενούς οξειδίου του χαλκού και χρησιμοποιούνται αποκλειστικά στην βιομηχανία των υδατοκαλλιεργειών (Enright 1993, Beveridge 1996, Douglas-Helders *et al.* 2003, Yebra *et al.* 2004, Burrridge *et al.* 2010, Dürr & Thomason 2010). Υπάρχουν εργασίες οι οποίες τεκμηριώνουν τις επιδράσεις των υφαλοχρωμάτων στους οργανισμούς. Οι περισσότερες από αυτές αφορούν τη χρήση υφαλοχρωμάτων σε μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας σολομού και την επίδραση του χαλκού και του ψευδάργυρου σε οργανισμούς που δεν αποτελούν στόχο τους (Anderson *et al.* 1995, Bellas *et al.* 2001, Burrridge & Zitko 2002, Sølberg *et al.* 2002, Singh & Turner 2008, Burrridge *et al.* 2010, Dürr & Thomason 2010).

Η τοξικότητα που μπορεί να έχουν τα υφαλοχρώματα στους οργανισμούς έχει τεκμηριωθεί από ερευνητές σε πειράματα εργαστηρίου (Viarengo *et al.* 1996, Katranitsas *et al.* 2003, Karlsson & Eklund 2004, Cotou *et al.* 2012).

Επίσης έχουν γίνει αρκετές εργασίες στις οποίες αναφέρεται η επίδραση που μπορεί να έχουν τα υφαλοχρώματα στο ιζήμα. Το περιεχόμενο του χαλκού και του ψευδάργυρου σε ιζήματα κάτω από μονάδες εκτροφής σολομού, στις οποίες χρησιμοποιούνται υφαλοχρώματα για τον έλεγχο της βιοεπίστρωσης, έχει μελετηθεί από ένα μεγάλο αριθμό ερευνητών (Debourg *et al.* 1993, BurrIDGE *et al.* 1999, Morrisey *et al.* 2000, Chou *et al.* 2002, Parker & Aube 2002, Sølberg *et al.* 2002, Belias *et al.* 2003, Brooks & Mahnken 2003, Newman & Unger 2003, Singh & Turner 2008, BurrIDGE *et al.* 2010, Kalantzi *et al.* 2013).

Οι περισσότερες από τις παραπάνω έρευνες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι τα βαρέα μέταλλα, ως βασικό συστατικό των υφαλοχρωμάτων, συσσωρεύονται σε υψηλές τιμές σε ιζήματα κάτω από μονάδες υδατοκαλλιεργειών και μπορεί να έχουν τοξικές επιδράσεις στους εκτρεφόμενους οργανισμούς.

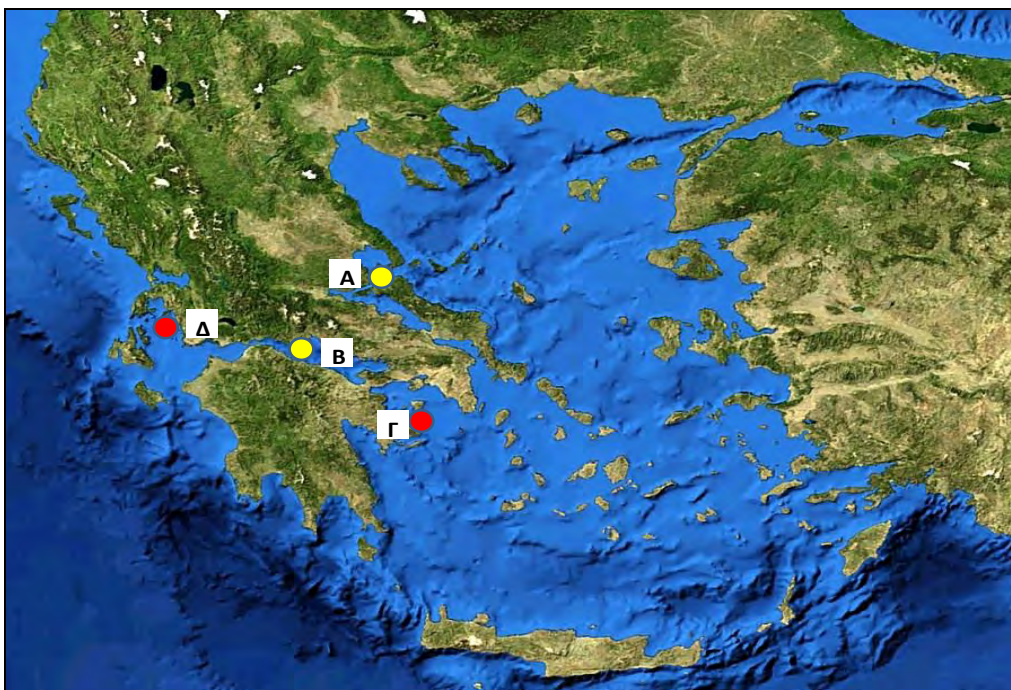
Στον Ελληνικό χώρο έχουν γίνει αρκετές έρευνες για το περιεχόμενο των βαρέων μετάλλων σε ιζήματα. Ο αριθμός των ερευνών όμως που έχουν πραγματοποιηθεί για τον υπολογισμό των περιεχόμενων βαρέων μετάλλων σε ιζήματα από μονάδες υδατοκαλλιεργειών είναι μικρός. Οι Belias *et al.* 2003 μελέτησαν τα περιεχόμενα των βαρέων μετάλλων σε ιζήματα μονάδων ιχθυοκαλλιεργειών στην περιοχή του Αστακού, προσδιορίζοντας το ολικό περιεχόμενο τους καθώς και αυτό που οφείλεται σε ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Οι Kalantzi *et al.* (2013) ερεύνησαν το περιεχόμενο των βαρέων μετάλλων σε ιζήματα τεσσάρων μονάδων ιχθυοκαλλιεργειών (Ιονίου και Αιγαίου) στις οποίες εκτρέφονται η τσιπούρα και το λαβράκι. Όσον αφορά

τους εκτρεφόμενους οργανισμούς, οι Alasalvar *et al.* (2002) ερεύνησαν και σύγκριναν, μεταξύ άλλων, τα ιχνοστοιχεία σε μυϊκό ιστό από εκτρεφόμενα και άγρια λαβράκια. Οι Fountoulaki *et al.* (2010), ερεύνησαν το περιεχόμενο του ψευδάργυρου σε μυϊκό ιστό λαβρακιών τα οποία ταΐστηκαν με τροφές διαφορετικές σε περιεκτικότητα ψευδαργύρου. Όσον αφορά το περιεχόμενο των βαρέων μετάλλων από τη χρήση υφαλοχρωμάτων σε εκτρεφόμενους οργανισμούς, έχουν πραγματοποιηθεί εργαστηριακά πειράματα (Cotou *et al.* 2013) και έχει μελετηθεί μόνο το περιεχόμενο του χαλκού στους ιστούς των οργανισμών που εκτίθενται σε αυτά. Ενώ όσον αφορά το περιεχόμενο βαρέων μετάλλων από τη χρήση υφαλοχρωμάτων, έχει γίνει έρευνα σε τρεις ελληνικές μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας και έχει μελετηθεί το περιεχόμενο του ψευδάργυρου, του χρωμίου και του χαλκού στους εκτρεφόμενους οργανισμούς (Castritsi - Catharios *et al.* 2013).

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δειγματοληψίες

Οι δειγματοληψίες των ψαριών πραγματοποιήθηκαν το Μάιο και του Ιζήματος το Σεπτέμβριο του 2012 σε τέσσερις Ελληνικές ιχθυοκαλλιεργητικές μονάδες (εικόνα 2.1). Και στις τέσσερις αυτές μονάδες εκτρέφονται τα δύο βασικά είδη της μεσογειακής ιχθυοκαλλιέργειας, η τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*). Οι δυο εξ αυτών χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα για τον έλεγχο της βιοεπίστρωσης (Γ και Δ) ενώ οι άλλες δυο (Α και Β) χρησιμοποιούν άλλες τεχνικές όπως συχνή αλλαγή και καθαρισμό των δικτυών.



Εικόνα 2.1: Χάρτης με τις τέσσερις ιχθυοκαλλιεργητικές μονάδες που ερευνήθηκαν (Α και Β μονάδες χωρίς υφαλοχρώματα, Γ και Δ μονάδες με υφαλοχρώματα) (<http://maps.google.com/>)

Από κάθε μονάδα συλλέχθηκαν έξι (6) δείγματα Ιζήματος με αυτόνομη κατάδυση, τρία (3) κάτω από τους ιχθυοκλωβούς και τρία (3) σε μία απόσταση 500 μέτρων από αυτούς τα οποία θεωρήθηκαν ως μάρτυρες (n=24). Επίσης, συλλέχθηκαν

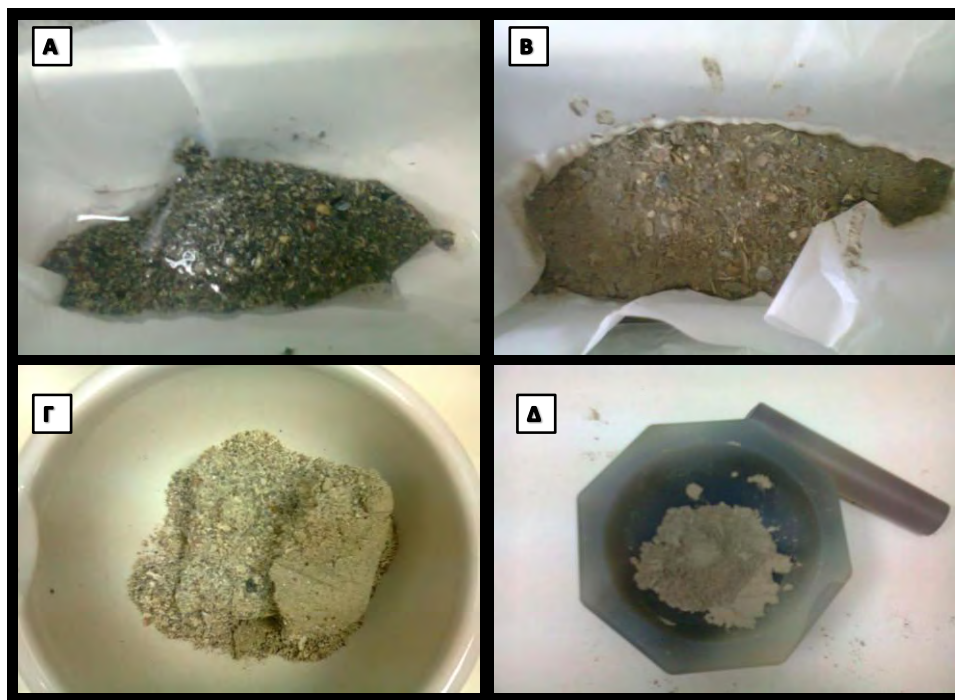
πέντε (5) τυχαία δείγματα ψαριών εμπορεύσιμου μεγέθους για κάθε ένα από τα δύο εκτρεφόμενα είδη (n=40).

2.2 Προετοιμασία δειγμάτων

Μετά το τέλος της δειγματοληψίας ακολούθησε η μεταφορά των δειγμάτων στο εργαστήριο και η μετέπειτα προετοιμασία τους. Η προετοιμασία των δειγμάτων περιλαμβάνει τις μετρήσεις των ψαριών, τη διαδικασία εξαγωγής ιστών και οργάνων από αυτά και τα στάδια της ξήρανσης, της κονιοποίησης, του κοσκίνισματος και της μείωσης της μάζας όλων των δειγμάτων (Αργυράκη 2007).

2.2.1 Δείγματα ιζήματος

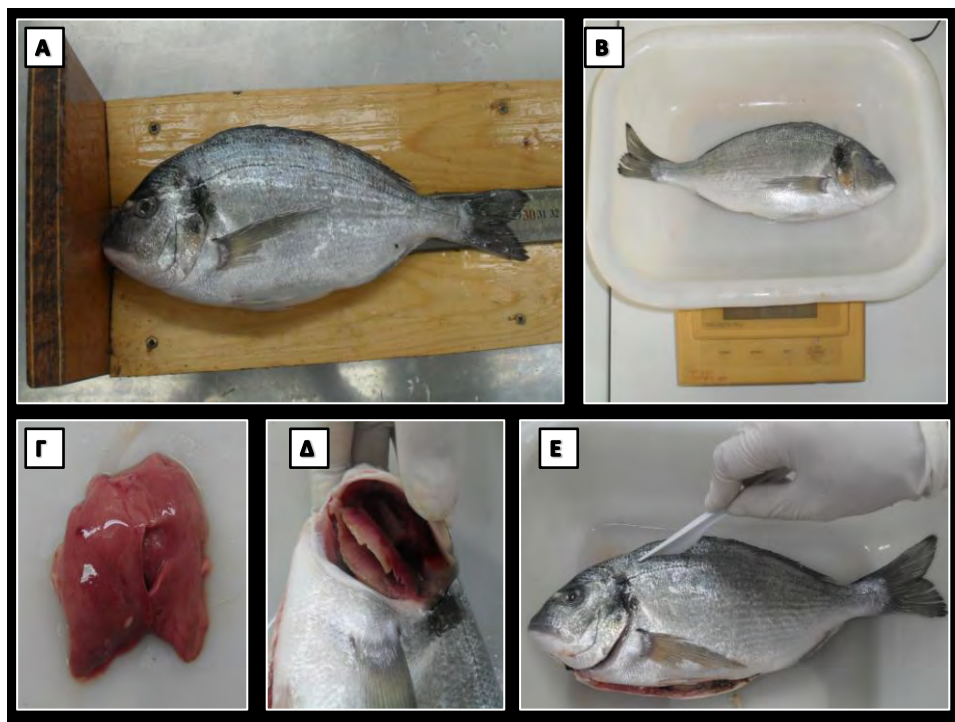
Τα δείγματα ιζήματος μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο μέσα σε φορητά ψυγεία με πάγο, για να αποφευχθούν τυχόν αλλοιώσεις και η επεξεργασία τους έγινε άμεσα. Πραγματοποιήθηκε απόψυξη των δειγμάτων και τοποθέτηση τους σε ταψάκι αλουμινίου, όπου στρώθηκε ριζόχαρτο για αποφυγή επιμολύνσεων. Η ξήρανση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στους 40°C για 48 ώρες. Μετά το στάδιο της ξήρανσης, έγινε ομογενοποίηση των δειγμάτων σε πορσελάνινο γουδί και ακολούθησε κοσκίνισμα αυτών σε κόσκινο 2 mm. Το υλικό που συγκρατήθηκε στο κόσκινο απομακρύνθηκε, ενώ το υλικό που διήλθε από το κόσκινο των 2 mm συλλέχθηκε, κονιοποιήθηκε σε πορσελάνινο και αχάτινο γουδί και κοσκινίστηκε σε κόσκινο με άνοιγμα οπής 63 μm ώστε το δείγμα να είναι κατάλληλο για χημική ανάλυση.



Εικόνα 2.2: Α) Ίζημα πριν το στάδιο της ξήρανσης, Β) Ίζημα μετά το στάδιο της ξήρανσης, Γ) Κονιοποίηση ιζήματος σε πορσελάνινο κονιοποιητή και Δ) Κονιοποίηση ιζήματος σε αχάτινο γουδί (φωτογραφίες του συγγραφέα).

2.2.2 Βιολογικά δείγματα

Η μεταφορά των ψαριών έγινε σε θερμομονωτικά κουτιά γεμάτα πάγο για να αποφευχθούν τυχόν αλλοιώσεις. Μετά την ολοκλήρωση της συλλογής των δειγμάτων, πραγματοποιήθηκε η επεξεργασία τους στο εργαστήριο. Έγινε προσδιορισμός ολικού βάρους, μεσουραίου και ολικού μήκους. Το κάθε άτομο ξεπλύθηκε με απιονισμένο νερό και στη συνέχεια πάρθηκαν δείγματα από τρία διαφορετικά μέρη του σώματός του: μυϊκός ιστός, συκώτι και βράγχια (n= 120).



Εικόνα 2.3: (Α) Μέτρηση ολικού και μεσουραίου μήκους, (Β) Μέτρηση ολικού βάρους (Γ) Συκώτι, (Δ) Βράγχια και (Ε) Μυϊκός ιστός (φωτογραφίες του συγγραφέα).

Η λήψη των ιστών από τα ψάρια έγινε σύμφωνα με τη διαδικασία της UNEP (1984).

Ακολούθησε η ξήρανση των δειγμάτων στους 40° C για 1 έως 3 μέρες. Μετά το στάδιο της ξήρανσης τα δείγματα κονιοποιήθηκαν σε πορσελάνινο γουδί και κοσκινίστηκαν σε κόσκινο με άνοιγμα οπής 0,63 μm. Στη συνέχεια, αποθηκεύτηκαν σε προπλυμένα με 10% διάλυμα νιτρικού οξέος, πλαστικά κωδικοποιημένα δοχεία.

2.3 Διαλυτοποίηση δειγμάτων

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε τόσο για το οργανικό όσο και για το ανόργανο υλικό ήταν η μέθοδος της υγρής χώνευσης με την οποία επιτυγχάνεται καταστροφή της οργανικής και ανόργανης ύλης μετά την επίδραση μιγμάτων ισχυρών οξέων (Bettinelli *et al.* 2000).

2.3.1 Διαλυτοποίηση δειγμάτων ιζήματος

Οι υγρές αναλυτικές τεχνικές απαιτούν τη διαλυτοποίηση των στερεών δειγμάτων με χρήση οξέων. Ανάλογα με το στόχο της χημικής ανάλυσης και τη σύσταση των δειγμάτων, η διαλυτοποίηση των γεωλογικών υλικών (πετρώματα, εδάφη, ιζήματα) μπορεί να είναι μερική ή ολική (Αργυράκη 2007).

Η ολική χημική ανάλυση του δείγματος στοχεύει στον προσδιορισμό του συνόλου των στοιχείων που απαντώνται στο δείγμα. Η μερική ανάλυση στοχεύει στον ποσοτικό προσδιορισμό του κλάσματος των στοιχείων του δείγματος (Odegard 1997). Η μερική ανάλυση έχει ιδιαίτερη σημασία για τις γεωεπιστήμες και εφαρμόζεται κυρίως σε περιβαλλοντικές έρευνες (Αργυράκη 2007).

2.3.1.1 Ολική διαλυτοποίηση

Για την επεξεργασία των δειγμάτων του ιζήματος επιλέχθηκε η μέθοδος της υγρής χώνευσης με τη βοήθεια φούρνου μικροκυμάτων σε κλειστά δοχεία με τη χρήση πυκνών οξέων, όπως το νιτρικό οξύ (HNO_3) και το υδροχλωρικό οξύ (HCl), σύμφωνα με το πρωτόκολλο 3051a της Επιτροπής Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (Environmental Protection Agency USA).

Ζυγίστηκε 0,5 g από το κάθε δείγμα ιζήματος και τοποθετήθηκε σε κλειστό δοχείο. Στη συνέχεια προστέθηκαν 9 ml πυκνού νιτρικού οξέος (HNO_3) και 3 ml πυκνού υδροχλωρικού οξέος (HCl), σύμφωνα με τη μέθοδο EPA 3051a για τα ιζήματα. Το δείγμα αντέδρασε με τα οξέα και αφού τελείωσε η αντίδραση κλείσανε τα vessel και τοποθετήθηκαν στο ρότορα, ώστε να αρχίσει η χώνευση. Η διαδικασία ολοκληρώθηκε με το άνοιγμα των vessel και την εξαγωγή τυχόν αερίων. Το δείγμα μεταφέρθηκε σε καθαρό φιαλίδιο και προστέθηκε απεσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή των 50 ml. Στη

συνέχεια έγινε διήθηση του δείγματος με φίλτρο των 0,45 μm για την απομάκρυνση στερεών υπολειμμάτων μέχρι τη μέτρηση στην ατομική απορρόφηση. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε πλαστικά φιαλίδια των 50 ml (τύπου falcon) και διατηρήθηκαν σε ψυγείο στους 4°C μέχρι την μέτρηση τους.

Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του συστήματος Multiwave 3000, Sample Preparation System, Anton Paar, Microwave System Perkin Elmer.

2.3.1.2 Μέθοδος «0.5N HCl»

Τα περιεχόμενα μέταλλα που είναι περισσότερο διαθέσιμα στο περιβάλλον προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο εκχύλισης «0,5N HCl» σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (Agemian & Chau 1976). Το τμήμα αυτό των μετάλλων θεωρείται ότι αντιπροσωπεύει κυρίως τα μέταλλα ανθρώπινης προέλευσης, ιδιαίτερα σε περιοχές οι οποίες υφίστανται την επίδραση ανθρώπινων δραστηριοτήτων (Chester & Voutsinou 1981, Angelidis *et al.* 1982). Η μέθοδος αυτή έχει εφαρμοσθεί ευρέως σε περιβαλλοντικές μελέτες, αφού επιτυγχάνει να αναγνωρίζει τη διαφορά ανάμεσα σε «ανώμαλες» συγκεντρώσεις και συγκεντρώσεις υποβάθρου. Για το λόγο αυτό θεωρείται ένα χρήσιμο εργαλείο για τη διαφοροποίηση των ανθρωπογενών από τα φυσικά επίπεδα διαφόρων ρύπων (Loring 1976a, 1976b, Chester & Voutsinou 1981, Angelidis *et al.* 1987, Zabetoglou *et al.* 2002, Skordas & Kelepertzis 2005, Tzouni *et al.* 2011).

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις με τη μέθοδο «0,5N HCl» για το σύνολο των δειγμάτων του ιζήματος. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, ζυγίζουμε με ακρίβεια ποσότητα δείγματος 2 g και την τοποθετούμε σε πλαστικά φιαλίδια των 100 ml. Προσθέτουμε 50 ml HCl 0,5N. Το δείγμα τοποθετείται σε συσκευή μηχανικής ανάδευσης για διάστημα 16 ωρών. Στη συνέχεια γίνεται διήθηση

του δείγματος με φίλτρα των 0,45 μm. Το διήθημα είναι έτοιμο προς μέτρηση με φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης (Σκούλλος & Δασενάκης 1992).

2.3.2 Διαλυτοποίηση βιολογικών δειγμάτων

Για την επεξεργασία των βιολογικών δειγμάτων επιλέχθηκε η μέθοδος της υγρής χώνευσης με τη βοήθεια φούρνου μικροκυμάτων σε κλειστά δοχεία με τη χρήση πυκνών οξέων, όπως το νιτρικό οξύ (HNO_3), σύμφωνα με το πρωτόκολλο 3052 της Επιτροπής Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (Environmental Protection Agency USA).

Ζυγίστηκαν 0,5 g από το κάθε δείγμα μυϊκού ιστού, συκωτιού και βραγχίων και τοποθετήθηκαν σε κλειστά δοχεία. Στη συνέχεια προστέθηκαν 9 ml πυκνού νιτρικού οξέος (HNO_3), σύμφωνα με τη μέθοδο EPA 3052 για βιολογικά δείγματα. Το δείγμα αντέδρασε με τα οξέα και αφού τελείωσε η αντίδραση, κλείσανε τα vessel και τοποθετήθηκαν στο ρότορα ώστε να αρχίσει η διαλυτοποίηση. Η διαδικασία ολοκληρώθηκε με το άνοιγμα των vessel και την εξαγωγή τυχόν αερίων. Το δείγμα μεταφέρθηκε σε καθαρό φιαλίδιο και προστέθηκε απεσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή των 25 ml. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε διήθηση του δείγματος σε φίλτρο των 0,45 μm για την απομάκρυνση στερεών υπολειμμάτων μέχρι τη μέτρηση στην ατομική απορρόφηση. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε πλαστικά φιαλίδια των 50 ml (τύπου falcon) και διατηρήθηκαν σε ψυγείο στους 4°C.

Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του συστήματος Multiwave 3000, Sample Preparation System, Anton Paar, Microwave System Perkin Elmer.

2.4 Αναλυτική μέθοδος

Για τον προσδιορισμό του περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου στα ιζήματα χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης του οίκου Perkin Elmer AAnalyst 400 με φλόγα αέρα ακετυλενίου.

Για τον προσδιορισμό του περιεχόμενου χαλκού στους βιολογικούς ιστούς χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης (Perkin Elmer AAnalyst 400) με φούρνο γραφίτη, ενώ για τον προσδιορισμό του ψευδάργυρου χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης (Perkin Elmer AAnalyst 400) με φλόγα αέρα ακετυλενίου.

2.5 Στατιστική ανάλυση

Οι μετρήσεις από κάθε δειγματοληψία καταχωρήθηκαν σε φύλλα του λογιστικού προγράμματος Microsoft Excel 2007, ενώ για την περαιτέρω στατιστική επεξεργασία χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS (v. 17).

Για τη στατιστική σύγκριση του περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου στο ίζημα των δειγματοληπτικών σταθμών των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα χρησιμοποιήθηκε η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA). Η ίδια μέθοδος χρησιμοποιήθηκε και για τη σύγκριση των δειγμάτων ιζήματος που πάρθηκαν κάτω από τους ιχθυοκλωβούς μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα (Zar 1996).

Η σύγκριση του περιεχόμενου σε βαρέα μέταλλα μεταξύ των διαφορετικών ιστών των μελετούμενων ψαριών και των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα πραγματοποιήθηκε με την ανάλυση διακύμανσης κατά δύο παράγοντες (two-way ANOVA), ενώ για τις επιμέρους συγκρίσεις μεταξύ των μονάδων πραγματοποιήθηκε η δοκιμασία Tukey test. Τέλος, για τη στατιστική σύγκριση του

περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου στους ιστούς των ψαριών μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα εφαρμόστηκε η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA). Όλες οι συγκρίσεις έγιναν σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ (Zar 1996).

2.6 Κριτήρια προσδιορισμού περιβαλλοντικής επιβάρυνσης ιζημάτων

Οι ομάδες κριτηρίων ποιότητας για τα θαλάσσια ιζήματα (Sediment Quality Guidelines SQGs), που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία και προσδιορίζουν τις οριακές τιμές των μετάλλων σε αυτά με βάση την εμφάνιση τοξικής δράσης στη θαλάσσια βιοκοινωνία είναι (Long *et al.* 1995, MacDonald *et al.* 1996):

- **ERL** (effect range low) και **ERM** (effect range median): Η τιμή του κριτηρίου ERM αντιστοιχεί στο 50% της κατανομής των τιμών των προσδιοριζόμενων συγκεντρώσεων του μετάλλου στο ίζημα, όπου παρατηρείται τοξική δράση. Τα θαλάσσια ιζήματα κρίνονται ρυπασμένα ως προς κάποιο μέταλλο και υπάρχει τοξική επίδραση στους βενθικούς οργανισμούς εάν οι τιμές του μετάλλου είναι μεγαλύτερες των τιμών και των δύο κριτηρίων. Σε περίπτωση, που είναι μεγαλύτερες μόνο του χαμηλότερου κριτηρίου, τότε το θαλάσσιο ίζημα κρίνεται μέτρια ρυπασμένο.
- **TEL** (threshold effect level) και **PEL** (probable effect level): διαπιστώνεται συχνά η παρουσία τοξικής δράσης των μετάλλων για συγκεντρώσεις στο ίζημα οι οποίες είναι μεγαλύτερες από την οριζόμενη τιμή του κριτηρίου PEL. Τα κριτήρια αυτά για το χαρακτηρισμό του ιζήματος ως ρυπασμένου ή μη χρησιμοποιούνται όπως τα κριτήρια ERL και ERM.

Ο αντικειμενικός στόχος των τιμών ERL και TEL και των τιμών ERM και PEL είναι συγκρίσιμος. Οι τιμές των κριτηρίων ERL και TEL χρησιμοποιούνται για να παρουσιάσουν τις συγκεντρώσεις των χημικών προς το χαμηλό άκρο του εύρους των αποτελεσμάτων, δηλαδή τις τιμές κάτω από τις οποίες σπάνια παρατηρήθηκαν δυσμενείς βιολογικές επιδράσεις. Οι τιμές των κριτηρίων ERM και PEL αντιπροσωπεύουν τις συγκεντρώσεις των χημικών προς το μέσο του εύρους των τιμών και πάνω από τις οποίες τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν ήταν πιο συχνά.

Στον παρακάτω Πίνακα παρουσιάζονται οι τιμές των κριτηρίων ποιότητας για τα μέταλλα Cu και Zn σε θαλάσσια ιζήματα σε σχέση με την τοξικολογική τους δράση.

Πίνακας 2.1: Κριτήρια Ποιότητας Ιζημάτων (Sediment Quality Guidelines_SQGs) (Long *et al.* 1995, MacDonald *et al.* 1996).

METΑΛΛΟ	ERL (mg Kg ⁻¹)	ERM (mg Kg ⁻¹)	TEL (mg Kg ⁻¹)	PEL (mg Kg ⁻¹)
Cu	34	270	18,7	108
Zn	150	410	124	271

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

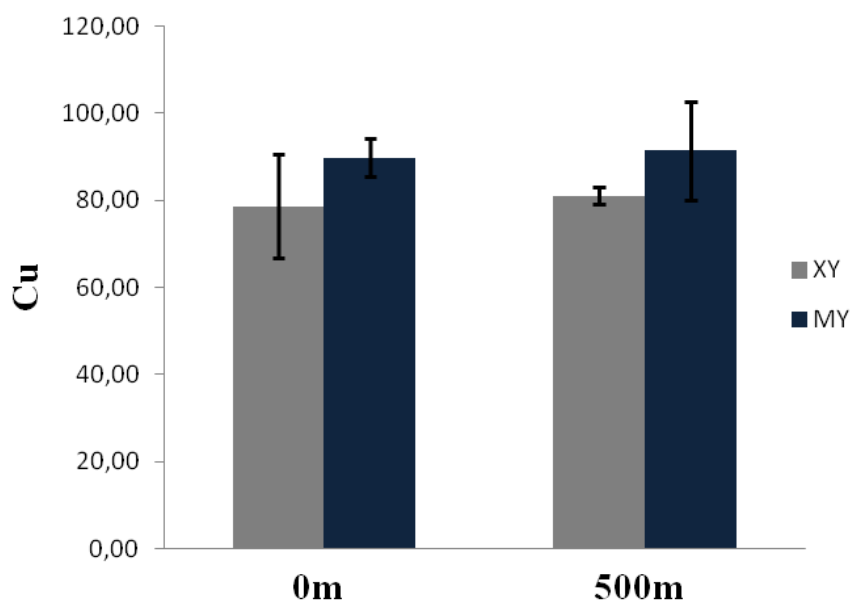
3.1 Δείγματα ιζήματος

3.1.1 Μέθοδος ολικής διαλυτοποίησης

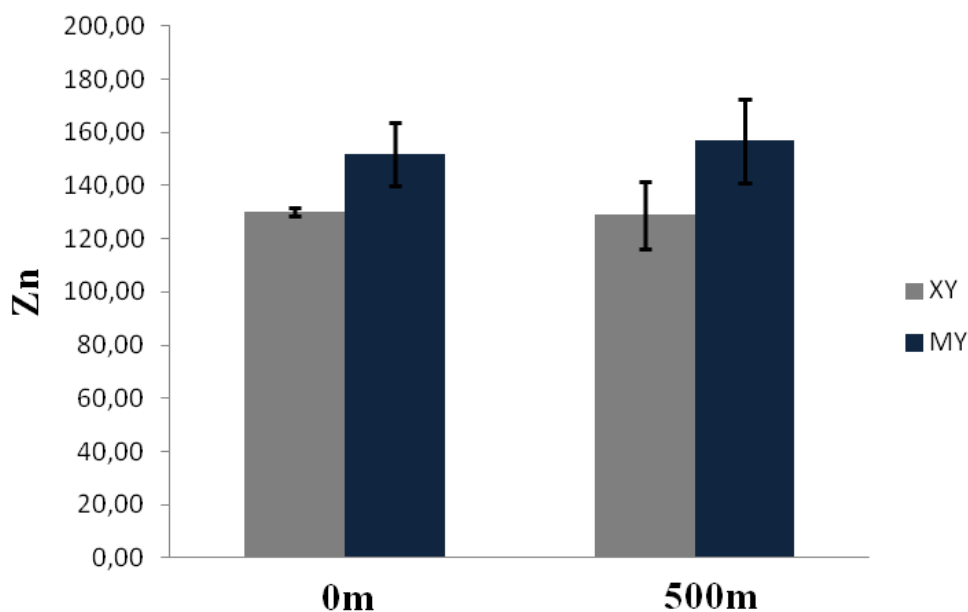
Στον Πίνακα 3.1 δίνεται το περιεχόμενο χαλκού και ψευδάργυρου στα ιζήματα των μονάδων που χρησιμοποιούν (Γ & Δ) ή όχι (Α & Β) υφαλοχρώματα με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης. Στα σχήματα 3.1 και 3.2 παρουσιάζεται αντίστοιχα το περιεχόμενο χαλκού και ψευδάργυρου στα δείγματα ιζήματος που ελήφθησαν στα 0 και στα 500 m από τους κλωβούς των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης. Στα δείγματα ιζήματος που συλλέχθηκαν ακριβώς κάτω από τους κλωβούς η μέση τιμή του περιεχόμενου χαλκού που προσδιορίστηκε κυμαίνεται από 78,70 (στις μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα) έως 89,80 (στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα), ενώ του περιεχόμενου ψευδάργυρου (Zn) κυμαίνεται από 130,15 έως 151,80 mg Kg⁻¹, αντίστοιχα. Στα δείγματα ιζήματος που συλλέχθηκαν σε απόσταση 500 μέτρων από τους κλωβούς η μέση τιμή του περιεχόμενου χαλκού που προσδιορίστηκε κυμαίνεται από 81,10 (στις μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα) έως 91,45 (στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα), ενώ του περιεχόμενου ψευδάργυρου (Zn) κυμαίνεται από 129,05 έως 156,80 mg Kg⁻¹, αντίστοιχα. Οι υψηλότερες τιμές σε όλα τα δείγματα παρατηρούνται στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα.

Πίνακας 3.1: Μέση τιμή, τυπική απόκλιση και εύρος διακύμανσης του περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου (σε mg Kg^{-1}) στα ιζήματα των δειγματοληπτικών σταθμών των μονάδων που χρησιμοποιούν (Γ και Δ) ή όχι (Α και Β) υφαλοχρώματα με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης.

ΜΟΝΑΔΑ	0m		500m	
	Cu	Zn	Cu	Zn
A&B	78,70±11,88 (70,30-87,10)	130,15±1,77 (128,90-131,40)	81,10±1,84 (79,80-82,40)	129,05±12,66 (120,10-138,00)
Γ&Δ	89,80±4,38 (86,7- 92,9)	151,80±11,88 (143,40-160,20)	91,45±11,24 (83,50-99,40)	156,80±15,56 (145,80-167,80)



Σχήμα 3.1: Διάγραμμα με το μέσο περιεχόμενο χαλκού και την τυπική απόκλιση (σε mg Kg^{-1}), στους δειγματοληπτικούς σταθμούς των μονάδων που χρησιμοποιούν (MY: Γ και Δ) ή όχι (XY: Α και Β) υφαλοχρώματα με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης.



Σχήμα 3.2: Διάγραμμα με το μέσο περιεχόμενο ψευδάργυρου και την τυπική απόκλιση (σε mg Kg⁻¹), στους δειγματοληπτικούς σταθμούς των μονάδων που χρησιμοποιούν (MY: Γ και Δ) ή όχι (XY: Α και Β) υφαλοχρώματα με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης.

Στον Πίνακα 3.2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one-way ANOVA), που εφαρμόστηκε για να ερευνηθούν οι διαφορές μεταξύ των ιζημάτων που πάρθηκαν ακριβώς κάτω από τους ιχθυοκλωβούς και αυτών που βρίσκονται σε απόσταση 500 m από τις μονάδες. Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά για τις μονάδες που χρησιμοποιούν (Γ και Δ) ή όχι (Α και Β) υφαλοχρώματα. Τα αποτελέσματα της σύγκρισης αυτής δείχνουν ότι δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές.

Στον Πίνακα 3.3 δίνονται τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας με τη μέθοδο της ανάλυσης διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one-way ANOVA), όπου συγκρίνονται τα περιεχόμενα χαλκού και ψευδάργυρου στα ιζήματα που πάρθηκαν ακριβώς κάτω από τους ιχθυοκλωβούς μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι

υφαλοχρώματα. Τα αποτελέσματα της σύγκρισης αυτής δεν αναδεικνύουν κάποια σημαντική στατιστική διαφορά.

Πίνακας 3.2: Ανάλυση διακύμανσης ως προς έναν παράγοντα (one-way ANOVA) για το περιεχόμενο χαλκού και ψευδάργυρου στα ιζήματα των 0 και των 500 m των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης.

Μονάδες	Cu			Zn	
	Βαθμοί ελευθερίας	Λόγος (F)	Πιθανότητα (p)	Λόγος (F)	Πιθανότητα (p)
Χωρίς υφαλοχρώματα (Α και Β)	11	0,080	0,804	0,015	0,914
Με υφαλοχρώματα (Γ και Δ)	11	0,037	0,865	0,131	0,752

Πίνακας 3.3: Ανάλυση διακύμανσης ως προς έναν παράγοντα (one-way ANOVA) για το περιεχόμενο χαλκού και ψευδάργυρου στα ιζήματα των μονάδων που χρησιμοποιούν (Γ και Δ) ή όχι (Α και Β) υφαλοχρώματα (Δειγματοληπτικοί σταθμοί 0 m), με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης.

Περιεχόμενο	Βαθμοί ελευθερίας	Λόγος (F)	Πιθανότητα (P)
Cu	11	1,537	0,341
Zn	11	6,499	0,126

3.1.2 Μέθοδος «0.5N HCl»

Στον Πίνακα 3.4 δίνονται οι προσδιοριζόμενες τιμές μετάλλων στα θαλάσσια ιζήματα των περιοχών έρευνας που αναλύθηκαν με τη μέθοδο του «0.5N HCl». Για το χαλκό (Cu) η μέση τιμή που προσδιορίστηκε στα δείγματα ιζήματος που πάρθηκαν κάτω από τους ιχθυοκλωβούς κυμαίνεται από 6,62 (στις μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα) έως 15,86 mg Kg⁻¹ (στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα), ενώ του ψευδάργυρου (Zn) κυμαίνεται από 9,48 έως 21,95 mg Kg⁻¹, αντίστοιχα. Οι υψηλότερες τιμές και για τα δυο μέταλλα παρατηρήθηκαν στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα (μονάδα Γ). Στα δείγματα που πάρθηκαν σε απόσταση 500 m από τις μονάδες, η μέση τιμή του χαλκού κυμαίνεται από 5,51 (στις μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα) έως 14,83 mg Kg⁻¹ (στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα), ενώ του ψευδάργυρου (Zn) κυμαίνεται από 8,58 έως 21,92 mg Kg⁻¹, αντίστοιχα. Σε όλα τα δείγματα ιζήματος παρατηρούμε ότι τα περιεχόμενα μέταλλα στο ίζημα είναι σχεδόν διπλάσια στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα σε σχέση με αυτές που δεν χρησιμοποιούν.

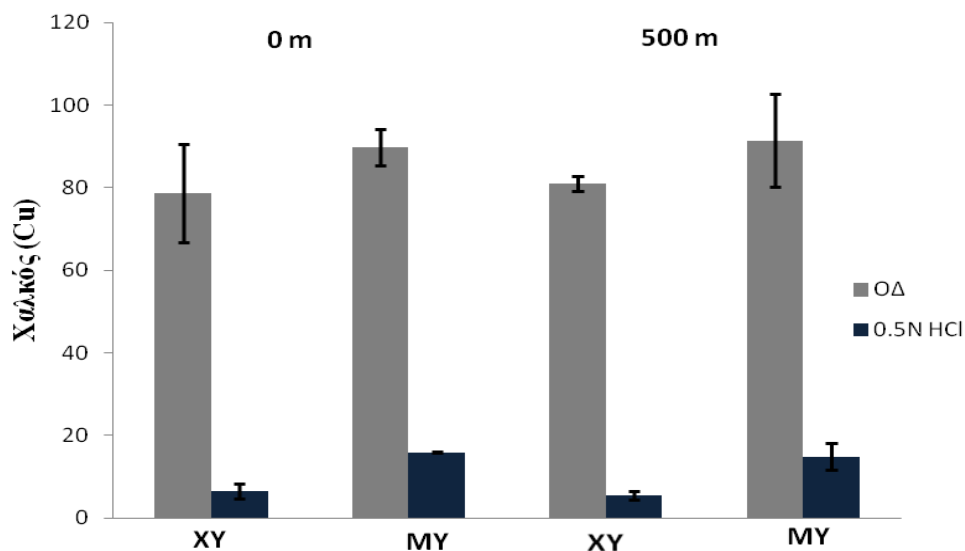
Πίνακας 3.4: Μέση τιμή, τυπική απόκλιση και εύρος διακύμανσης του περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου (σε mg Kg⁻¹) στα ιζήματα των δειγματοληπτικών σταθμών των μονάδων που χρησιμοποιούν (Γ και Δ) ή όχι (Α και Β) υφαλοχρώματα με τη μέθοδο του «0.5N HCl».

	0 m		500 m	
ΜΟΝΑΔΑ	Cu	Zn	Cu	Zn
A&B	6,62±1,78 (5,79-7,45)	9,48±1,10 (8,70-10,25)	5,51±0,94 (4,85-6,18)	8,58±1,31 (7,65-9,50)
Γ&Δ	15,86±0,12 (15,78-15,95)	21,95±4,03 (19,10-24,80)	14,83±3,22 (12,55-17,10)	21,92±0,55 (21,53-22,30)

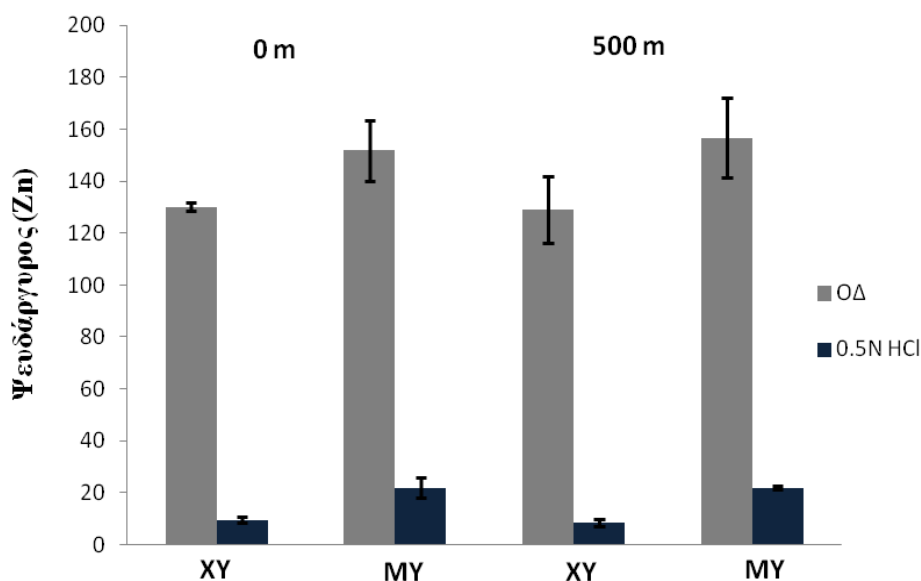
Στον Πίνακα 3.5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των χημικών αναλύσεων με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης και του «0.5N HCl» στα ιζήματα των τεσσάρων μονάδων καθώς και η μεταξύ τους αναλογία (%). Η αναλογία αυτή φαίνεται να είναι αυξημένη σε όλα τα δείγματα που συλλέχθηκαν από τις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα (Γ και Δ), σε σχέση με αυτά των μονάδων (Α και Β) που δεν χρησιμοποιούν (σχεδόν διπλάσια). Στα Σχήματα 3.3 και 3.4 φαίνεται το περιεχόμενο των βαρέων μετάλλων που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της μερικής διαλυτοποίησης και του «0.5N HCl» στα ιζήματα των τεσσάρων μονάδων.

Πίνακας 3.5: Μέσο περιεχόμενο βαρέων μετάλλων (σε mg Kg⁻¹) στους δειγματοληπτικούς σταθμούς των μονάδων που χρησιμοποιούν (Γ και Δ) ή όχι (Α και Β) υφαλοχρώματα, με τη μέθοδο του «0.5N HCl» και της ολικής διαλυτοποίησης καθώς και η μεταξύ τους αναλογία (%).

Στοιχεία	Διαλυτοποίηση	<u>Μονάδες</u>			
		<u>0m</u>		<u>500m</u>	
		A&B	Γ&Δ	A&B	Γ&Δ
Cu	0.5N HCl	6,62	15,86	5,51	14,83
	Ολική	78,70	89,80	81,10	91,45
	%	8,41	17,66	6,79	16,22
Zn	0.5N HCl	9,48	21,95	8,58	21,92
	Ολική	130,15	151,80	129,05	156,80
	%	7,28	14,46	6,65	13,98



Σχήμα 3.3: Διάγραμμα με το μέσο περιεχόμενο χαλκό και την τυπική απόκλιση (σε mg Kg^{-1}), στους δειγματοληπτικούς σταθμούς των μονάδων που χρησιμοποιούν (MY: Γ και Δ) ή όχι υφαλοχρώματα (XY: Α και Β) με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης και του «0.5N HCl».



Σχήμα 3.4: Διάγραμμα με το μέσο περιεχόμενο ψευδάργυρο και την τυπική απόκλιση (σε mg Kg^{-1}), στους δειγματοληπτικούς σταθμούς των μονάδων που χρησιμοποιούν (MY: Γ και Δ) ή όχι υφαλοχρώματα (XY: Α και Β) με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης και του «0.5N HCl».

Στον Πίνακα 3.6 παρατίθενται τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας με τη μέθοδο της ανάλυσης διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one-way ANOVA),

όπου συγκρίνονται τα περιεχόμενα χαλκού και ψευδάργυρου μεταξύ των ιζημάτων που πάρθηκαν από τα 0 και τα 500 m από τους ιχθυοκλωβούς, ξεχωριστά για τις μονάδες χρησιμοποιούν (Γ και Δ) ή όχι (Α και Β) υφαλοχρώματα με τη μέθοδο του «0.5N HCl». Τα αποτελέσματα της σύγκρισης αυτής δείχνουν ότι δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων.

Στον Πίνακα 3.7 δίνονται τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας με τη μέθοδο της ανάλυσης διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one-way ANOVA), όπου συγκρίνονται τα περιεχόμενα χαλκού και ψευδάργυρου στα ιζήματα που πάρθηκαν στα 0 m από τους ιχθυοκλωβούς, μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν (Γ και Δ) ή όχι (Α και Β) υφαλοχρώματα με τη μέθοδο του «0.5N HCl». Η μοναδική περίπτωση που δείχνει ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές είναι για το χαλκό.

Πίνακας 3.6: Ανάλυση διακύμανσης ως προς έναν παράγοντα (one-way ANOVA) για το περιεχόμενο του χαλκού και του ψευδάργυρου στα ιζήματα των 0 και των 500 m των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα με τη μέθοδο του «0.5N HCl».

Μονάδες	Cu			Zn	
	Βαθμοί ελευθερίας	Λόγος (F)	Πιθανότητα (p)	Λόγος (F)	Πιθανότητα (p)
Χωρίς υφαλοχρώματα (Α και Β)	11	1,079	0,408	0,556	0,534
Με υφαλοχρώματα (Γ και Δ)	11	0,209	0,693	0,000	0,991

Πίνακας 3.7: Ανάλυση διακύμανσης ως προς έναν παράγοντα (one-way ANOVA) για το περιεχόμενο του χαλκού και του ψευδάργυρου στα ιζήματα των 0 m των μονάδων που χρησιμοποιούν (Γ και Δ) ή όχι (Α και Β) υφαλοχρώματα με τη μέθοδο του «0.5N HCl».

Περιεχόμενο	Βαθμοί ελευθερίας	Λόγος (F)	Πιθανότητα (P)
Cu	11	121,976	0,008
Zn	11	17,841	0,052

3.2 Βιολογικά δείγματα

Τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά των ψαριών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα από τις τέσσερις μονάδες παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.8.

Πίνακας 3.8: Σωματομετρικά χαρακτηριστικά των ψαριών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα από τις τέσσερις μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας (Μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση και εύρος τιμών).

Είδος	Μονάδα	Αριθμός ατόμων	Ολικό μήκος (cm)	Μεσουραίο μήκος (cm)	Ολικό βάρος (g)
Τσιπούρα (<i>S. aurata</i>)	A	5	27,28 \pm 0,90 (26,10-28,40)	24,90 \pm 0,73 (23,90-25-70)	345,70 \pm 37,11 (297,10-394,00)
	B	5	28,12 \pm 1,01 (27,00-29,60)	25,60 \pm 0,97 (24,60-27,00)	388,30 \pm 39,50 (331,80-440,10)
	Γ	5	25,04 \pm 0,77 (24,10-25,90)	22,92 \pm 0,71 (22,10-23,70)	252,30 \pm 35,52 (219,60-299,30)
	Δ	5	28,48 \pm 0,93 (27,70-30,10)	26,26 \pm 0,95 (25,60-27,90)	403,10 \pm 47,02 (362,30-478,00)
Λαβράκι (<i>D. Labrax</i>)	A	5	34,00 \pm 1,31 (32,50-35,60)	32,04 \pm 1,21 (30,70-33,40)	463,30 \pm 48,25 (404,50-529,30)
	B	5	30,60 \pm 1,78 (28,50-32,60)	29,06 \pm 1,76 (27,00-30,90)	378,30 \pm 72,71 (294,70-462,80)
	Γ	5	33,56 \pm 1,71 (31,30-36,00)	31,80 \pm 1,54 (29,80-34,00)	492,90 \pm 71,54 (412,90-594,50)
	Δ	5	27,90 \pm 0,81 (26,80-28,80)	26,38 \pm 0,85 (25,20-27,30)	305,98 \pm 12,94 (287,00-320,00)

Το περιεχόμενο του χαλκού και του ψευδάργυρου στο μυϊκό ιστό, στο συκώτι και στα βράγχια των δειγμάτων της τσιπούρας παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.9 και στα Σχήματα 3.5 (χαλκός) και 3.6 (ψευδάργυρος).

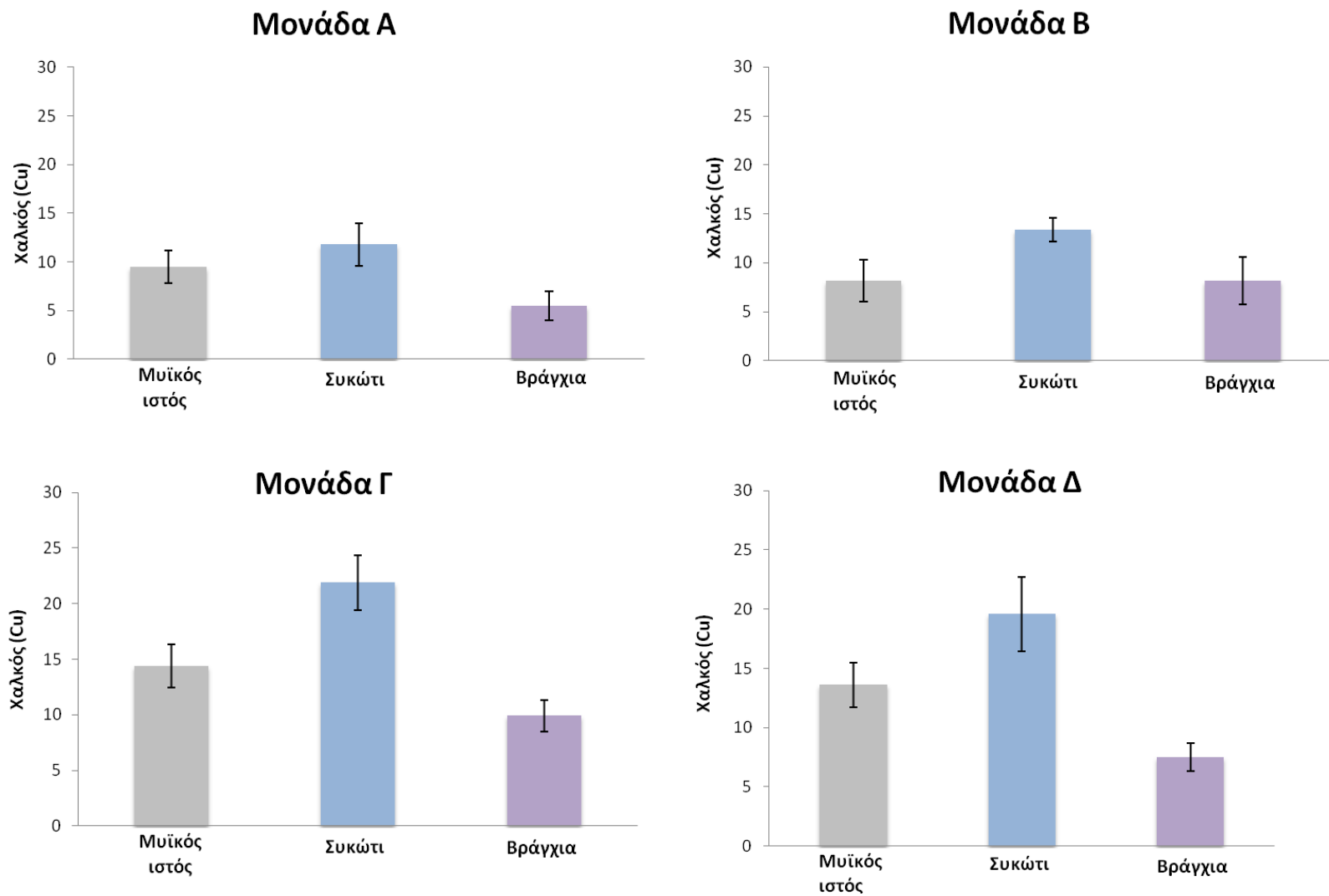
Όσον αφορά το μυϊκό ιστό, η μέση τιμή του χαλκού κυμαίνεται από 8,20 (μονάδα Β) έως 15,50 mg Kg⁻¹ (μονάδα Δ), στο συκώτι κυμαίνεται από 11,80 (μονάδα Α) έως 21,90 mg Kg⁻¹ (μονάδα Γ) και στα βράγχια από 5,50 (μονάδα Α) έως 9,90 mg Kg⁻¹ (μονάδα Γ).

Όσον αφορά τον ψευδάργυρο, η μέση τιμή του στο μυϊκό ιστό κυμαίνεται από 28,82 (μονάδα Α) έως 34,82 mg Kg⁻¹ (μονάδα Δ), στο συκώτι από 13,96 (μονάδα Β) έως 269,70 mg Kg⁻¹ (μονάδα Δ) και στα βράγχια από 28,83 (μονάδα Δ) έως 38,42 mg Kg⁻¹ (μονάδα Γ).

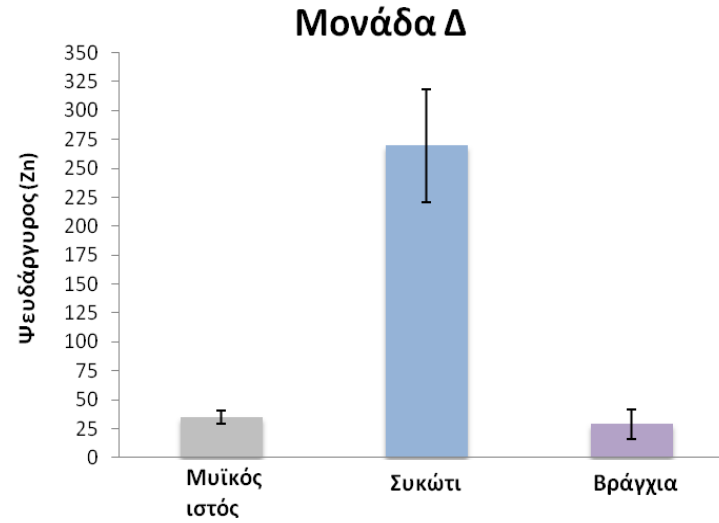
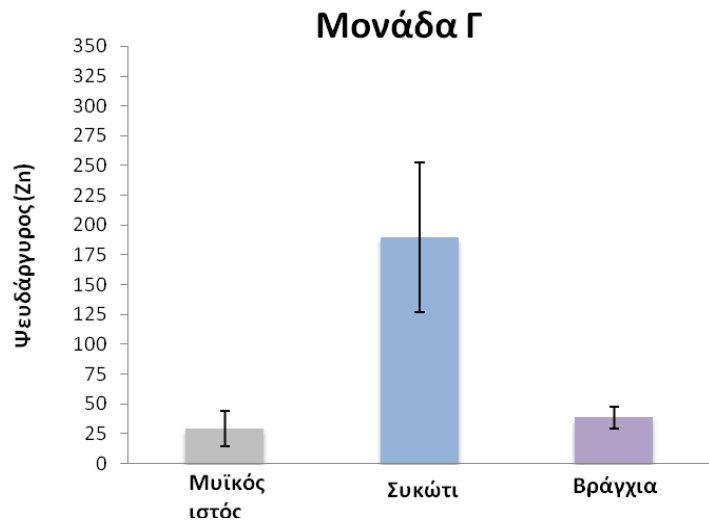
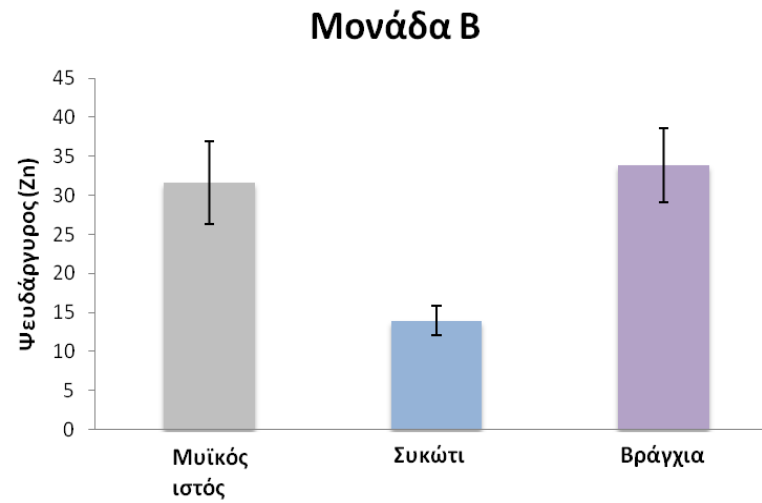
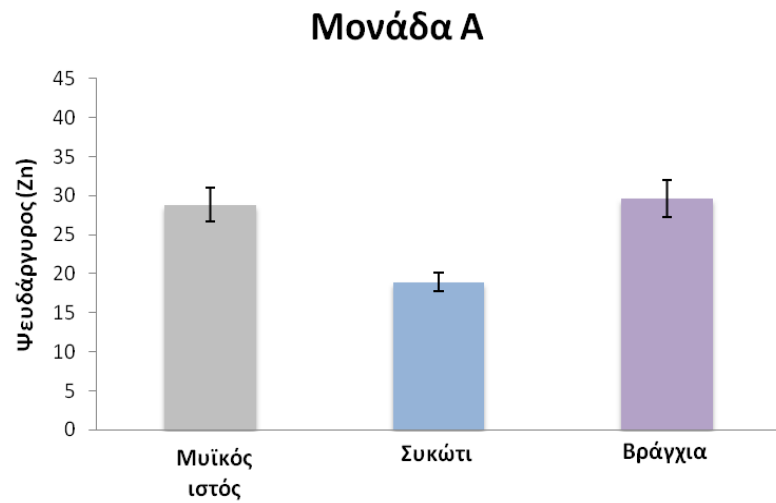
Οι υψηλότερες τιμές χαλκού σε όλες τις τσιπούρες καταγράφονται στο συκώτι, είτε πάρθηκαν από μονάδες που χρησιμοποιούν είτε από μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα, ενώ του ψευδάργυρου παρατηρούνται στα βράγχια για τα δείγματα που πάρθηκαν από μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα (Α και Β) και στο συκώτι για αυτά που πάρθηκαν από μονάδες που χρησιμοποιούν (Γ και Δ).

Πίνακας 3.9: Περιεχόμενος χαλκός και ψευδάργυρος στους ιστούς της τσιπούρας των τεσσάρων μονάδων δειγματοληψίας (Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση και εύρος τιμών) (όλες οι τιμές σε mg Kg⁻¹).

Περιεχόμενο μετάλλων				
Cu				
Μονάδα	Ολική	Μυϊκός ιστός	Συκώτι	Βράγχια
Α	8,93±3,17	9,50±1,70	11,80±2,20	5,50±1,46
	(3,50-14,00)	(8,00-12,00)	(8,50-14,00)	(3,50-7,50)
Β	9,93±3,13	8,20±2,14	13,40±1,20	8,20±2,41
	(5,50-15,00)	(5,50-11,00)	(12,00-15,00)	(6,00-12,00)
Γ	15,40±5,51	14,40±1,92	21,90±2,48	9,90±1,43
	(8,00-26,00)	(12,00-16,50)	(19,50-26,00)	(8,00-11,50)
Δ	13,57±5,10	13,60±1,89	19,60±3,13	7,50±1,17
	(5,50-23,00)	(10,50-15,50)	(15,50-23,00)	(5,50-8,50)
Zn				
Μονάδα	Ολική	Μυϊκός ιστός	Συκώτι	Βράγχια
Α	25,77±10,83	28,82±6,21	18,89±16,39	29,60±3,84
	(5,35-42,00)	(19,30-36,50)	(5,35-42,00)	(25,15-41,65)
Β	26,46±10,00	31,61±5,31	13,96±1,85	33,82±4,74
	(11,40-41,20)	(24,90-39,75)	(11,40-15,50)	(29,20-41,20)
Γ	85,67±83,77	28,89±14,67	189,7±62,50	38,42±9,33
	(5,50-252,6)	(5,45-42,25)	(108,50-252,60)	(28,45-49,20)
Δ	111,10±119,21	34,82±6,04	269,7±48,70	28,83±12,99
	(7,20-333,2)	(29,20-41,30)	(201,20-333,20)	(7,20-41,65)



Σχήμα 3.5: Περιεχόμενος χαλκός (Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση) στους ιστούς της τσιπούρας στις τέσσερις μονάδες δειγματοληψίας.



Σχήμα 3.6: Περιεχόμενος ψευδάργυρος (Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση) στους ιστούς της τσιπούρας στις τέσσερις μονάδες δειγματοληψίας.

Το περιεχόμενο χαλκού και ψευδάργυρου στο μυϊκό ιστό, το συκώτι και τα βράγχια του λαβρακιού παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.10 και στα Σχήματα 3.7 και 3.8.

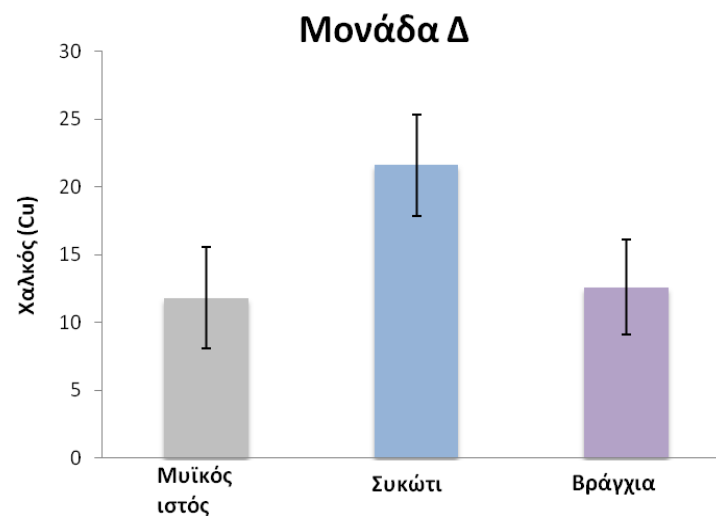
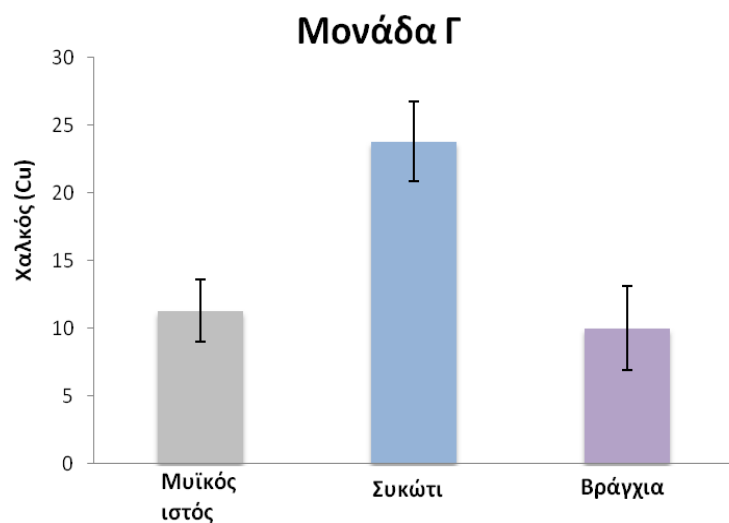
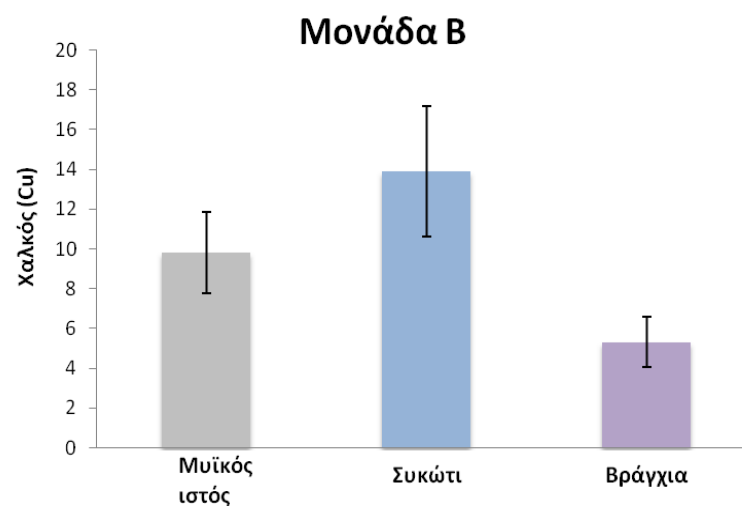
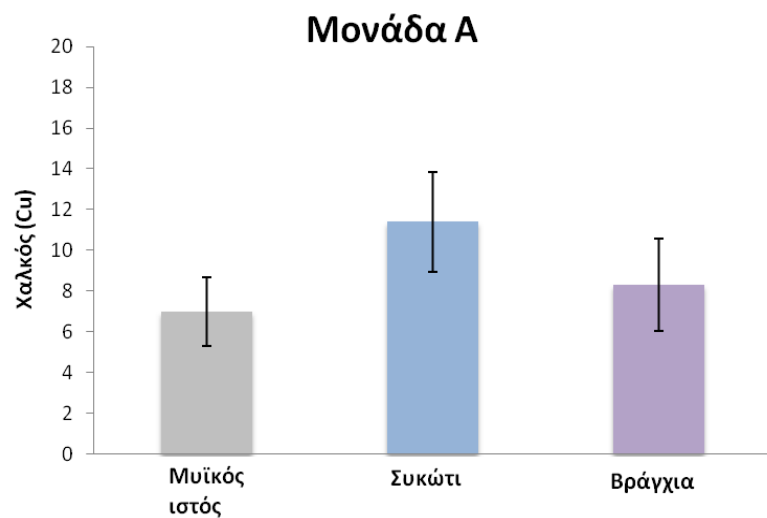
Όσον αφορά το μυϊκό ιστό, η μέση τιμή του χαλκού κυμαίνεται από 7,00 (μονάδα Α) έως 11,80 mg Kg⁻¹ (μονάδα Δ), στο συκώτι από 11,40 (μονάδα Α) έως 23,80 mg Kg⁻¹ (μονάδα Γ) και στα βράγχια από 5,30 (μονάδα Β) έως 12,60 mg Kg⁻¹ (μονάδα Δ).

Όσον αφορά τον ψευδάργυρο η μέση τιμή του στο μυϊκό ιστό κυμαίνεται από 24,91 (μονάδα Α) έως 38,62 mg Kg⁻¹ (μονάδα Δ), στο συκώτι από 15,03 (μονάδα Α) έως 338,63 mg Kg⁻¹ (μονάδα Γ) και στα βράγχια από 12,02 (μονάδα Β) έως 30,21 mg Kg⁻¹ (μονάδας Α).

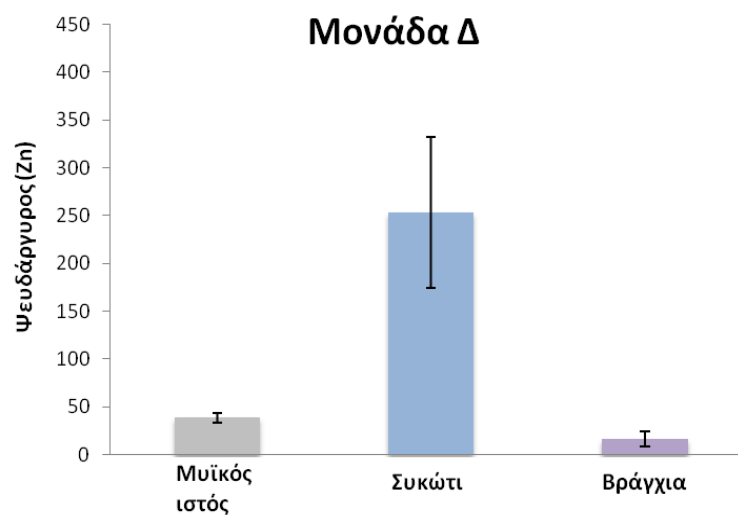
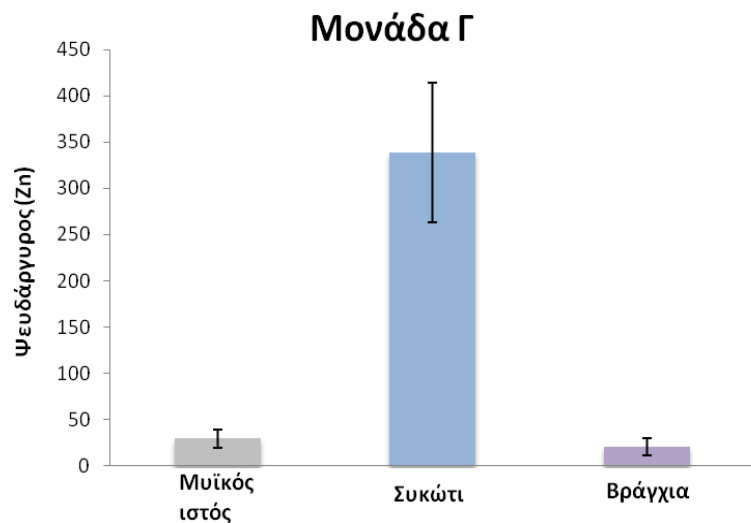
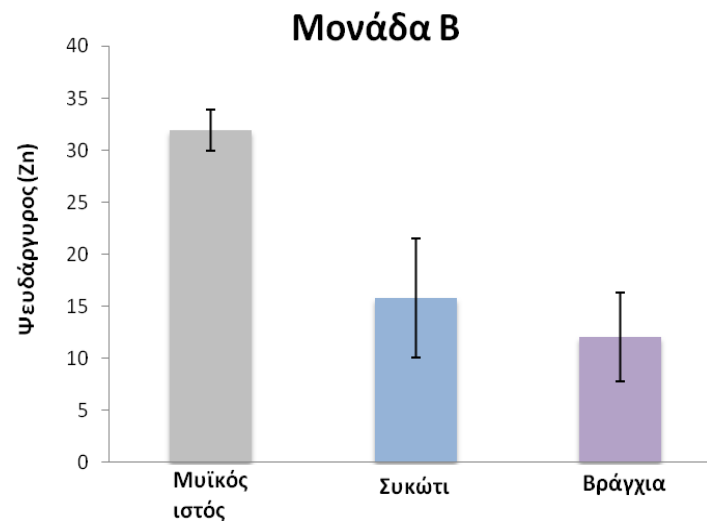
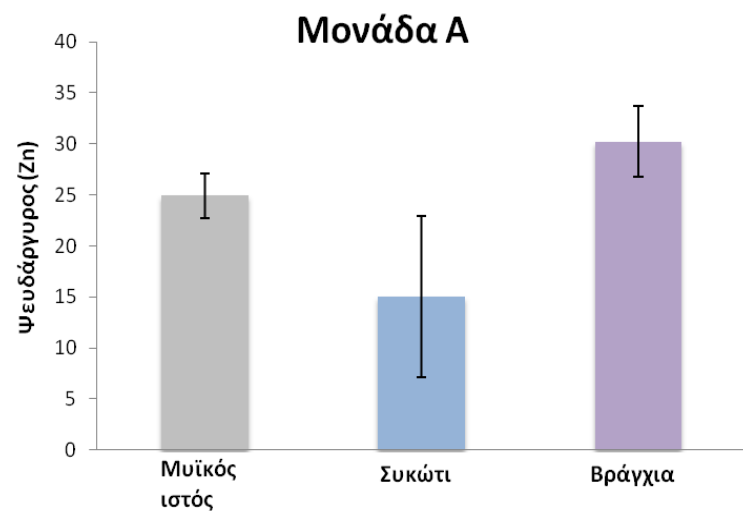
Οι υψηλότερες τιμές χαλκού σε όλα τα άτομα καταγράφονται στο συκώτι, είτε πάρθηκαν από μονάδες που χρησιμοποιούν είτε από μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα, ενώ του ψευδάργυρου παρατηρούνται στα βράγχια (μονάδα Α) και στο μυϊκό ιστό (μονάδα Β) για τα δείγματα που πάρθηκαν από μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα και στο συκώτι για τα δείγματα που πάρθηκαν από μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα.

Πίνακας 3.10: Περιεχόμενος χαλκός και ψευδάργυρος στους ιστούς του λαβρακιού των τεσσάρων μονάδων δειγματοληψίας (Μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση και εύρος τιμών) (όλες οι τιμές σε mg Kg^{-1}).

Περιεχόμενο μετάλλων				
Cu				
Μονάδα	Ολική	Μυϊκός ιστός	Συκώτι	Βράγχια
A	8,9 \pm 2,77	7,00 \pm 1,70	11,40 \pm 2,46	8,30 \pm 2,25
	(5,00-14,50)	(5,00-9,50)	(8,50-14,50)	(5,00-10,50)
B	9,67 \pm 4,23	9,80 \pm 2,05	13,90 \pm 3,27	5,30 \pm 1,26
	(3,50-18,00)	(6,50-12,00)	(9,50-18,00)	(3,50-6,50)
Γ	15,03 \pm 6,94	11,30 \pm 2,31	23,80 \pm 2,93	10,00 \pm 3,10
	(6,00-28,50)	(8,00-13,50)	(21,00-28,50)	(6,00-13,50)
Δ	15,33 \pm 5,72	11,80 \pm 3,75	21,60 \pm 3,75	12,60 \pm 3,53
	(7,00-28,00)	(7,00-16,00)	(18,50-28,00)	(9,00-18,00)
Zn				
Μονάδα	Ολική	Μυϊκός ιστός	Συκώτι	Βράγχια
A	23,38 \pm 8,08	24,91 \pm 2,21	15,03 \pm 7,95	30,21 \pm 3,49
	(10,70-34,95)	(22,35-27,85)	(10,70-29,15)	(25,60-34,95)
B	19,93 \pm 9,78	31,96 \pm 1,98	15,80 \pm 5,70	12,02 \pm 4,27
	(7,90-34,05)	(29,70-34,05)	(7,90-20,00)	(8,80-19,30)
Γ	129,34 \pm 158,58	29,36 \pm 9,72	338,63 \pm 75,20	20,02 \pm 9,23
	(12,10-435,30)	(13,20-37,30)	(265,10-435,30)	(12,05-33,45)
Δ	102,70 \pm 118,36	38,62 \pm 5,55	253,02 \pm 79,14	16,46 \pm 7,62
	(7,00-340,10)	(33,10-47,50)	(138,30-340,10)	(6,95-24,30)



Σχήμα 3.9: Περιεχόμενος χαλκός (Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση) στους ιστούς του λαβρακιού στις τέσσερις μονάδες δειγματοληψίας.



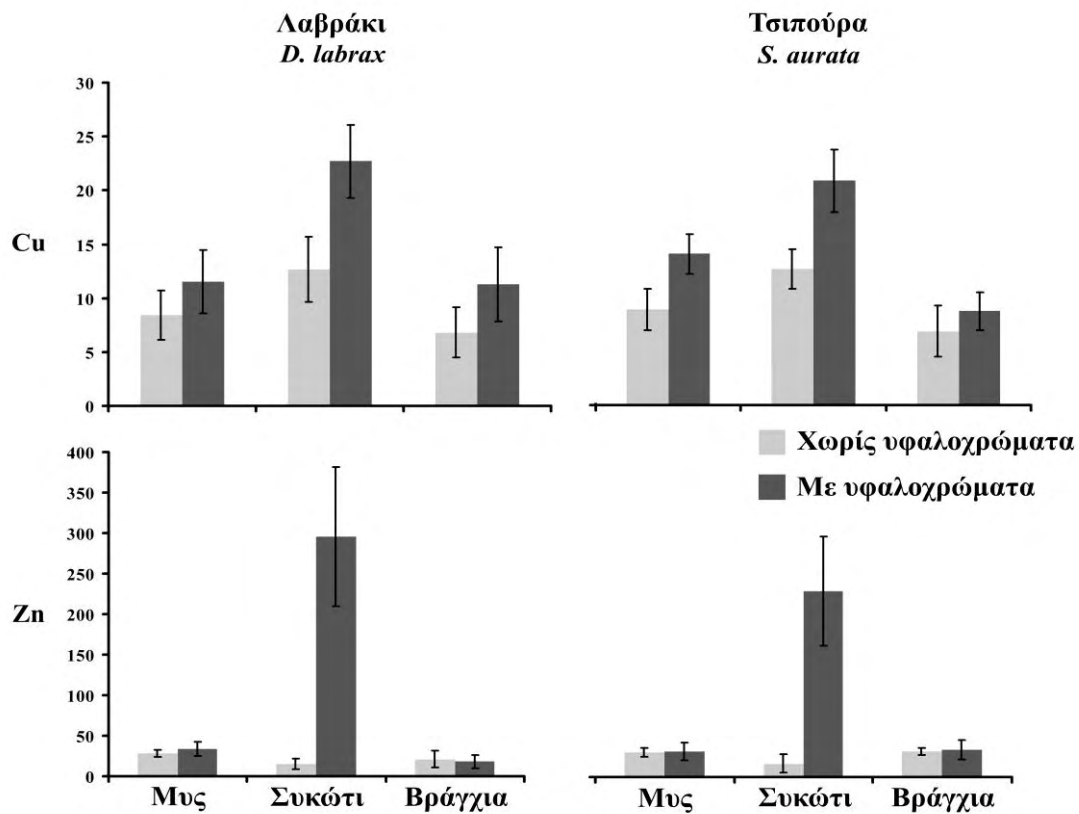
Σχήμα 3.10: Περιεχόμενος ψευδάργυρος (Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση) στους ιστούς του λαβρακιού στις τέσσερις μονάδες δειγματοληψίας.

Στον Πίνακα 3.11 δίνεται το περιεχόμενο χαλκού και ψευδάργυρου στους ιστούς των εκτρεφόμενων οργανισμών των μονάδων που χρησιμοποιούν (Γ και Δ) ή όχι (Α & Β) υφαλοχρώματα.

Πίνακας 3.11: Περιεχόμενο χαλκού και ψευδάργυρου στους ιστούς των εκτρεφόμενων οργανισμών των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα (Μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) (όλες οι τιμές σε mg Kg⁻¹).

Είδος	Ιστός	Χωρίς υφαλοχρώματα (Α και Β)		Με υφαλοχρώματα (Γ και Δ)	
		Cu	Zn	Cu	Zn
Τσιπούρα	Μυϊκός ιστός	8,85 \pm 1,95	30,22 \pm 5,64	14,00 \pm 1,84	31,86 \pm 11,03
	Συκώτι	12,60 \pm 1,87	16,42 \pm 11,30	20,75 \pm 2,93	229,68 \pm 67,60
	Βράγχια	6,85 \pm 2,36	31,71 \pm 4,64	8,70 \pm 1,77	33,63 \pm 11,8
Λαβράκι	Μυϊκός ιστός	8,40 \pm 2,31	28,44 \pm 4,21	11,55 \pm 2,95	33,99 \pm 8,92
	Συκώτι	12,65 \pm 3,03	15,41 \pm 6,53	22,70 \pm 3,38	295,83 \pm 85,64
	Βράγχια	6,80 \pm 2,34	21,16 \pm 10,27	11,30 \pm 3,42	18,24 \pm 8,20

Στο Σχήμα 3.11 φαίνεται ο περιεχόμενος χαλκός και ψευδάργυρος στους ιστούς των δυο ειδών που μελετήθηκαν στις μονάδες που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα. Είναι εμφανές ότι το υψηλότερο περιεχόμενο και για τα δυο μέταλλα παρατηρείται στο συκώτι τόσο στην τσιπούρα όσο και στο λαβράκι, ανεξαρτήτως εάν πάρθηκαν από μονάδες που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα. Επίσης, όσον αφορά τον περιεχόμενο ψευδάργυρο, στο συκώτι παρατηρούνται πολύ υψηλότερες ή / και πολλαπλάσιες τιμές στα ψάρια που προέρχονται από μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα σε σχέση με αυτά των μονάδων που δεν χρησιμοποιούν, σε αντίθεση με το χαλκό όπου δεν παρατηρείται κάτι αντίστοιχο.



Σχήμα 3.11: Περιεχόμενος χαλκός και ψευδάργυρος στους ιστούς της τσιπούρας και του λαβρακιού για τις μονάδες που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).

Στον Πίνακα 3.12 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης προς δυο παράγοντες (Two-way ANOVA) που εφαρμόστηκε για να ερευνηθεί η πιθανή επίδραση των υφαλοχρωμάτων στους ιστούς των δειγμάτων.

Πίνακας 3.12: Ανάλυση διακύμανσης διπλής κατεύθυνσης (two-way ANOVA) για την έρευνα της επίδρασης των υφαλοχρωμάτων στο περιεχόμενο μετάλλων στους ιστούς των μελετούμενων ψαριών.

	Βαθμοί ελευθερίας	Λόγος (F)	Πιθανότητα (P)
<u>Τσιπούρα</u>		Cu	
Υφαλοχρώματα	59	82,24	0,000
Ιστοί	59	86,06	0,000
Αλληλεπίδραση	59	10,67	0,000
		Zn	
Υφαλοχρώματα	59	93,80	0,000
Ιστοί	59	66,40	0,000
Αλληλεπίδραση	59	89,24	0,000
<u>Λαβράκι</u>		Cu	
Υφαλοχρώματα	59	60,58	0,000
Ιστοί	59	52,03	0,000
Αλληλεπίδραση	59	7,76	0,001
		Zn	
Υφαλοχρώματα	59	104,80	0,000
Ιστοί	59	89,16	0,000
Αλληλεπίδραση	59	101,91	0,000

Από τον παραπάνω πίνακα και για τα δυο μέταλλα, προκύπτει ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ των υφαλοχρωμάτων και των ιστών είναι στατιστικώς σημαντική και για τα δύο ερευνούμενα είδη.

Στον Πίνακα 3.13 δίνονται τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας με τη μέθοδο της ανάλυσης διακύμανσης κατά έναν παράγοντα (one-way ANOVA) όπου

συγκρίνονται τα περιεχόμενα χαλκού και ψευδάργυρου στους τρεις ιστούς της τσιπούρας και του λαβρακιού μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα. Η στατιστική επεξεργασία του περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου έδειξε κατά βάση ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ιστών των ειδών από μονάδες που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα. Για τον περιεχόμενο χαλκό έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε όλους τους ιστούς εκτός από τα βράγχια της τσιπούρας, ενώ για τον περιεχόμενο ψευδάργυρο παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές μόνο στο συκώτι των ειδών. Στον Πίνακα 3.14 δίνονται τα αποτελέσματα του Tukey test, όπου εκεί φαίνεται που οφείλονται οι διαφορές που εντοπίζουμε με την ανάλυση διακύμανσης προς δύο παράγοντες.

Πίνακας 3.13: Ανάλυση διακύμανσης ως προς έναν παράγοντα (one-way ANOVA) του περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου στους ιστούς των δυο ερευνηόμενων ειδών μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα.

Είδος	Ιστός	Cu			Zn	
		Βαθμοί ελευθερίας	Λόγος (F)	Πιθανότητα (p)	Λόγος (F)	Πιθανότητα (p)
Τσιπούρα (<i>S. aurata</i>)	Μυϊκός ιστός	19	36,99	0,000	0,18	0,680
	Συκώτι	19	55,08	0,000	96,82	0,000
	Βράγχια	19	3,94	0,063	0,23	0,639
Λαβράκι (<i>D. labrax</i>)	Μυϊκός ιστός	19	7,08	0,016	3,17	0,092
	Συκώτι	19	49,10	0,000	106,58	0,000
	Βράγχια	19	11,82	0,003	0,48	0,498

Πίνακας 3.14: Πολλαπλές παραμετρικές συσχετίσεις κατά τη δοκιμασία Tukey μεταξύ των μονάδων για κάθε μέταλλο.

Μέταλλο	Μονάδα		<i>S. aurata</i>	<i>D. labrax</i>
			Πιθανότητα (p)	Πιθανότητα (p)
Cu	A	B	0,928	0,977
		Γ	0,001	0,010
		Δ	0,031	0,006
	B	Γ	0,008	0,030
		Δ	0,129	0,020
	Γ	Δ	0,677	0,999
Zn	A	B	1,000	1,000
		Γ	0,125	0,025
		Δ	0,12	0,138
	B	Γ	0,132	0,019
		Δ	0,013	0,113
	Γ	Δ	0,777	0,882

Οι συσχετίσεις κατά τη δοκιμασία Tukey του περιεχόμενου χαλκού στην τσιπούρα των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα έδειξαν ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μονάδων, εκτός από τη συσχέτιση της μονάδας B (χωρίς υφαλοχρώματα) και της μονάδας Δ (με υφαλοχρώματα), ενώ για το λαβράκι έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα. Όσον αφορά τον περιεχόμενο ψευδάργυρο στη τσιπούρα φαίνεται ότι δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα εκτός από τις μονάδες B (χωρίς υφαλοχρώματα) και Δ (με υφαλοχρώματα) που έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικώς

σημαντικές διαφορές, ενώ για το λαβράκι έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μονάδων Α, Δ και Β, Γ.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Δείγματα ιζήματος

4.1.1 Μέθοδος ολικής διαλυτοποίησης

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των χημικών αναλύσεων με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης στα ιζήματα των τεσσάρων μονάδων, παρατηρούμε ότι το υψηλότερο περιεχόμενο χαλκού και ψευδάργυρου είναι στα ιζήματα των μονάδων Γ και Δ οι οποίες χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα ενώ οι χαμηλότερες τιμές και για τα δυο στοιχεία παρατηρούνται στα ιζήματα των μονάδων Α και Β που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα.

Παρατηρούμε ότι τα περιεχόμενα μέταλλα στα ιζήματα που πάρθηκαν στα 0 και στα 500 m κυμαίνονται περίπου στα ίδια επίπεδα. Επιπροσθέτως, σε κάποια δείγματα τα περιεχόμενα μέταλλα είναι υψηλότερα στα δείγματα που πάρθηκαν στα 500 m από τους ιχθυοκλωβούς σε σχέση με αυτά των 0 m. Σε άλλες έρευνες αναφέρεται ότι ο περιεχόμενος ψευδάργυρος μειώνεται όσο αυξάνεται η απόσταση από τους ιχθυοκλωβούς (Brooks & Mahnken 2003, Smith *et al.* 2005, Kalantzi *et al.* 2013) σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας όπου ο ψευδάργυρος κυμαίνεται περίπου στα ίδια επίπεδα στα ιζήματα των 0 και των 500 m.

Η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ιζημάτων που πάρθηκαν στα 0 και στα 500 m για τις μονάδες που χρησιμοποιούν και αυτές που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα. Συμπερασματικά οι σταθμοί δειγματοληψίας φαίνεται ότι δεν επηρεάζονται από τις ιχθυοκαλλιεργητικές μονάδες.

Στον Πίνακα 4.1 παρουσιάζονται ο αριθμός και τα ποσοστά των δειγμάτων της κάθε μονάδας που υπερβαίνουν τα όρια των κριτηρίων ποιότητας για το χαλκό και τον ψευδάργυρο σε σχέση με την τοξικολογική τους δράση κατά Long *et al.* (1995) και McDonald *et al.* (1996). Στον Πίνακα 4.2 γίνεται σύγκριση των περιεχόμενων βαρέων μετάλλων που βρέθηκαν στα ιζήματα των μονάδων που ερευνήσαμε σε σχέση με αυτά άλλων μονάδων που βρέθηκαν στην βιβλιογραφική ανασκόπηση.

Συγκρίνοντας τις τιμές του χαλκού στα ιζήματα των τεσσάρων μονάδων (δειγματοληπτικοί σταθμοί 0 m) με τα κριτήρια ποιότητας ιζημάτων (Sediment Quality Guidelines- SQGs) ERM-ERL (Long *et al.* 1995) και PEL-TEL (McDonald *et al.* 1996) διαπιστώνουμε τα εξής:

- Όλα τα δείγματα ιζήματος στο σύνολο τους (12 δείγματα) παρουσιάζουν περιεχόμενο χαμηλότερο του κριτηρίου ERM και μεγαλύτερο του κριτηρίου ERL. Τα θαλάσσια ιζήματα κρίνονται ως μέτρια ρυπασμένα καθώς οι τιμές των περιεχομένων υπερβαίνουν μόνο την τιμή του κριτηρίου ERL.
- Όλα τα δείγματα ιζήματος στο σύνολο τους (12 δείγματα) παρουσιάζουν περιεχόμενο μικρότερο του κριτηρίου PEL και υψηλότερο του κριτηρίου TEL. Τα θαλάσσια ιζήματα των τεσσάρων μονάδων κρίνονται ως μέτρια ρυπασμένα καθώς οι τιμές των περιεχομένων υπερβαίνουν μόνο τις τιμές του κριτηρίου TEL.

Πίνακας 4.1: Σύγκριση του περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου που βρέθηκε στα ιζήματα κάτω από τους ιχθυοκλωβούς των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα με τα κριτήρια ποιότητας ιζημάτων ERM, ERL, PEL και TEL.

Μέταλλα	Μονάδα	ΜΟ±ΓΑ Ελάχισ.-Μέγ.	ERM	ERL	PEL	TEL	Αριθμός δειγμάτων> ERM	% Δείγματα >ERM	Αριθμός δειγμάτων> ERL	% Δείγματα >ERL	Αριθμός δειγμάτων> PEL	% Δείγματα PEL	Αριθμός δειγμάτων> TEL	% Δείγματα >TEL
Cu	A&B	78,70±11,88 70,30-87,1	270	34	108	18,7	0	0	6	100	0	0	6	100
	Γ&Δ	89,80±4,38 86,70-92,9					0	0	6	100	0	0	6	100
Zn	A&B	130,15±1,77 128,90-131,4	410	150	271	124	0	0	0	0	0	0	6	100
	Γ&Δ	151,80±11,88 143,40-160,20					0	0	3	50	0	0	6	100

Πίνακας 4.2: Συγκριτικός πίνακας περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου σε ιζήματα μονάδων υδατοκαλλιέργειας.

Περιοχή	Στοιχεία		Βιβλιογραφική αναφορά
	Cu	Zn	
1. Αιγαίο και Ιόνιο Ελλάδα	12-178	46-262	Kalantzi <i>et al.</i> 2013
2. Αστακός, Ιόνιο	31,70-66,90	104-679	Belias <i>et al.</i> 2003
3. Σκωτία	805	921	Dean <i>et al.</i> 2006
4. *Σκωτία	23,4	72,5	Jones & Turner 2010
5. Καναδάς	54	258	Chou <i>et al.</i> 2002
6. Καναδάς	12,01 *48,24	233-444	Brooks & Mahnken 2003
7. Νορβηγία	21 *49- 430	-	Sølberg <i>et al.</i> 2002
8. Αιγαίο και Ιόνιο Ελλάδα	70,30-87,1 (A & B) * 86,70-92,90 (Γ & Δ)	128,90-131,40 (A & B) * 143,40-160,20 (Γ & Δ)	Παρούσα έρευνα

(*Ιζήματα από μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα, *Ιζήματα επιβαρυμένα με βαρέα μέταλλα από υφαλοχρώματα πλοίων)

Οι Long *et al.* (1995), προτείνουν τη χρήση των οριακών τιμών ERM και PEL σε σχέση με τις τιμές ERL και TEL για την ασφαλή πρόβλεψη της τοξικής δράσης των μετάλλων στα θαλάσσια ιζήματα. Όταν το περιεχόμενο των μετάλλων είναι ίσο ή μεγαλύτερο από τη τιμή ERL και μικρότερο από τη τιμή ERM τότε υπάρχει ένα εύρος πιθανών επιπτώσεων εντός του οποίου οι επιδράσεις των μετάλλων θα εμφανίζονται περιστασιακά.

Από τη σύγκριση του περιεχόμενου χαλκού στα ιζήματα των τεσσάρων μονάδων με αντίστοιχες μονάδες της Ελλάδος, οι οποίες δεν προσδιορίζουν αν χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα, διαπιστώνουμε ότι το περιεχόμενό του βρίσκεται σε υψηλότερα επίπεδα από τα περισσότερα δείγματα μονάδων του Αιγαίου και του Ιόνιου (Kalantzi *et al.* 2013) και από τα δείγματα μονάδας που βρίσκεται στον Αστακό (Belias *et al.* 2003). Σε σύγκριση με αντίστοιχα ιζήματα άλλων περιοχών, οι τιμές του χαλκού είναι υψηλότερες, εκτός από τα ιζήματα μονάδων της Σκωτίας (Dean *et al.* 2006) όπου οι τιμές του χαλκού είναι πολλαπλάσιες σε σχέση με την παρούσα έρευνα. Σε σύγκριση με αντίστοιχες έρευνες σε μονάδες που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα, οι τιμές του χαλκού είναι υψηλότερες σε σχέση με μονάδες του Καναδά (Chou *et al.* 2002, Brooks & Mahnken 2003) και της Νορβηγίας (Sølberg *et al.* 2002) που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα και χαμηλότερες σε σχέση με μονάδες της Νορβηγίας (Sølberg *et al.* 2002) που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα.

Τέλος, σύμφωνα με την περιβαλλοντική νομοθεσία EPA (WAC 173-204-420 και WAC 173-204-520), η ανώτατη αποδεκτή τιμή χαλκού σε επιφανειακά θαλάσσια ιζήματα για να ληφθούν άμεσα μέτρα αποκατάστασης ορίζονται τα 390 mg Kg^{-1} . Σε κανένα από τα ιζήματα των μονάδων δεν προσδιορίστηκαν τιμές μεγαλύτερες της ανώτατης αποδεκτής ώστε να απαιτείται η λήψη μέτρων αποκατάστασης.

Εφαρμόζοντας τα κριτήρια ποιότητας ιζημάτων (Sediment Quality Guidelines-SQGs) ERM- ERL (Long *et al.* 1995) και PEL-TEL (McDonald *et al.* 1996) για τον περιεχόμενο ψευδάργυρο στα ιζήματα των τεσσάρων μονάδων (δειγματοληπτικοί σταθμοί 0 m) διαπιστώνουμε τα εξής:

- Όλα τα δείγματα ιζήματος στο σύνολο τους (12 δείγματα) παρουσιάζουν περιεχόμενο χαμηλότερο του κριτηρίου ERM και του κριτηρίου PEL.
- Τα δείγματα ιζήματος των μονάδων Α και Β (6 δείγματα) που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα, παρουσιάζουν τιμές μικρότερες του κριτηρίου ERL. Τα ιζήματα κρίνονται ως μη ρυπασμένα και δεν αναμένονται τοξικές επιδράσεις στους βενθικούς οργανισμούς.
- Τα 3 από τα 6 δείγματα ιζήματος των μονάδων Γ και Δ, παρουσιάζουν τιμές χαμηλότερες του κριτηρίου ERM και υψηλότερες του κριτηρίου ERL. Τα 3 από τα 6 δείγματα ιζήματος των μονάδων Γ και Δ κρίνονται ως μέτρια ρυπασμένα καθώς οι τιμές των περιεχομένων υπερβαίνουν μόνο την τιμή του κριτηρίου ERL, ενώ τα υπόλοιπα 3 δείγματα παρουσιάζουν τιμές μικρότερες του κριτηρίου ERL. Συνεπώς κρίνονται ως μη ρυπασμένα και δεν αναμένονται τοξικές επιδράσεις στους βενθικούς οργανισμούς.
- Όλα τα δείγματα ιζήματος των μονάδων παρουσιάζουν τιμές μεγαλύτερες του κριτηρίου TEL. Τα ιζήματα κρίνονται ως μέτρια ρυπασμένα.

Από τη σύγκριση του περιεχόμενου ψευδάργυρου στα ιζήματα των τεσσάρων μονάδων με αντίστοιχες μονάδες της Ελλάδος, οι οποίες δεν προσδιορίζουν αν χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα, διαπιστώνουμε ότι το περιεχόμενό του βρίσκεται σε υψηλότερα επίπεδα από τα περισσότερα δείγματα μονάδων του Αιγαίου και του

Ιόνιου (Kalantzi *et al.* 2013) και σε χαμηλότερα από τα περισσότερα δείγματα μονάδας που βρίσκεται στον Αστακό (Belias *et al.* 2003). Σε σύγκριση με αντίστοιχα ιζήματα άλλων περιοχών (Chou *et al.* 2002, Brooks & Mahnken 2003, Dean *et al.* 2006), που δεν προσδιορίζουν αν ο περιεχόμενος ψευδάργυρος οφείλεται ή όχι στα υφαλοχρώματα, οι τιμές του ψευδάργυρου είναι χαμηλότερες εκτός από αυτές που βρέθηκαν σε ιζήματα μονάδων της Σκωτίας (Jones & Turner 2010).

Τέλος, σύμφωνα με την περιβαλλοντική νομοθεσία κατά EPA (WAC 173-204-420 και WAC 173-204-520) η ανώτατη αποδεκτή τιμή για τον ψευδάργυρο σε επιφανειακά θαλάσσια ιζήματα για να ληφθούν άμεσα μέτρα αποκατάστασης ορίζονται τα 960 mg Kg⁻¹. Στις μονάδες που ερευνήθηκαν όλα τα δείγματα παρουσιάζουν τιμές πολύ χαμηλότερες της ανώτατης αποδεκτής τιμής και δεν απαιτείται η λήψη μέτρων αποκατάστασης.

Η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) που πραγματοποιήθηκε για τη σύγκριση του περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου στα ιζήματα έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα. Αυτό ίσως να οφείλεται στο μικρό ποσοστό ανθρωπογενούς επίδρασης στο περιεχόμενο των βαρέων μετάλλων (Cu & Zn) στα ιζήματα των τεσσάρων μονάδων. Αρκετές έρευνες έχουν αναφέρει αυξημένα επίπεδα χαλκού και ψευδάργυρου σε ιζήματα ιχθυοκαλλιεργειών (Brooks & Mahnken 2003, Hop *et al.* 2002, Millward *et al.* 2001, Schendel *et al.* 2004, Smith *et al.* 2005). Αυτές οι έρευνες υποδηλώνουν ότι οι αυξημένες τιμές χαλκού και ψευδάργυρου μπορεί να οφείλονται στις ιχθυοτροφές και στα οργανικά υπολείμματα.

4.1.2 Συσχέτιση ολικής διαλυτοποίησης και «0.5N HCl»

Τα αναλυτικά δεδομένα της μεθόδου «0.5N HCl» για τα μέταλλα Cu και Zn συγκρίθηκαν με τα αντίστοιχα δεδομένα της μεθόδου ολικής διαλυτοποίησης. Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του ποσοστού επί τοις εκατό (%) των μετάλλων που κατανέμονται στα θαλάσσια ιζήματα των τεσσάρων μονάδων υδατοκαλλιέργειας σε περιβαλλοντικά «ενεργές» θέσεις. Το ποσοστό αυτό αναφέρεται σε χαμηλότερα ενεργειακές θέσεις των μετάλλων στο ίζημα, δεσμευμένα σε θέσεις ιοντοανταλλαγής (προσροφημένα) και συνδεδεμένα σε διάφορες φάσεις.

Από τον Πίνακα (3.5) διαπιστώνουμε ότι:

- Το ποσοστό βιοδιαθεσιμότητας του χαλκού (Cu) στα ιζήματα των μονάδων που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα είναι 8,41%, ενώ στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα το ποσοστό βιοδιαθεσιμότητάς του είναι 17,66%.
- Το ποσοστό βιοδιαθεσιμότητας του ψευδάργυρου (Zn) στα ιζήματα των μονάδων που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα είναι 7,28%, ενώ στα ιζήματα των μονάδων που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα το ποσοστό βιοδιαθεσιμότητάς του είναι 14,46%.

Η σειρά βιοδιαθεσιμότητας των αναλυθέντων χημικών στοιχείων και στις τέσσερις μονάδες είναι η εξής: Cu > Zn. Αυτό θα μπορούσε εν μέρει να οφείλεται στις ιχθυοτροφές (Belias *et al.* 2003).

Παρατηρούμε ότι σε όλες τις μονάδες ανεξαρτήτως αν χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα τα ποσοστά βιοδιαθεσιμότητας του χαλκού είναι υψηλότερα από αυτά του ψευδάργυρου. Η ποσότητα αυτή των στοιχείων είναι δεσμευμένη στα ιζήματα με

τρόπο που επιτρέπει την απελευθέρωση τους στο υδάτινο περιβάλλον ή τους οργανισμούς όταν δημιουργηθούν οι κατάλληλες συνθήκες (BurrIDGE *et al.* 2010). Στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα παρατηρούνται υψηλότερα ποσοστά βιοδιαθεσιμότητας (σχεδόν τριπλάσια), τόσο για το χαλκό όσο και για τον ψευδάργυρο σε σχέση με τις μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα. Οπότε στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα η ποσότητα που θα απελευθερωθεί αν δημιουργηθούν οι κατάλληλες συνθήκες θα είναι σχεδόν τριπλάσια από ότι στις μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα. Τα μέταλλα που βρίσκονται δεσμευμένα στα ιζήματα των μονάδων που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα μπορεί να είναι αποτέλεσμα περίσσειας τροφής και προϊόντων μεταβολισμού (Brooks & Mahnken 2003).

Η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) που πραγματοποιήθηκε για τη σύγκριση του περιεχόμενου χαλκού στα ιζήματα με τη μέθοδο του «0.5N HCl» έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα, ενώ για τον περιεχόμενο ψευδάργυρο έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Αυτό μπορεί εν μέρει να οφείλεται στο ότι τα υφαλοχρώματα μπορεί να περιέχουν έως και 40% χαλκό (Braithwaite & McEvoy 2005), καθώς είναι το κύριο συστατικό των υφαλοχρωμάτων, ενώ ο ψευδάργυρος χρησιμοποιείται σε πολύ μικρότερες ποσότητες (Watermann *et al.* 2005).

4.2 Βιολογικά δείγματα

Οι χαμηλότερες τιμές του χαλκού στο μυϊκό ιστό της τσιπούρας παρατηρούνται στην μονάδα Β που δεν χρησιμοποιεί υφαλοχρώματα και οι υψηλότερες στη μονάδα Δ που χρησιμοποιεί υφαλοχρώματα, ενώ για το λαβράκι οι χαμηλότερες τιμές παρατηρούνται στα δείγματα της μονάδας Α που δεν χρησιμοποιεί υφαλοχρώματα και οι υψηλότερες στη μονάδα Δ που χρησιμοποιεί υφαλοχρώματα. Η χαμηλότερη τιμή του περιεχόμενου χαλκού παρουσιάζεται στο μυϊκό ιστό των δειγμάτων που πάρθηκαν από μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα, κάτι που συμφωνεί με τη βιβλιογραφία (Børufsen *et al.* 2002, Cotou *et al.* 2013).

Οι χαμηλότερες τιμές του ψευδαργύρου στο μυϊκό ιστό των δυο μελετούμενων ειδών παρατηρούνται στην μονάδα Α που δεν χρησιμοποιεί υφαλοχρώματα και οι υψηλότερες στη μονάδα Δ που χρησιμοποιεί υφαλοχρώματα. Το χαμηλότερο περιεχόμενο ψευδάργυρου παρουσιάζεται στο μυϊκό ιστό των δειγμάτων που πάρθηκαν από μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα. Σε έρευνες που αφορούν τα υφαλοχρώματα οι ερευνητές μελετούν τον περιεχόμενο χαλκό. Όσον αφορά τον ψευδάργυρο, ως συστατικό των υφαλοχρωμάτων που μπορεί να προκαλέσει δυσμενείς επιδράσεις, υπάρχει έλλειψη δεδομένων (Karlsson & Eklund 2004, Yebra *et al.* 2004, Karlsson *et al.* 2006, 2010).

Η κατανομή του χαλκού στους ιστούς των δειγμάτων της τσιπούρας σε όλες τις μονάδες έχει την ακόλουθη σειρά: Συκώτι > Μυϊκός ιστός > Βράγχια, ενώ στους ιστούς του λαβρακιού έχει την ακόλουθη σειρά: Συκώτι > Μυϊκός ιστός > Βράγχια (μονάδες Β και Γ) και Συκώτι > Βράγχια > Μυϊκός ιστός (μονάδες Α και Δ). Σε όλα τα δείγματα και των δυο ειδών οι υψηλότερες τιμές του περιεχόμενου χαλκού παρατηρούνται στο συκώτι. Στις μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα οι υψηλότερες τιμές για

τον ψευδάργυρο παρουσιάζονται στα βράγχια εκτός από τα δείγματα λαβρακιού της μονάδας Β. Στα δείγματα και των δυο ειδών που πάρθηκαν από μονάδες οι οποίες χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα οι υψηλότερες τιμές του περιεχόμενου ψευδάργυρου παρατηρούνται στο συκώτι και είναι κατά πολύ μεγαλύτερες σε σχέση με αυτές που βρέθηκαν στα δείγματα των μονάδων που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα. Το συκώτι των ψαριών σε σχέση με οποιοδήποτε άλλο όργανο συνίσταται συχνά ως δείκτης ρύπανσης, λόγω της τάσης του να συσσωρεύει ρύπους όπως βαρέα μέταλλα (Galindo *et al.* 1986, Deviller *et al.* 2005). Οι Coban *et al.* (2009), αναφέρουν ότι η πρόσληψη μετάλλων στα ψάρια μέσω της τροφής αποτελεί την σημαντικότερη αιτία συσσώρευσης αρχικά στο συκώτι και έπειτα στο μυϊκό ιστό. Οι διαφορετικές τιμές των περιεχόμενων μετάλλων στους ιστούς μπορεί να είναι αποτέλεσμα της ικανότητας τους να δεσμεύουν τα μέταλλα μέσω πρωτεϊνών όπως η μεταλλοθειονίνη. Η μεγαλύτερη ποσότητα της πρωτεΐνης αυτής εμφανίζεται στο συκώτι (Canli & Atli 2003). Η προσρόφιση των μετάλλων από την επιφάνεια των βραγχίων θα μπορούσε να επηρεάσει ή/και να αυξήσει τα συνολικά επίπεδα χαλκού (Heath 1987, Canli & Furness 1993a, 1993b, Roesijadi 1992).

Η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στο περιεχόμενο χαλκό σε όλα τα δείγματα ιστών των δυο μελετούμενων ειδών μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα εκτός από τον περιεχόμενο χαλκό στα βράγχια της τσιπούρας. Οι στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μονάδων πρέπει να οφείλεται στη χρήση των υφαλοχρωμάτων. Τα δείγματα των μονάδων που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές όσον αφορά το χαλκό. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας υποδηλώνουν ότι ο χαλκός ως συστατικό των υφαλοχρωμάτων

μπορεί να επηρεάσει τους εκτρεφόμενους οργανισμούς, συμφωνώντας και με άλλους ερευνητές που έχουν δημοσιεύσει ανάλογες εργασίες σχετικές με την επίδραση των υφαλοχρωμάτων (Anderson *et al.* 1995, Belias *et al.* 2001, BurrIDGE & Zitko 2002, Singh & Turner 2008, Cotou *et al.* 2013).

Η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στον περιεχόμενο ψευδάργυρο στο συκώτι των δυο μελετούμενων ειδών μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα. Οι στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μονάδων πρέπει να οφείλεται στη χρήση των υφαλοχρωμάτων. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας υποδηλώνουν ότι ο ψευδάργυρος ως συστατικό των υφαλοχρωμάτων μπορεί να επηρεάσει σημαντικά το βαθμό συσσώρευσης του στο συκώτι των εκτρεφόμενων οργανισμών.

Η ανάλυση διακύμανσης κατά δυο παράγοντες (two-way ANOVA) έδειξε ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ των υφαλοχρωμάτων και των ιστών είναι στατιστικώς σημαντική και για τα δυο ερευνούμενα είδη. Η χρήση των υφαλοχρωμάτων στις μονάδες υδατοκαλλιέργειας φαίνεται ότι επηρεάζει ξεκάθαρα το περιεχόμενο των βαρέων μετάλλων στους οργανισμούς, γεγονός που συμφωνεί και με τη διεθνή βιβλιογραφία (Fernandes *et al.* 2008). Επίσης, και για τα δύο μέταλλα παρατηρούμε ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στο συκώτι και των δυο ειδών ενώ εκεί παρατηρούνται και οι υψηλότερες τιμές κάτι που συμφωνεί και με τη βιβλιογραφία (Schuhmacher *et al.* 1992, Farkas *et al.* 2000, Dugo *et al.* 2006, Coban *et al.* 2009).

Στον Πίνακα 4.3 δίνονται πληροφορίες από τη βιβλιογραφία αναφορικά με το περιεχόμενο χαλκού και ψευδάργυρου σε εκτρεφόμενα είδη από μονάδες υδατοκαλλιέργειας που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα, από πειραματικές έρευνες και από έρευνες που δεν αναφέρεται αν το περιεχόμενο των μετάλλων οφείλεται ή όχι στα υφαλοχρώματα. Στον ίδιο Πίνακα παρουσιάζονται και οι συγκεντρώσεις του χαλκού και του ψευδάργυρου των δειγμάτων των μονάδων που ερευνήσαμε ανάλογα με το αν χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα.

Τα περιεχόμενα βαρέα μέταλλα στο μυϊκό ιστό των ψαριών της παρούσας έρευνας είναι υψηλότερα σε σχέση με αυτά που βρέθηκαν από τους Castritsi-Catharios *et al.* (2013) σε εκτρεφόμενα ψάρια από ελληνικές ιχθυοκαλλιεργητικές μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα και από τους Coton *et al.* (2013) σε εκτρεφόμενα ψάρια της Ελλάδος τα οποία είχαν εκτεθεί σε υφαλοχρώματα (πειραματική έρευνα). Στην παρούσα εργασία, ο περιεχόμενος χαλκός στο μυϊκό ιστό της τσιπούρας και του λαβρακιού βρίσκεται σε υψηλότερο επίπεδο σε σχέση με αυτό που βρέθηκε σε σολομό που εκτρέφεται σε μονάδες της Νορβηγίας (Børufsen *et al.* 2002), όπως επίσης και σε σχέση με αυτόν που βρέθηκε στα ίδια είδη εκτροφής από άλλους ερευνητές (Canli & Atli 2003, Deviller *et al.* 2005, Coban *et al.* 2009, Ferreira *et al.* 2010, Minganti *et al.* 2010, Trocino *et al.* 2012, Kalantzi *et al.* 2013) χωρίς όμως να διευκρινίζεται η χρήση ή μη υφαλοχρωμάτων. Παρόμοια, ο περιεχόμενος ψευδάργυρος στο μυϊκό ιστό των δειγμάτων που ερευνήθηκαν βρίσκεται σε υψηλότερο επίπεδο από αυτό που βρέθηκε στα ίδια εκτρεφόμενα είδη σε διαφορετικές περιοχές (Canli & Atli 2003, Deviller *et al.* 2005, Coban *et al.* 2009, Minganti *et al.* 2010, Trocino *et al.* 2012, Kalantzi *et al.* 2013).

Πίνακας 4.3: Συγκριτικός πίνακας περιεχόμενου χαλκού και ψευδάργυρου σε εκτρεφόμενους οργανισμούς.

Περιοχή	Είδος	Μέταλλο	Ιστός			Βιβλιογραφική αναφορά
			Μυς	Συκώτι	Βράγχια	
1. Ελλάδα	<i>S. aurata</i>	Cu	* 0,36	* 0,84	* 0,64	Castritsi-Catharios <i>et al.</i> 2013
		Zn	* 2,12	* 13,04	* 23,97	
	<i>D. labrax</i>	Cu	* 0,86	* 0,87	* 10,46	
		Zn	* 8,40	* 25,19	* 22,71	
	<i>D. puntazzo</i>	Cu	* 0,38	* 4,69	* 1,67	
		Zn	* 10,58	* 8,23	* 22,12	
2. Ελλάδα	<i>D. labrax</i>	Cu	1,32 * 1,55	114,97 * 117,09	-	Cotou <i>et al.</i> 2013
3. Νορβηγία	<i>S. salar</i>	Cu	1,90 * 1,91-2,65	662 * 590-1200	-	Børufsen <i>et al.</i> 2002
4. Ελλάδα	<i>S. aurata</i>	Cu	bdl	1,07-2,07	bdl	Kalantzi <i>et al.</i> 2013
		Zn	4,29-7,02	18,77-23,33	17,68-18,38	
	<i>D. labrax</i>	Cu	bdl	116,00-224,97	bdl	
		Zn	bdl- 6,51	34,31-54,01	19,96-20,64	

(bdl: Τιμή χαμηλότερη από τα όρια ανίχνευσης, * Δείγματα από μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα)

Περιοχή	Είδος	Μέταλλο	Ιστός			Βιβλιογραφική αναφορά
			Μυς	Συκώτι	Βράγχια	
5. Τουρκία	<i>D. labrax</i>	Cu	3,00	2.029	5,00	Coban <i>et al.</i> 2009
		Zn	0,5-7,2	25,00	20,00	
6. Τουρκία	<i>S. aurata</i>	Cu	2,84	33,37	5,02	Canli & Atli 2003
		Zn	26,66	76,47	63,1	
7. Ιταλία	<i>S. aurata</i>	Cu	0,80-2,00	-	-	Minganti <i>et al.</i> 2010
		Zn	10,70-21,00	-	-	
8. Ιταλία	<i>D. labrax</i>	Cu	1,07	-	-	Trocino <i>et al.</i> 2012
		Zn	4,66	-	-	
9. Γαλλία	<i>D. labrax</i>	Cu	0,75-0,98	233-237	-	Deviller <i>et al.</i> 2005
		Zn	13,50-20,00	84,30-85,00	-	
10. Πορτογαλία	<i>D. labrax</i>	Cu	1,82-2,14	30,90-1157,5	-	Ferreira <i>et al.</i> 2010

(bdl: Τιμή χαμηλότερη από τα όρια ανίχνευσης, * Δείγματα από μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα)

Περιοχή	Είδος	Μέταλλο	Ιστός			Βιβλιογραφική αναφορά
			Μυς	Συκώτι	Βράγχια	
11. Αιγαίο και Ιόνιο Ελλάδα	<i>S. aurata</i>	Cu	A κ B: 5,50-12,00	A κ B: 8,50-15,00	A κ B: 3,50-12,00	Παρούσα έρευνα
			Γ κ Δ*: 10,50-16,50	Γ κ Δ*: 15,50-26,00	Γ κ Δ*: 5,50-11,50	
	Zn	A κ B: 19,30-39,75	A κ B: 5,35-42,00	A κ B: 25,15-41,65		
		Γ κ Δ*: 5,45-42,25	Γ κ Δ*: 108,50-333,20	Γ κ Δ*: 7,20-49,20		
<i>D. labrax</i>	Cu	A κ B: 5,00-12,00	A κ Δ: 8,50-18,00	A κ B: 3,50-10,50		
		Γ κ Δ*: 7,00-16,00	Γ κ Δ*: 18,50-28,50	Γ κ Δ*: 6,00-18,00		
Zn	A κ B: 22,35-34,05	A κ B: 7,90-29,15	A κ B: 8,80-34,95			
	Γ κ Δ*: 13,20-47,50	Γ κ Δ*: 138,30-435,30	Γ κ Δ*: 6,95-33,45			

(bdl: Τιμή χαμηλότερη από τα όρια ανίχνευσης, * Δείγματα από μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα)

Ο περιεχόμενος χαλκός και ψευδάργυρος στο συκώτι των ειδών είναι υψηλότερος στα είδη της παρούσας έρευνας σε σύγκριση με αυτό που βρέθηκε σε εκτρεφόμενα ψάρια από ελληνικές ιχθυοκαλλιέργειες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα (Castritsi-Catharios *et al.* 2013). Ο περιεχόμενος χαλκός είναι πολύ χαμηλότερος σε σύγκριση με αυτό που βρέθηκε σε εκτρεφόμενα ψάρια της Ελλάδος τα οποία είχαν εκτεθεί σε υφαλοχρώματα στα πλαίσια πειραματικής έρευνας (Cotou *et al.* 2013). Επίσης, ο περιεχόμενος χαλκός στο συκώτι σολομού από ιχθυοκαλλιεργητικές μονάδες της Νορβηγίας (Børufsen *et al.* 2002) που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα είναι πολλαπλάσιος σε σχέση με αυτό που βρέθηκε στην παρούσα έρευνα. Αντίθετα, ο περιεχόμενος χαλκός και ψευδάργυρος στα δείγματα συκωτιού των ψαριών στις μονάδες που ερευνήθηκαν στη παρούσα έρευνα (ανεξάρτητα με το αν χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα) είναι πολύ υψηλότερος σε σχέση με αυτό που αναφέρεται σε άλλες μονάδες εκτροφής της Ελλάδος (δεν αναφέρεται αν χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα) (Kalantzi *et al.* 2013). Συγκριτικά με δείγματα συκωτιού από μονάδες εκτροφής άλλων χωρών (Τουρκία, Γαλλία, Πορτογαλία), που δεν αναφέρεται αν χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα ο περιεχόμενος χαλκός στα δείγματα της παρούσας εργασίας, που πάρθηκαν από μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα είναι χαμηλότερος (Canli & Atli 2003, Deviller *et al.* 2005, Coban *et al.* 2009, Ferreira *et al.* 2010), ενώ ο περιεχόμενος ψευδάργυρος είναι υψηλότερος σε σχέση με δείγματα μονάδων εκτροφής από άλλες χώρες, ανεξαρτήτως εάν προέρχονται από μονάδες που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα (Canli & Atli 2003, Deviller *et al.* 2005, Coban *et al.* 2009).

Τέλος, όσον αφορά τον περιεχόμενο χαλκό στα βράγχια, τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας είναι υψηλότερα από αυτά των μονάδων της Ελλάδος (Castritsi-

Catharios *et al.* 2013, Kalantzi *et al.* 2013) και της Τουρκίας (Canli & Atli 2003, Deviller *et al.* 2005, Coban *et al.* 2009), ενώ όσον αφορά τον περιεχόμενο ψευδάργυρο είναι υψηλότερα από αυτά μονάδων της Ελλάδος (Castritsi-Catharios *et al.* 2013, Kalantzi *et al.* 2013) και χαμηλότερα συγκριτικά με δείγματα μονάδων της Τουρκίας (Canli & Atli 2003, Coban *et al.* 2009).

Από το συγκριτικό πίνακα βλέπουμε ότι στις έρευνες που έχουν γίνει για τα υφαλοχρώματα, ερευνούν κυρίως το περιεχόμενο του χαλκού στο μυϊκό ιστό και στο συκώτι. Όπως προαναφέρθηκε και στην εισαγωγή, υπάρχει έλλειψη δεδομένων όσον αφορά τον ψευδάργυρο (Karlsson & Eklund 2004, Yebra *et al.* 2004, Karlsson *et al.* 2006, Karlsson *et al.* 2010).

Ο περιεχόμενος χαλκός στο μυϊκό ιστό των δειγμάτων της παρούσας έρευνας είναι υψηλότερος σε σύγκριση με αυτόν άλλων ερευνών. Πολλές έρευνες έχουν δείξει υψηλά περιεχόμενα μετάλλων σε ιστούς εκτρεφόμενων ψαριών σε σύγκριση με άγρια ψάρια κάτι που οφείλεται κυρίως στη διατροφή και σε φυσικούς παράγοντες του περιβάλλοντος (π.χ. γεωυπόστρωμα) (Orban *et al.* 2002, Monti *et al.* 2005, Yildiz 2008, Fuentes *et al.* 2010, Minganti *et al.* 2010, Kalantzi *et al.* 2013). Συμπερασματικά, τα υψηλά περιεχόμενα μετάλλων στα είδη και των τεσσάρων μονάδων μπορεί να οφείλονται σε αυτούς τους παράγοντες.

Στην παρούσα έρευνα, ο περιεχόμενος χαλκός και ψευδάργυρος στα δείγματα μυϊκού ιστού και των τεσσάρων μονάδων δειγματοληψίας είναι σε κάθε περίπτωση χαμηλότερος από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια (εκτός από τα αποδεκτά όρια του χαλκού που υπάρχουν στην Αυστραλία), που υποδεικνύουν οι διεθνείς οδηγίες σε σχέση με την καταλληλότητα για ανθρώπινη κατανάλωση.

Τα ανώτατα όρια των τιμών αυτών είναι:

- Cu: 30 mg Kg⁻¹ (FAO 1983)
- Cu: 20 mg Kg⁻¹ Τουρκία και Ισπανία (Usero *et al.* 2003)
- Cu: 100 mg Kg⁻¹ Zn: 100 mg Kg⁻¹ (Canadian Food Standards)
(<http://www.hc-sc.gc.ca>)
- Cu: 60 mg Kg⁻¹ Zn: 80 mg Kg⁻¹ (Hungarian standards) (Papagianis *et al.* 2004)
- Cu: 10 mg Kg⁻¹ Zn: 150 mg Kg⁻¹ (αποδεκτά όρια της Αυστραλίας)
(Papagianis *et al.* 2004)

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα κυριότερα συμπεράσματα που προκύπτουν από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας είναι τα ακόλουθα.

Όσον αφορά τα ιζήματα:

1. Σύμφωνα με τη μέση τιμή του περιεχόμενου των μετάλλων με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης, η σειρά σχετικής αφθονίας του χαλκού και του ψευδάργυρου στα ιζήματα των μονάδων είναι η ακόλουθη: Γ και Δ > Α και Β. Οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρούνται στα ιζήματα των μονάδων Γ και Δ, οι οποίες χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα.
2. Σύμφωνα με τη μέση τιμή του περιεχόμενου των μετάλλων με τη μέθοδο του «0.5N HCl», η σειρά σχετικής αφθονίας για τον χαλκό και τον ψευδάργυρο στα ιζήματα των μονάδων είναι η ακόλουθη: Γ και Δ > Α και Β. Και σε αυτή την περίπτωση οι μεγαλύτερες τιμές (διπλάσιες ή τριπλάσιες) εμφανίζονται στις μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα.
3. Σύμφωνα με το προσδιοριζόμενο περιεχόμενο των χημικών στοιχείων με τη μέθοδο της ολικής διαλυτοποίησης, τα ιζήματα των μονάδων που ερευνήθηκαν ταξινομούνται στις παρακάτω κατηγορίες:
 - Σύμφωνα με τα κριτήρια ERM-ERL και PEL-TEL, τα ιζήματα των τεσσάρων μονάδων εκτροφής χαρακτηρίζονται ως μέτρια ρυπασμένα ως προς το χαλκό και αναμένεται να εμφανιστούν, σπάνια ή περιστασιακά δυσμενείς επιδράσεις στους βενθικούς οργανισμούς.
 - Σύμφωνα με τα κριτήρια ERM και ERL τα ιζήματα των μονάδων Α και Β και τα 3 από τα 6 δείγματα των μονάδων Γ και Δ κρίνονται μη

ρυπασμένα ως προς τον ψευδάργυρο και δεν αναμένεται η εμφάνιση δυσμενών επιδράσεων στους βενθικούς οργανισμούς, ενώ τα υπόλοιπα 3 δείγματα ιζήματος των μονάδων Γ και Δ κρίνονται μέτρια ρυπασμένα ως προς τον ψευδάργυρο και αναμένεται να εμφανιστούν, σπάνια ή περιστασιακά δυσμενείς επιδράσεις στους βενθικούς οργανισμούς.

- Σύμφωνα με τα κριτήρια PEL και TEL, τα ιζήματα των μονάδων κρίνονται ως μέτρια ρυπασμένα ως προς τον ψευδάργυρο και αναμένεται να παρουσιαστούν, σπάνια ή περιστασιακά δυσμενείς επιδράσεις στους βενθικούς οργανισμούς.
4. Το ποσοστό των χημικών στοιχείων που κατανέμονται σε θέσεις περιβαλλοντικά «ενεργές» στα ιζήματα των μονάδων, προσδιορίστηκε για το χαλκό : Α και Β: 8,41%, Γ και Δ: 17,66% και για τον ψευδάργυρο: Α και Β: 7,28%, Γ και Δ: 14,46%. Τα υψηλότερα ποσοστά παρατηρούνται στις μονάδες Γ και Δ που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα.
 5. Η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) που πραγματοποιήθηκε για τον περιεχόμενο χαλκό και ψευδάργυρο στα ιζήματα, έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα.
 6. Η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) που πραγματοποιήθηκε για τον περιεχόμενο χαλκό στα ιζήματα με τη μέθοδο του «0.5N HCl», έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα.

7. Τέλος, σύμφωνα με τις ανώτατες αποδεκτές τιμές για τον χαλκό και τον ψευδάργυρο που αναφέρονται στην περιβαλλοντική νομοθεσία ΕΡΑ, τα ιζήματα των τεσσάρων μονάδων είχαν χαμηλότερες τιμές και δεν απαιτείται η λήψη μέτρων αποκατάστασης τους.

Όσον αφορά τους εκτρεφόμενους οργανισμούς:

1. Ο περιεχόμενος χαλκός στο μυϊκό ιστό της τσιπούρας και του λαβρακιού είναι χαμηλότερος στα δείγματα των μονάδων που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα.
2. Οι υψηλότερες τιμές του χαλκού και για τα δυο εκτρεφόμενα είδη, παρατηρούνται στο συκώτι.
3. Οι υψηλότερες τιμές του ψευδάργυρου στα δείγματα που προήλθαν από μονάδες που δεν χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα παρατηρούνται στα βράγχια (Τσιπούρα) και στο μυϊκό ιστό (Λαβράκι) ενώ στα δείγματα που προήλθαν από μονάδες που χρησιμοποιούν υφαλοχρώματα οι υψηλότερες τιμές παρατηρούνται στο συκώτι και είναι πολύ υψηλότερες ή/και πολλαπλάσιες.
4. Η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) έδειξε στατιστικώς σημαντικές διαφορές στο περιεχόμενο βαρέων μετάλλων σε όλα τα δείγματα ιστών των δύο μελετούμενων ειδών μεταξύ των μονάδων που χρησιμοποιούν ή όχι υφαλοχρώματα εκτός από το χαλκό στα βράγχια της τσιπούρας και τον ψευδάργυρο στον μυϊκό ιστό και στα βράγχια της τσιπούρας και του λαβρακιού.
5. Το περιεχόμενου του χαλκού που υπάρχει στα υφαλοχρώματα φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά τους εκτρεφόμενους οργανισμούς.

6. Στην παρούσα έρευνα, ο περιεχόμενος χαλκός και ψευδάργυρος στα δείγματα μυϊκού ιστού και των τεσσάρων μονάδων δειγματοληψίας είναι σε κάθε περίπτωση χαμηλότερος από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια που υποδεικνύουν οι διεθνείς οδηγίες σε σχέση με την καταλληλότητα για ανθρώπινη κατανάλωση.

6. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

1. Περαιτέρω διερεύνηση του θέματος και σε άλλες μονάδες.
2. Απαγόρευση της χρήσης υφαλοχρωμάτων στις ιχθυοκαλλιέργειες.
3. Χρήση εναλλακτικών διαχειριστικών μέτρων για την καταπολέμηση του φαινομένου της βιοεπίστρωσης (fouling) όπως π.χ. χειρονακτικός καθαρισμός των δικτυών, έκθεσή τους στον ήλιο, σωστή επιλογή θέσης εγκατάστασης μονάδων ιχθυοκαλλιέργειών, κ.λ.π.
4. Περαιτέρω έρευνα ορισμένων καινοτόμων ιδεών, η οποία θα μπορούσε να συμβάλλει στη δημιουργία αποτελεσματικότερων τεχνολογιών περισσότερο φιλικών προς το περιβάλλον.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Διεθνής βιβλιογραφία

- Abarzua S., Jakubowski S. (1995) Biotechnological investigation for the prevention of biofouling I. Biological and biochemical principles for the prevention of biofouling. *Marine Ecology Progress Series*, 123:301-312
- Agemian H., Chau Y.S.A. (1976) Evaluation of Extraction Techniques for the Determination of Metals in Aquatic Systems. *The analyst*, 101:761-767
- Alasalvar C., Taylor K.D.A., Zubcov E., Shahidi F., Alexis M. (2002) Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. *Food Chemistry*, 79:145-150
- Anderson B.S., Hunt J.W., Piekarski W.J., Phillips B.M., Englund M.A., Tjeerdema R.S., Goetzl J.D. (1995) Influence of salinity on copper and azide toxicity to larval topsmelt *Atherinops affinis* (Ayres). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 29:366-372
- Angelidis M., Zafeiropoulos D., Grimanis A.P. (1982) Hydrochloric acid extractable and residual trace element concentrations in sediments around Athens Sewage Outfall, VII Workshop on Marine Pollution of the Mediterranean sea. XXVII CIESM, Cannes, pp 339-343
- Angelidis M., Grimanis A.P. (1987) Arsenic geochemistry in sediments near the Athens Sewage Outfall. *Marine Pollution Bulletin*, 18:297-298
- Antizar- Ladislao B. (2008) Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT) contaminated marine environment. A review. *Environmental International*, 34:292-308
- Baudo R. (1987) Heavy metal pollution and ecosystem recovery. Ecological assessment of environmental degradation, pollution and recovery, lectures of a course held at the Joint Research Center. Ispra, Italy. pp. 325-352
- Belias C.V., Bikas V.G., Dassenakis M.J., Scoullou M.J. (2003) Environmental impacts of coastal aquaculture in Eastern Mediterranean bays. The case of Astakos gulf, Greece. *Environmental Science and Pollution Research*, 10:287-295
- Bellas J., Vasquez E., Beiras R. (2001) Toxicity of Hg, Cu, Cd, and Cr on early developmental stages of *Ciona intestinalis* (Chordata, Ascidiacea) with potential application in marine water quality assessment. *Water Research*, 35:2905-2912
- Bennett R.F. (1996) Industrial manufacture and applications of tributyltin compounds. In "Tributyltin: Case Study of an Environmental Contaminant". Cambridge University Press, Cambridge. pp. 21-61
- Benson P. H., Brining D. L., Perrin D. W. (1973) Marine fouling and its prevention. *Marine Technology Society Journal*, 10:30-37
- Bettinelli M., Beone G.M., Spezia S., Baffi C. (2000) Determination of heavy metals in soils and sediments by microwave- assisted digestion and inductively coupled plasma optical emission spectrometry analysis. *Analytica Chimica Acta*, 424:289-296
- Beveridge M. (1996) *Cage Aquaculture*. The University Press, Third edition, Cambridge.
- Blair A., Campbell R. Grant, P.T. (1982) A submersible fish cage that can be rotated on the surface to remove biofouling and for other purposes. *Aquaculture*, 29:177-184

- Boran M., Altınok N. (2010) A Review of Heavy Metals in Water, Sediment and Living Organisms in the Black Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10:565-572
- Børufsen Solberg C., Saethre L., Julshamn K. (2002) The effect of copper-treated net pens on farmed salmon (*Salmo salar*) and other marine organisms and sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 45:126-132
- Braithwaite R.A., McEvoy L.A. (2005) Marine Biofouling on Fish Farms and its Remediation. *Advances in marine biology*. 47:215-252
- Brooks K.M., Mahnken C.V. (2003) Interactions of Atlantic salmon in the Pacific Northwest environment III Accumulation of zinc and copper. *Fisheries Research*, 62:295-305
- Burridge L.E., Doe K., Haya K., Jackman P.M., Lindsay G., Zitko V. (1999) Chemical analysis and toxicity tests on sediments under salmon net pens in the Bay of Fundy. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, pp. 39
- Burridge L.E., Zitko V. (2002) Lethality of copper sulfate and copper-treated nets to juvenile haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, 69:378-383
- Burridge L.E., Weis J.S., Cabello F., Pizarro J., Bostick K. (2010) Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, 306:7-23
- Callow E.M., Fletcher L.R. (1994) The influence of low surface energy materials on bioadhesion - A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 34:333-348
- Callow M.E., Callow J.A. (2002) Marine biofouling: A sticky problem. *Biologist*, 49:10-14
- Canadian Environmental Quality Guideline (2002)
- Canli M., Furness R.W. (1993a) Heavy metals in tissues of the Norway lobster *Nephrops norvegicus*: effects of sex, size and season. *Chemistry and Ecology*, 8:19-32
- Canli M., Furness R.W. (1993b) Toxicity of heavy metals dissolved in sea water and influences of sex and size on metal accumulation and tissue distribution in the Norway lobster *Nephrops norvegicus*. *Marine Environmental Research* 36:217-236
- Canli M., Atli G. (2003) The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species *Environmental Pollution*, 121:129-136
- Castritsi-Catharios J., Neofitou N., Vorloou A.A. (2013) Comparison of heavy metals concentrations in fish samples from three fish farms (Eastern Mediterranean) utilizing antifouling paints. *Fourth Conference on Environmental Management, Engineering, Planning and Economics (CEMEPE 2013)*, Mykonos, Greece, 24-28 June (accepted).
- Chambers L.D., Stokes K.R., Walsh F.C., Wood R.J.K. (2006) Modern approaches to marine antifouling coatings. *Surface & Coatings Technology*, 201:3642-3652
- Cheah S.H., Chua T.E. (1979) A preliminary study of the tropical marine fouling organisms on floating net cages. *Malayan Nature Journal*, 33:39-48
- Chester R., Voutsinou G.F. (1981) The Initial Assessment of Trace Metal Pollution in Coastal Sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 12:84-91

- Chou C.L., Haya K., Paon L.A., BurrIDGE L., Moffatt J.D. (2002) Aquaculture-related trace metals in sediments and lobsters and relevance to environmental monitoring program ratings for near-field effects. *Marine Pollution Bulletin*, 44:1259-1268
- Claisse D., Alzieu C.I. (1993) Copper contamination as a result of antifouling paint regulations? *Marine Pollution Bulletin*, 26:395-397
- Coban B., Balkls N., Aksu A., Güray D., Tekinay A. (2009) Heavy metals in livers, gills and muscle of *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) fish species grown in the Dardanelles. *Black Sea/Mediterranean Environment*, 15:61-67
- Cooksey K.E., Wigglesworth B.C. (1995) Adhesion of bacteria and diatoms to surfaces in the sea: A review. *Aquatic Microbial Ecology*, 9:87-96
- Cotou E., Henry M., Zeri C, Rigos G., Torreblanca A., Catsiki V.A. (2012) Short-term exposure of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* to copper-based antifouling treated nets: Copper bioavailability and biomarkers responses. *Chemosphere*, 89:1091-1097
- Daniel G.F. Chamberlain A.H.L. (1981) Copper immobilisation in fouling diatoms. *Botanica Marina* 24, 229-243
- Davis A., Williamson, P. (1996) Marine biofouling: A sticky problem. *NERC News* April, 25-27
- Dean R.J., Shimmield T.M., Black K.D. (2007) Copper, zinc and cadmium in marine cage fish farm sediments: An extensive survey. *Environmental pollution*, 145:84-95
- Debourg C., Johnson A., Lye C., Tornqvist L., Unger C. (1993) Antifouling products pleasure boats, commercial vessels, net, fish cages, and other underwater equipment. KEM Report, No 2/93. The Swedish National Chemicals Inspectorate, pp 58
- Delauney L., Compere C., Lehaitre M. (2010) Biofouling protection for marine environmental sensors. *Ocean Science France*, 6:503-511
- Deviller G., Palluel O., Aliaume C., Asanthi H., Sanchez W., Franco Nava M.A., Blancheton J-P., Casellas C. (2005) Impact assessment of various rearing systems on fish health using multibiomarker response and metal accumulation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61:89-97
- 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
- Douglas-Helders G. M., Tan C., Carson J., Nowak, B. F. (2003) Effects of copper-based antifouling treatment on the presence of *Neoparamoeba pemaquidensis* Page, 1987 on nets and gills of reared Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 221:13-22
- Dugo G., Pera L.L., Bruzesse A., Pellicano T.M. Turco V.L. (2006) Concentration of Cd (II), Cu (II), Pb(II), Se(IV), and Zn(II) in cultured Seabass (*D. labrax*) tissues from Tyrrhenian sea and Sicilian sea by derivative strippingpotentiometry. *Food Control* 17: 146-152
- Dürr S., Thomason J. (2010) *Biofouling*. Wiley- Blackwell, United Kingdom, pp 268
- Enright C. (1993) Control of fouling in bivalve aquaculture. *World Aquaculture*, 24:44-46
- Evans L.V., Clarkson N. (1993) Antifouling strategies in the marine environment. *Journal of Applied Bacteriology*, 74:119-124

- Evans S.M., Leksono T., McKinnell P.D. (1995) Tributyltin Pollution: A Diminishing Problem Following Legislation Limiting the Use of TBT-Based Anti-fouling Paints Marine Pollution Bulletin, 30:14-21
- FAO (1983) Compilation of legal limits for hazardous substance in fish and fishery products. FAO fishery circular, 464:5-100
- Farkas A., Salanki J., Varanka I. (2000) Heavy metal concentrations in fish of Lake Balaton. Lakes and Reservoirs. Resources Management, 5: 271-279
- Fernandes D., Zanuy S., Bebianno M.J., Porte C. (2008) Chemical and biochemical tools to assess pollution exposure in cultured fish. Environmental Pollution, 152:138-146
- Ferreira M., Caetano M., Antunes P., Costa J., Gil O., Bandarra N., Pousao-Ferreira P., Vale C., Reis-Henriques M.A. (2010) Assessment of contaminants and biomarkers of exposure in wild and farmed seabass. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73:579-588
- Forstner U., Wittmann G.T.W. (1983) Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlag, Berlin, pp. 129-161
- Fountoulaki E., Morgane H., Rigos G., Antigoni V., Mente E., Sweetman J., Nengas I. (2010) Evaluation of zink supplementation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juvenile diets. Aquaculture research, 41:208-216
- Fuentes A., Fernández-Segovia I., Serra J.A., Barat J.M. (2010) Comparison of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) quality. Food Chemistry, 119:1514-1518
- Galindo L., Hardisson A., Montelongo F.G. (1986) Correlation between lead, cadmium, copper, zinc and iron concentrations in tuna fish. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 36:595-9
- Guardiola A.F., Cuesta A., Meseguer J., Esteban A.M. (2012) Risks of Using Antifouling Biocides in Aquaculture. International Journal of Molecular Sciences, 13:1541-1560
- Gunn N., Woods D.C., Blunn G., Fletcher R.L., Jones E.B.G. (1987) Problems associated with marine microbial fouling. In "Microbial Problems in the Offshore Oil Industry" Wiley, London. pp. 175-200
- Harding J.P.C., Whitton B.A. (1978) Zink, cadmium and lead in water, sediments and submerged plants of the Derwent Reservoir, Northern England. Water research, 12:307-316
- Heath A.G. (1987) Water Pollution and Fish Physiology. CRC press. Florida, USA.
- Hodson S.L., Burke C. (1994) Microfouling of salmon-cage netting: A preliminary investigation. Biofouling, 8:93-105
- Hodson S.L., Burke, C.M. Lewis T.E. (1995) In situ quantification of fishcage fouling by underwater photography and image analysis. Biofouling, 9:145-151
- Hodson S.L., Lewis T.E., Burke C.M. (1997) Biofouling of fish-cage netting: efficacy and problems of in situ cleaning. Aquaculture, 152:77-90
- Hop H., Pearson T., Hegseth E.N., Kovacs K.M., Wiencke C., Kwasniewski S., Eiane K., Mehlum F., Gulliksen B., Wlodarska-Kowalezuk M., Lydersen C., Weslawski J.M., Cochrane S., Gabrielsen G.W., Leakey R.J.G., Lonne O.J., Zajackowski M., Falk-Petersen S., Kendall M., Wangberg S.A., Bischof K., Voronkov A.Y., Kovaltchouk N.A., Wiktor J., Poltermann M., Di Prisco G., Papucci C., Gerland S. (2002) The marine ecosystem of Kongsfjorden, Svalbard. Polar Research 21:167-208

- Hornung H., Krom M.D., Cohen Y. (1989) Trace metal distribution in sediments and benthic fauna of Haifa bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 29:43-56
- Hung O.S., Thiagarajan V., Wu R.S.S., Qian P.Y. (2005) Effects of ultraviolet radiation on films and subsequent settlement of *Hydroides elegans*. *Marine Ecology Progress Series*, 304:155-166
- IMO (2001) International convention on the control of harmful antifouling systems on ships. International Maritime Organisation, London.
- Jones B., Bolam T. (2007) Copper speciation survey from UK marinas, harbours and estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 54:1127-1138
- Jones D.E., Turner A. (2010) Bioaccessibility and mobilisation of copper and zinc in estuarine sediment contaminated by antifouling paint particles. *Estuarine, Coastal and self Science*, 87:399-404
- Kalantzi I., Shimmiel T.M., Pergantis S.A., Papageorgiou N., Black K.D., Karakassis I. (2013) Heavy metals, trace elements and sediment geochemistry at four Mediterranean fish farms. *Science of the Total Environment*, 444:128-137
- Kalantzi I. Black K.D., Pergantis S.A., Shimmiel T.M., Papageorgiou N., Sevastou K., Karakassis I. (2013) Metals and other elements in tissues of wild fish from fish farms and comparison with farmed species in sites with oxic and anoxic sediments, *Food Chemistry* (In press, Accepted manuscript)
- 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 organis. *Marine Pollution Bulletin*, 46:1491-1494
- Karlsson J., Eklund B. (2004) New biocide-free anti-fouling paints are toxic. *Marine Pollution Bulletin*, 49:456-464
- Karlsson J., Breitholtz M., Eklund B. (2006) A practical ranking system to compare toxicity of anti-fouling paints. *Marine Pollution Bulletin*, 52:1661-1667
- Karlsson J., Ytreberg E., Eklund B. (2010) Toxicity of anti-fouling paints for use on ships and leisure boats to non-target organisms representing three trophic levels. *Environmental Pollution*, 158:681-687
- Kelly J.R., Levine S.N., Buttel L.A., Carr K.A., Rudnick D.T., Morton R.D. (1990) The effects of tributyltin within a *Thalassia* seagrass ecosystem. *Estuaries and Coasts*, 13:301
- Li S. (1994) Fish culture in cages and pens. *Freshwater Fish Culture in China: Principles and Practice* Elsevier, Amsterdam, pp. 305-346
- Lewin R. (1984) Microbial adhesion is a sticky problem. *Science*, 224:375-377
- Lodeiros C.J., Himmelman J.H. (1996) Influence of fouling on the growth and survival of the tropical scallop *Euvola (Pecten) ziczac* (L. 1758) in suspended culture. *Aquaculture Research*, 27:749-756
- Long E.R., MacDonald D.D., Smith S.L., Calder F.D. (1995) Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Management*, 19:81-97
- Loring D.H. (1976a) The distribution and partitioning of zink, copper and lead in the sediments of the Saguenay Fjord, *Canadian Journal of Earth Sciences*, 13:960-970
- Loring D.H. (1976a) Distribution and partitioning of cobalt, nickel, chromium and vanadium in the sediments of the Saguenay Fjord, *Canadian Journal of Earth Sciences*, 13:1706-1718

- Lovegrove T. (1979b) Control of fouling in farm cages. *Fish Farming International*, 6:35-37
- MacDonald D.D., Carr R.S., Calder F.D., Long E.R., Ingersoll C.G. (1996) Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology*, 5:253-278
- Maréchal J.P., Hellio C. (2009) Challenges for the Development of New Non-Toxic Antifouling Solutions. *Molecular science*, 10:4623-4637
- Matthiessen P., Reed J., Johnson M. (1999) Sources and potential effects of copper and zinc concentrations in the estuarine waters of Essex and Suffolk, United Kingdom. *Marine Pollution Bulletin*, 38:908-20
- Millward R.N., Karman K.R., Fleeger J.W., Gambrell R.P., Powell R.T., Rouse M.M., (2001) Linking ecological impact to metal concentration and speciation: a microcosm experiment using a salt marsh meiofaunal community. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20:2029-2037
- Milne P.H. (1970) Fish farming: A guide to the design and construction of net enclosures. *Marine Research*, 1:1-31
- Minganti V., Drava G., Pellegrini R., Siccardi C. (2010) Trace elements in farmed and wild gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Marine Pollution Bulletin*, 60:2022-2025
- Monti G., Napoli L.D., Mainolfi P., Barone R., Guida M., Marino G. (2005) Monitoring Food Quality by Microfluidic Electrophoresis, Gas Chromatography, and Mass Spectrometry Techniques: Effects of Aquaculture on the Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *Analytical Chemistry*, 77:2587-2594
- Morrisey D.J., Gibbs M.M., Pickmere S.E., Cole R.G. (2000) Predicting impacts and recovery of marine-farm sites in Stewart Island, New Zealand, from the Findlay-Watling model. *Aquaculture*, 185:257-271
- Newman M.C., Unger M.A. (2003) *Fundamentals of Ecotoxicology*. Lewis Publishers, CRC Press, Boca Raton FL, pp 458
- Odegard M (1997) *Chemical analysis of rocks and soils in Geochemical processes, weathering and groundwater recharge in catchments*, Balkema, Rotterdam
- Olsen M.S. (2009) *Controlled release of environmentally friendly antifouling agents from marine coatings*. Dissertation for Doctoral Degree. Copenhagen: Technical University of Denmark.
- Orban E., Lena G.D., Navigato T., Casini I., Santaroni G., Marzetti A. (2002) Quality Characteristics of Sea Bass Intensively Reared and from Lagoon as Affected by Growth Conditions and the Aquatic Environment. *Journal of Food Science*, 67:542-546
- Parker W.R., Aube J.G., (2002) Metal levels in sediment samples collected under salmon aquaculture pens in the Bay of Fundy, New Brunswick. Environment Canada, Environmental Protection Branch, Atlantic Region Surveillance Report. EPS-5-AR- 02-01. pp 30
- Papagiannis I., Kagalou I., Leonardos J., Petridis D., Kalfakakou V. (2004) Copper and zinc in four freshwater fish species from lake Pamvotis (Greece). *Environmental International*, 30:357-362
- Prater B., Hoke R.A. (1980) A method for biological and chemical evaluation of sediment toxicity. *Contamination and sediments*. pp 483.
- Roesijadi G. (1992) Metallothioneins in metal regulation toxicity in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 22:81-113

- Schendel E.K., Nordstrom S., Lavkulich L.M. (2004) Flocculation and sediment properties and their environmental distribution from a marine fish farm. *Aquaculture Research*, 35:483-493
- Schuhmacher M., Domingo J.L., Corbella J., Bosque M.A. (1992) Heavy metals in marine species from the Terragona coast, Spain. *Environmental Science Health*, 21:1939-1948
- Short J.W., Thrower F.P. (1987) Toxicity of tri-n-butyltin to Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, adapted to seawater. *Aquaculture*, 61:193-200
- Singh N., Turner A. (2008) Leaching of copper and zinc from spent antifouling paint particles. *Environmental Pollution*, 157:371-376
- Skordas K., Kelepertzis A. (2005) Soil contamination by toxic metals in the cultivated region of Agia, Thessaly, Greece. Identification of sources or contamination. *Environmental Geology*, 48:615-624
- Skordas K., Thanasakis D., Kosmidis D., Giannakopoulou L., Neofitou C., Vafidis D. (2011) Contamination by heavy metals in surface sediments of lake Karla. 10ο Πανελλήνιο Συμπόσιο Ωκεανογραφίας & Αλιείας
- Smith J.N., Yeats P.A., Milligan T.G. (2005) Sediment geochronologies for fish farm contaminants in Lime Kiln Bay, Bay of Fundy. *Environmental Effects of Marine Finfish Aquaculture*, 5:221-238
- Sølberg C.B., Saethre L., Julshamn K. (2002) The effect of copper-treated net pens on farmed salmon (*Salmo salar*) and other marine organisms and sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 45:126-132
- Strand J., Jacobsen J.A. (2005) Accumulation and trophic transfer of organotins in a marine food web from the Danish coastal waters. *Science of the Total Environment*, 350:72-85
- Tan C.K.F., Nowak B.F., Hodson S.L. (2002) Biofouling as a reservoir of *Neoparamoeba pemaquidensis* (Page, 1970), the causative agent of amoebic gill disease in Atlantic salmon. *Aquaculture*, 210:49-58
- Terlizzi A., Frascchetti S., Gianguzza P., Faimali M., Boero F. (2001) Environmental impact of antifouling technologies: State of the art and perspectives. *Aquatic conservation Marine and Freshwater Ecosystems*, 11:311-317
- Thomson E.A., Luoma S.N., Johansson C.E., Cain D.J. (1984) Comparison of sediments and organisms in identifying sources of biologically available trace metal contamination. *Water Research*, 18:755-765
- Tinsley I.J. (2004) Chemical concepts in pollutant behavior. John Wiley & Sons New Jersey, 2nd edition. pp 149-160
- Trocino A., Xiccato G., Majolini D., Tazzoli M., Tulli F., Tibaldi E., Messina M.C., Santulli A. (2012) Levels of dioxin-like polychlorinated biphenyls (DL-PCBs) and metals in European sea bass from fish farms in Italy. *Food Chemistry* 134:333-338
- Turner A., Pollock H., Brown M.T. (2009) Accumulation of Cu and Zn from antifouling paint particles by the marina macroalga, *Ulva lactuca*. *Environmental Pollution*, 157:2314-2319
- Tzouni A., Skordas K., Kosmidis D., Tziantziou L., Neofitou N., Neofitou C., Vafidis D. (2011) Preliminary study of heavy metal concentrations in the sediment of Karla lake. 4rd International symposium on hydrobiology and fisheries, Jun 2011, Volos Greece. pp. 61-64.

- UNEP (1984) Determination of total cadmium, zinc, lead and copper in selected marine organisms by flameless atomic absorption spectrophotometry, Reference Methods for Marine Pollution Studies No. 11 Rev 1
- U.S. Environmental Protection Agency, WAC 173-204-420
- U.S. Environmental Protection Agency, WAC 173-204-520
- U.S. Environmental Protection Agency Method 3051A. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils
- U.S. Environmental Protection Agency Method 3052. Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices
- Usero J., Izquierdo C., Morillo J., Gracia I. (2003) Heavy metals in fish (*Solea vulgaris*, *Anguilla Anguilla* and *Liza aurata*) from salt marshes on the southern Atlantic coast of Spain. *Environment International* 29:949-956
- Varanasi U., Markey D. (1978) Uptake and release of lead and cadmium in skin and mucus of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 60:187-191
- Viarengo A., Pertica M., Mancinelli G., Burlando B., Canesi L., Orunesu M. (1996) *In vivo* effects of copper on calcium homeostasis mechanisms of mussel gill cell plasma membranes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 113:421-425
- Warnken J, Dunn R.J.K., Teasdale P.R. (2004) Investigation of recreational boats as a source of copper at anchorage sites using time-integrated diffusive gradients in thin film and sediment measurements. *Marine Pollution Bulletin*, 49: 833–43
- Watermann B.T., Daehne B., Sievers S., Dannenberg R., Overbeke J.C., Klijnstra J.W., Heemken O. (2005) Bioassays and selected chemical analysis of biocide free antifouling coatings. *Chemosphere*, 60:1530-1541
- Weis J.S., Weis P. (1995) Effects of chromate copper arsenate (CCA) pressure-treated wood in the aquatic environment. *Ambio*, 24:269
- Woods Hole Oceanographic Institution (1952) ‘‘Marine Fouling and its Prevention’’. United States Naval Institute, Annapolis, MD
- Yebra D M, Kiil S, Dam J K. (2004) Antifouling technology - past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Progress in Organic Coatings*, 50:75–104
- Yildiz M. (2008) Mineral composition in fillets of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*): a comparison of cultured and wild fish. *Journal of Applied Ichthyology*, 24:589-594
- Zabetoglou K., Voutsas D., Samara K. (2002) Toxicity and heavy metal contamination of Surficial Sediments from the bay of Thessaloniki (Northwestern Aegean Sea) Greece. *Chemosphere*, 49:17-26
- Zar J.H. (1999) *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey, p. 663

Ελληνική βιβλιογραφία

- Αρβανίτης Λ. (2006) Γεωχημική μελέτη σε επιφανειακά ιζήματα του επιβατικού τμήματος του λιμένα Πειραιώς. Διατριβή εξειδίκευσης
- Αργυράκη Α. (2007) Αναλυτική Γεωχημεία. Σημειώσεις του μαθήματος. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Σκούλλος Μ. & Δασενάκης Μ. (1992) Εργαστηριακές ασκήσεις Χημικής Ωκεανογραφίας, ΕΚΠΑ

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

<http://www.week.divebums.com> (πρόσβαση: 11/06/12)

<http://www.sciencephoto.com> (πρόσβαση: 11/06/12)

<http://www.superstock.com> (πρόσβαση: 11/06/12)

<http://www.discoverlife.org> (πρόσβαση: 11/06/12)

<http://maps.google.com/> (πρόσβαση: 29/05/13)

<http://www.hc-sc.gc.ca/> (πρόσβαση: 29/05/12)

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the heavy metal (Cu and Zn) content in sediments and in cultured species such as sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*), in order to investigate the accumulation of heavy metals derived from the use of antifouling treatment in aquaculture nets. The metal content in surface sediments and in tissues (gill, liver, muscle) of farmed organisms were examined and a statistical comparison between aquaculture sites that use or not antifouling treatment was carried out.

Four aquaculture sites were chosen. Two of them used nets treated with antifouling paints whereas the other two utilized untreated nets. Sediment samples and tissues of both species were analyzed in order to determine the copper (Cu) and Zinc (Zn) content.

The determination of the heavy metal content in sediment samples was carried out after dissolution according to method EPA 3051 and in biological tissues according to method EPA 3052. The analysis of chemical elements was accomplished by atomic absorption spectrometry (AAS).

The analysis showed that copper and zinc content in sediments was higher in samples collected from aquaculture sites that use antifouling treatment, while the percentage of bioavailability in those sites was two or even three times higher compared to those utilized untreated nets. The statistical analysis that was conducted for both metals among sediment samples from sites that use or not antifouling treatment showed no significant differences. In comparison with SQG's (Sediment Quality Guidelines),

chemical content in most of sediment samples could be occasionally associated with adverse effects in benthic communities.

The analysis of biological samples showed that copper content in muscle of sea bream and sea bass was lower in samples of aquaculture sites that utilized untreated nets. The highest copper content for both farmed species was observed in liver. Analysis of variance (one-way ANOVA) showed significant differences in heavy metal content in all tissues among the samples of aquaculture sites that used or not antifouling treatment except for copper content in sea bream gills and zinc content in muscle and gills for both studied species. In any case, Copper and Zinc content observed in muscle was lower than maximum permissible limits specified by international guidelines in relation to suitability for human consumption.

Finally, it appears that heavy metals as components of antifouling paints could affect heavy metals content in sediments and in farmed organisms.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Nikolaou M., Neofitou N., Skordas K., Tziantziou L. (2013) Effects of antifouling paints on farmed fish of the Eastern Mediterranean. 40th CIESM Congress, Marseille, France, 28 Oct-1 Nov. (δεκτή για παρουσίαση).