

# Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο *Daphnia* Toximeter.

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας.

Τοξικολογικό εργαστήριο, Υπηρεσία Ποιότητας Νερού, Διεύθυνση Ποιότητας, Έρευνας & Ανάπτυξης (R&D), Ε.ΥΔ.Α.Π. Α.Ε., Ωρωπού 156, Τ.Κ. 11146, Γαλάτσι, Αθήνα.

[ginamicro@evdap.gr](mailto:ginamicro@evdap.gr)

## Περίληψη

Ο σκοπός αυτής της εργασίας είναι να παρουσιάσει την μεθοδολογία, που εφαρμόζει η Ε.ΥΔ.Α.Π. Α.Ε. στον έλεγχο της τοξικότητας του νερού, στα πλαίσια της παρακολούθησης και διασφάλισης ποιότητας νερού του υδρευτικού της συστήματος.

Το όργανο *Daphnia* Toximeter είναι ένα on-line εργαλείο και μια ευαίσθητη μέθοδος για την ανίχνευση τοξικών ενώσεων στο νερό σε εγκαταστάσεις εξυγίανσης και σε συστήματα διανομής. Το όργανο διενεργεί τον έλεγχο για την παρουσία των τοξικών ουσιών, παρατηρώντας την αναστολή της κινητικότητας του ασπόνδυλου *Daphnia magna*. Το δείγμα νερού «τροφοδοτεί» με συνεχή ροή έναν θάλαμο μέτρησης, στον οποίο κολυμπούν τα άτομα *Daphnia*, ενώ μια κάμερα συνδεδεμένη με Η/Υ παρακολουθεί τον θάλαμο μέτρησης και αξιολογεί τις αλλαγές συμπεριφοράς της *Daphnia*. Εάν οι αλλαγές είναι στατιστικά σημαντικές, ενεργοποιείται ο συναγερμός, ο οποίος αξιολογείται από το χειριστή του συστήματος. Το *Daphnia* Toximeter εγκαταστάθηκε στο τοξικολογικό εργαστήριο της υπηρεσίας Ποιότητας Νερού της Ε.ΥΔ.Α.Π. Α.Ε. και από την 1<sup>η</sup> Ιανουαρίου 2010 λειτουργεί συνεχώς 24 ώρες/24ωρο και 365 ημέρες/έτος, ελέγχοντας την παρουσία τοξικών ουσιών στο ανεπεξέργαστο νερό εισαγωγής Μ.Ε.Ν. Γαλατσίου. Η συνεχής καταγραφή των τοξικολογικών μετρήσεων επιβεβαιώνουν την καλή ποιότητα του ανεπεξέργαστου νερού, που εισάγεται στις εγκαταστάσεις του Γαλατσίου.

Παράλληλα, χρησιμοποιώντας το όργανο *Daphnia* Toximeter σε δοκιμές οξείας τοξικότητας, προσδιορίστηκε η συσχέτιση δόσης τοξικής ουσίας – χρόνου έκθεσης και επίδρασης στον βιοδείκτη, για τις χημικές ενώσεις του υδραργύρου και της φαινόλης. Διαπιστώθηκε ότι η απόκριση του βιοδείκτη για την δόση LC50 100μg/L υδραργύρου συνέβη σε χρόνο έκθεσης της τοξικής ουσίας 360 λεπτών και για LC50 1000μg/L υδραργύρου σε χρόνο 210 λεπτών αντίστοιχα. Για την φαινόλη, η απόκριση του βιοδείκτη για την δόση LC50 1000μg/L φαινόλης, συνέβη σε χρόνο έκθεσης 10 λεπτών. Πρόκειται για συγκεντρώσεις τοξικών ουσιών που είναι κάτω από την οξεία τοξικότητα για τον άνθρωπο, που δύναται να ανακαλυφθούν σε ένα πολύ σύντομο χρονικό διάστημα ανάλογα με την εφαρμοσμένη συγκέντρωση τοξικού. Αυτές οι σύντομοι χρόνοι αποκρίσεις του βιοδείκτη, επιτρέπουν τη δυνατότητα επέμβασης των χειριστών προμήθειας νερού για να εμποδίσουν κατανάλωση μολυσμένου νερού. Σε κάθε περίπτωση οι συναγερμοί συμβαίνουν εντός ολίγων ωρών, επιβεβαιώνοντας την ευαισθησία του βιοδείκτη και την άμεση απόκριση σε παρουσία τοξικών ουσιών.

**Λέξεις-κλειδιά:** τοξικότητα, on-line βιοπαρακολούθηση, *daphnia magna*, φαινόλη, υδράργυρος.

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας

Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο *Daphnia* Toximeter.

## Abstract

The aim of this paper is to present the methodology, implemented by EYDAP SA in water analysis, within the process of ensuring the quality of water supply system.

The Daphnia Toximeter is an on-line instrument and a sensitive method to detect hazardous compounds in water from plants and distribution systems. Sample water continuously runs through a measuring chamber containing the Daphnia. The live images obtained using a CCD-camera are evaluated online with an integrated PC in order to analyze changes in their behavior. If this change is statistically significant, an alarm is triggered, which is evaluated by the system administrator. The Daphnia Toximeter was installed in Toxicological Laboratory of Water Quality Control Dept. of E.YD.A.P. S.A. and from January 1st 2010 operates continuously 24 hours/day and 365 days/year, checking the presence of toxic substances in the raw water of EYDAP SA. The continuous recording of the results confirms the good quality of raw water entering the Galatsi water treatment plant of E.YD.A.P. S.A.

In parallel, using Daphnia Toximeter in acute toxicity tests identified the correlation between dose toxic substance exposure time and effect in Daphnia for mercury and phenol. It was found that the response of biomarker for LC50 100µg/L mercury happened to toxic substance exposure time of 360 minutes and LC50 1000mg/L mercury happened to time 210 minutes. For phenol, the biomarker response to dose LC50 1000µg/L phenol happened to toxic substance exposure time of 10 minutes. All these concentration which are below acute human toxicity, could be discovered in a very short time, with the actual time depending on the applied concentrations. Early detection of incident toxicity it is very important, in order to taking decisions and made more effective water treatment process. In every case, alarms occur within few hours, confirming the sensitivity of biomarker and the immediate response to the presence of toxic substances.

**Keywords:** toxicity,, on-line bio-monitoring ,daphnia magna, phenol, mercury.

## 1. Εισαγωγή.

Τοξικότητα είναι η ικανότητα μιας ουσίας, να προκαλέσει δυσμενή επίδραση σε ζωντανούς οργανισμούς και είναι το αποτέλεσμα μιας συγκέντρωσης της ουσίας σε συγκεκριμένο χρόνο, που διαφοροποιείται από την θερμοκρασία, την χημική σύσταση και την διαθεσιμότητα της ουσίας αυτής (Βαλαβανίδης Αθ., 2010). Ο έγκαιρος εντοπισμός ενός περιστατικού τοξικότητας στο νερό αποτελεί το καθοριστικό στάδιο, ώστε να είναι δυνατή η λήψη αποφάσεων για την αντιμετώπισή του αλλά και πιο αποτελεσματική η διαδικασία επεξεργασίας του νερού. Καθώς οι πηγές των προβλημάτων αυτών, μπορεί να είναι πολλές και διαφορετικές (π.χ. περιβαλλοντική ρύπανση, ανάπτυξη μικροοργανισμών, παραπροϊόντα της επεξεργασίας νερού, δολιοφθορά, κ.ά.), η επίλυση τους απαιτεί συνεχή και αδιάλειπτο έλεγχο και συνδυασμό αναλύσεων και παρεμβάσεων στην διαδικασία επεξεργασίας και διανομής του νερού (EPA 2005). Το πλεονέκτημα της συνεχούς λειτουργίας συστημάτων βιο-παρακολούθησης της τοξικότητας του νερού είναι η ταυτόχρονη μέτρηση όλων των βιολογικών ενεργών συστατικών, που επηρεάζουν τους βιο-δείκτες είτε συνεργατικά, είτε ανταγωνιστικά, αφού το σύστημα καταμετρά την συνολική επίδραση άγνωστων πολλαπλών τοξικών ουσιών σε βιο-δείκτες ευαίσθητους σε πολλαπλά χημικά. (Gunatilaka A. 2000).

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας

Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο Daphnia Toximeter.

Η μέτρηση θνησιμότητας του οστρακόδερμου *Daphnia magna* περιγράφεται στην μέθοδο ISO 6341/98 και βασίζεται στην μέτρηση της θνησιμότητας του οργανισμού, με συνθήκες έκθεσης στην τοξική ουσία για 24 ή 48 ώρες, σε θερμοκρασία 20°C (ISO 6341,1998). Το σύστημα συνεχούς λειτουργίας ελέγχου τοξικότητας του νερού Daphnia Toximeter (bbe) διενεργεί την δειγματοληψία του νερού και τον έλεγχο για την παρουσία τοξικής ουσίας, παρατηρώντας την αναστολή της κινητικότητας του ασπόνδυλου *Daphnia magna* στο υπό-εξέταση δείγμα νερού. Το Daphnia Toximeter (bbe) αποτελεί μια ευαίσθητη μέθοδο για την ανίχνευση επικίνδυνων ενώσεων στο νερό από τα ποτάμια (προστασία των πηγών νερού), τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας του νερού και τα συστήματα διανομής νερού. Το όργανο έχει επίσης σχεδιαστεί ως ένα σύστημα έγκαιρης προειδοποίησης για τον εντοπισμό γρήγορα όλο το φάσμα διαλυμένων τοξικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των φυτοφαρμάκων, των νευροτοξινών και των δηλητηρίων χημικού πολέμου (Kaza M.,2007). Έτσι, είναι κατάλληλο για την ανίχνευση προθέσεως (τρομοκρατικές επιθέσεις) ή περιστατικών αμέλειας (διαρροές, ατυχήματα)(Gaosheng Zhang, 2011). Το όργανο μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τη μακροπρόθεσμη παρακολούθηση για την "στρατηγική" αξιολόγηση της ποιότητας των υδάτων και ως ένα πολύτιμο εργαλείο για τη διαχείριση κινδύνων (Lechelt, M., 2000). Η μέθοδος έχει αναπτυχθεί σε όλο τον κόσμο για πάνω από 15 χρόνια, εκ των οποίων τα 5 τελευταία χρόνια εφαρμόζεται στην Ελλάδα, στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας νερού από την Ε.ΥΔ.Α.Π. Α.Ε. (WEKNOW, 2005).

Η νομοθεσία προσδιορίζει τις συγκεντρώσεις διαφόρων ουσιών, που επιτρέπεται να υπάρχουν μέσα στο πόσιμο νερό, ώστε να ανταποκρίνεται στις υψηλές ποιοτικές προδιαγραφές. Μερικές φαινολικές ενώσεις είναι τοξικές για τον άνθρωπο και ειδικά οι χλωροφαινόλες, που προσδίδουν άσχημη οσμή και γεύση στο νερό. Στη χώρα μας, το ανώτατο επιτρεπτό όριο συγκέντρωσης φαινολών στο πόσιμο νερό είναι 1 µg/L. Η εφάπαξ έκθεση σε μεγάλη δόση υδραργύρου μπορεί να οδηγήσει σε αιφνίδιο θάνατο. Η έκθεση σε μεγάλες δόσεις μπορεί να οδηγήσει σε νευρική βλάβη, ευερεθιστότητα, έλκη στα ούλη, μεταλλική γεύση, απώλεια της όρεξης, απώλεια μνήμης και αλλαγές της προσωπικότητας. Ο ανόργανος υδράργυρος είναι τοξικός αλλά όχι τόσο, όσο ο οργανικός μεθυλιδράργυρος. Ο υδράργυρος μπορεί να εισέλθει στο πόσιμο νερό ως απόβλητο χημικών βιομηχανιών, κατασκευής ηλεκτρολογικού εξοπλισμού, παρασκευής χρωμάτων, χαρτοβιομηχανίας και παραγωγής μυκητοκτόνων. Η ανώτατη παραμετρική του τιμή ορίζεται στο 1µg/L. Φυσικές πηγές υδραργύρου περιλαμβάνουν γεωλογικά κοιτάσματα υδραργύρου, δασικές πυρκαγιές, ρήγματα/ηφαίστεια, ιαματικές πηγές κ.α.

Η επίδραση των ανόργανων και οργανικών ρύπων στην κινητικότητα και επιβίωση των ατόμων *Daphnia* του οργάνου *Daphnia Toximeter* ελέγχθηκε με την προσθήκη διαλυμάτων διαφόρων συγκεντρώσεων φαινόλης και υδραργύρου στην γραμμή τροφοδοσίας του νερού του οργάνου και καταμετρήθηκε ο χρόνος απόκρισης για LC50 και LC100 των βιο-δεικτών. Διαπιστώθηκε η ευαισθησία της μεθόδου, αφού εντοπίζονται σε ένα πολύ σύντομο χρονικό διάστημα οι αντιδράσεις των βιο-δεικτών σε συγκεντρώσεις δηλητηρίων πολύ μικρότερες των αντίστοιχων δόσεων οξείας απόκρισης σε άνθρωπο. σε σύγκριση με τα άλλα διατιθέμενα εφαρμοζόμενα συστήματα ανίχνευσης.

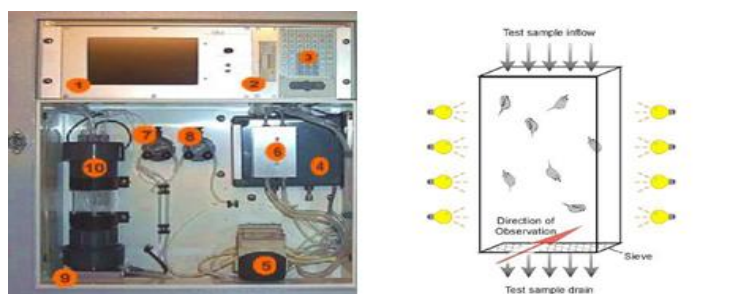
## **2. Μεθοδολογία.**

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας

Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξεργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο *Daphnia Toximeter*.

## 2.1. Βασικές αρχές λειτουργίας του οργάνου Daphnia-Toximeter (bbe).

Το όργανο Daphnia-Toximeter διενεργεί την δειγματοληψία του νερού και τον έλεγχο για την παρουσία τοξικής ουσίας, παρατηρώντας την αναστολή της κινητικότητας του ασπόνδυλου *Daphnia magna* (BBE, basic manual, 2003). Οι Daphnia μεταβάλλουν την συμπεριφορά τους (κινούνται ταχύτερα ή υψηλότερα ή αφανίζονται, κ.λ.π.) από την παρουσία τοξικών ουσιών στο υπό-εξέταση δείγμα νερού. Το δείγμα νερού «τροφοδοτεί» με συνεχή ροή τον θάλαμο μέτρησης, στον οποίο κολυμπούν τα άτομα Daphnia. Μια κάμερα συνδεδεμένη με τον Η/Υ του οργάνου παρακολουθεί τον θάλαμο μέτρησης και αξιολογεί την συμπεριφορά της Daphnia. Στην περίπτωση που, η συμπεριφορά της Daphnia παρουσιάζει μεταβολές, τότε ενεργοποιείται από τον Η/Υ ένας συναγερμός.



Εικόνα 1: φωτογραφία συστήματος ελέγχου τοξικότητας με το όργανο Daphnia Toximeter και σχηματική εικόνα του θαλαμίσκου εξέτασης του οργάνου.

Οι μεταβολές στην συμπεριφορά των ατόμων Daphnia υπολογίζονται σε συνάρτηση με τις παρακάτω παραμέτρους:

- Αύξηση του πληθυσμού ατόμων Daphnia (number of active organisms, detection rate).
- Μέση ταχύτητα (average speed).
- Κατανομή της ταχύτητας (speed class index, speed distribution).
- Χαρακτηριστικά κολύμβησης {σχήμα κολυμβητικής διαδρομής (fractal dimension), απόσταση των ατόμων Daphnia κατά την κολύμβηση (average distance), σχηματισμός ομάδων κατά την κολύμβηση (vertical dispersion, horizontal dispersion)}.
- Ύψος κολύμβησης (average swim height).
- Προσδιορισμός ανάπτυξης με αλλαγή μεγέθους των ατόμων Daphnia (average size).
- Αλλαγή της μέσης απόστασης κολύμβησης.

Το όργανο θα σημάνει συναγερμό, μόνο όταν δύο ή περισσότερες παράμετροι δείξουν ασυνήθιστα αποτελέσματα ταυτόχρονα σε ορισμένο χρονικό διάστημα.

Επιπρόσθετα, ελέγχονται και καταγράφονται τα δεδομένα από:

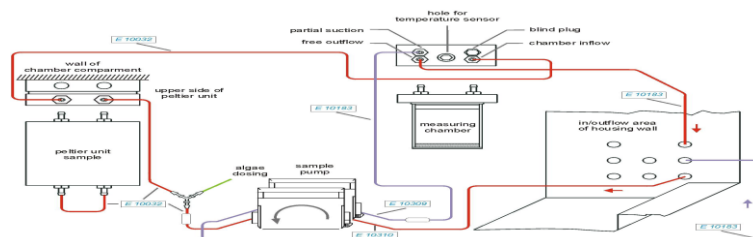
- Την θερμοκρασία του δείγματος.
- Την θερμοκρασία του δοχείου τροφής.
- Την θερμοκρασία του συστήματος ψύξης.
- Την εξωτερική θερμοκρασία.

## 2.2. Περιγραφή του οργάνου Daphnia-Toximeter(bbe).

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας

Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο Daphnia Toximeter.

Το όργανο έχει τοποθετηθεί στην μονάδα επεξεργασίας στην εισαγωγή του ανεπεξέργαστου νερού και εισέρχεται στο θάλαμο μέτρησης, μετά από την παρεμβολή της μονάδας φιλτραρίσματος (BBE, manual water conditioner, 2003), όπου φιλτράρεται και θερμαίνεται (25°–30°C). Η θέρμανση του νερού αποσκοπεί στην απομάκρυνση των αερίων από το διαλυμένο οξυγόνο, που εγκλωβίζονται σαν φυσαλίδες στον θάλαμο μέτρησης και αλλοιώνουν την παρατήρηση. Το νερό αντλείται από μια περισταλτική αντλία στον θάλαμο μέτρησης περνώντας από ένα στοιχείο Peltier, που ψύχει το δείγμα στην επιθυμητή θερμοκρασία (20°C) για την ανάπτυξη των ατόμων *Daphnia*. Ταυτόχρονα, πραγματοποιείται η καλλιέργεια του χλωροφύκου *Chlorella* (τροφή για την *Daphnia magna*) σε φιάλες των 2 λίτρων με θρεπτικό διάλυμα (woods hole) υπό ανάδευση και υπό τεχνητό φωτισμό, σύμφωνα με τις οδηγίες της παρασκευάστριας εταιρείας. Τα φύκη προστίθενται στο θάλαμο μέτρησης με περισταλτική αντλία από το δοχείο τροφοδοσίας (algae fermenter), το οποίο τροφοδοτείται με θρεπτικό διάλυμα από το κέντρο θρεπτικού διαλύματος (nutrient solution). Παράλληλα, πραγματοποιείται η καλλιέργεια ατόμων *Daphnia magna* σε φιάλες με 2 λίτρα ανεπεξέργαστο νερό, διηθημένο με μεμβράνη νιτρικής κυτταρίνης 0,45μm, με διάμετρο πόρου και σε θερμοκρασία 20°C. Οι *Daphnia* εκτρέφονται με καλλιέργεια *Chlorella*, η οποία προστίθεται στο διάλυμα σε όγκο 50 μl έως 100μl κάθε 24 ώρες. Το δείγμα νερού εισέρχεται στο θάλαμο μέτρησης και εξέρχεται από αυτό για απόρριψη. Η επίδραση του δείγματος στα άτομα *Daphnia* καταγράφεται συνεχώς από την κάμερα CCD και ο H/Y εκτιμά την εικόνα της κάμερας. Ο θάλαμος μέτρησης φωτίζεται και από τις δύο πλευρές του με RED LED λάμπες. Το όλο σύστημα μέτρησης ψύχεται από πρόσθετο στοιχείο ψύξης.



Εικόνα 2: σχηματική παράσταση του οργάνου *Daphnia* Toximeter (bbe).

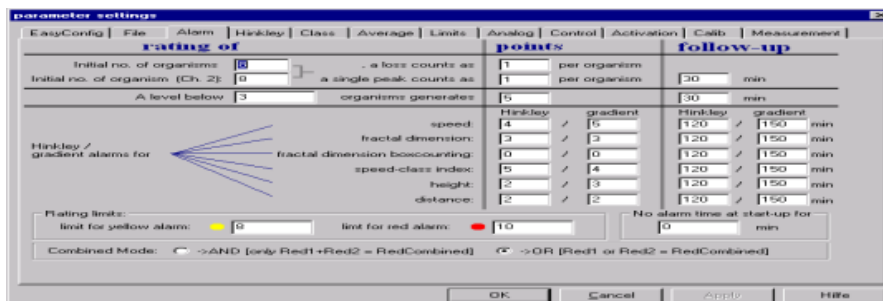
### 2.3. Αξιολόγηση δεδομένων μέτρησης.

Η εκτίμηση των δεδομένων μέτρησης από το όργανο παίζει σημαντικό ρόλο στην χρήση του (BBE, Detailed Manual, 2003). Πώς το όργανο αντιδρά στην επίδραση τοξικών ουσιών; Πώς εξηγούνται οι αλλαγές στην συμπεριφορά της *Daphnia*; Πόσο γρήγορα σημαίνει ο συναγερμός; Πώς αποφεύγουμε ψευδείς συναγερμούς; Πώς απεικονίζεται μια αλλαγή συμπεριφοράς και πώς ανιχνεύεται; Αυτά είναι μερικά από τα κύρια ερωτήματα, των οποίων η κατανόηση είναι απαραίτητη για την αξιολόγηση των συναγερμών. Κάθε παράμετρο συμπεριφοράς της *Daphnia* ελέγχεται στατιστικά για μεταβολές σε σχέση με την κατάσταση 4 ωρών νωρίτερα. Εάν συμβεί μια στατιστικά σημαντική μεταβολή σε μία από τις παρατηρούμενες παραμέτρους, οι αλγόριθμοι των συναγερμών εκτιμούν το γεγονός σε σχέση με την κατανομή συναγερμών. Εντούτοις, όλες οι παρατηρούμενες μεταβολές δεν εκτιμώνται ως σημαντικές (η αλλαγή της ταχύτητας κολύμβησης είναι σημαντικότερη από την αλλαγή του ύψους κολύμβησης).

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας

Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο *Daphnia* Toximeter.

Έτσι, προκειμένου να προσδιοριστεί η σημαντικότητα μιας αλλαγής, οι στατιστικές μεταβολές κατανέμονται σε σύνολα μετρήσεων, αποκαλούμενα alarms points. Αυτά τα σύνολα μετρήσεων προστίθενται στο πεδίο του δείκτη συναγερμού (alarm index), όταν οι στατιστικές μεταβολές συμβαίνουν στον ίδιο χρόνο. Όταν ο δείκτης συναγερμού αγγίζει ένα κίτρινο ή έναν κόκκινο όριο συναγερμού, τότε ένας προειδοποιητικός ή αντίστοιχα ένας υπαρκτός συναγερμός πυροδοτείται.



Εικόνα 3: σχηματική παράσταση του παραθύρου της ρύθμισης παραμέτρων λειτουργίας του οργάνου Daphnia Toximeter bbe.

Δείκτης συναγερμού (toxic index): ο υπολογισμός του δείκτη συναγερμού βασίζεται στις στατιστικές μεταβολές των μετρούμενων παραμέτρων, που διακρίνονται σε τρεις τύπους:

- όρια συναγερμού: το λογισμικό πρόγραμμα ελέγχει, τότε μια παράμετρος αγγίζει προκαθορισμένα όρια (χαμηλό ή υψηλό όριο). Οι παράμετροι που ελέγχονται είναι η μέση ταχύτητα και ο αριθμός των ενεργών ατόμων Daphnia.
- κλιμάκωση συναγερμού: εδώ εντάσσονται οι αλλαγές των παραμέτρων σε μια χρονική διαδρομή, διαχωρισμένες σε δύο επίπεδα (σύντομης περιόδου και μακράς περιόδου μεταβολής).
- Hinkley συναγερμοί: εδώ εντάσσονται οι αλλαγές των παραμέτρων μιας χρονικής διαδρομής, που συμβαίνουν με αιφνίδιο αλματώδη τρόπο. Μια φόρμουλα μαθηματικού υπολογισμού, που ανιχνεύει αυτές τις αιφνίδιες μεταβολές, ονομάζεται Hinkley detector.

#### 2.4. Αξιολόγηση δεδομένων συναγερμών.

Η εκτίμηση των ψευδών συναγερμών σημαίνει ότι, κάποια αλλαγή που συνέβη, δεν σχετίζεται απαραίτητα με την ποιότητα του δείγματος νερού (BBE, Fundamental Manual, 2003). Πρέπει, σε κάθε περίπτωση συναγερμού, να επιβεβαιώνουμε:

- Οι μετρούμενες θερμοκρασίας και κυρίως, αυτή του δείγματος, να είναι σταθερές και να μην μεταβάλλονται πάνω από  $\pm 2$  βαθμούς.
- Το ποσοστό ανίχνευσης των ατόμων Daphnia να είναι υψηλότερο από το 70% για τις τελευταίες 12 ώρες πριν το alarm.
- Η κυψελίδα να είναι απαλλαγμένη από φυσαλίδες, που οδηγούν σε σφάλμα μέτρησης, γιατί παρομοιάζουν με τις Daphnia.
- Ο αριθμός των ατόμων Daphnia να μην μειωθεί για 36 ώρες, πριν το συμβάν. Κάτι τέτοιο θα οφειλόταν σε πρόβλημα υποσιτισμού. Αφανισμός μεγάλου αριθμού ατόμων Daphnia μέσα σε 4 ώρες υποδεικνύει πραγματικό πρόβλημα και συναγερμό. Επίσης, θα πρέπει ο αριθμός των ατόμων να μην διαφέρει περισσότερο από  $\pm 1$  τις τελευταίες 12 ώρες πριν το alarm.

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας

Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο Daphnia Toximeter.

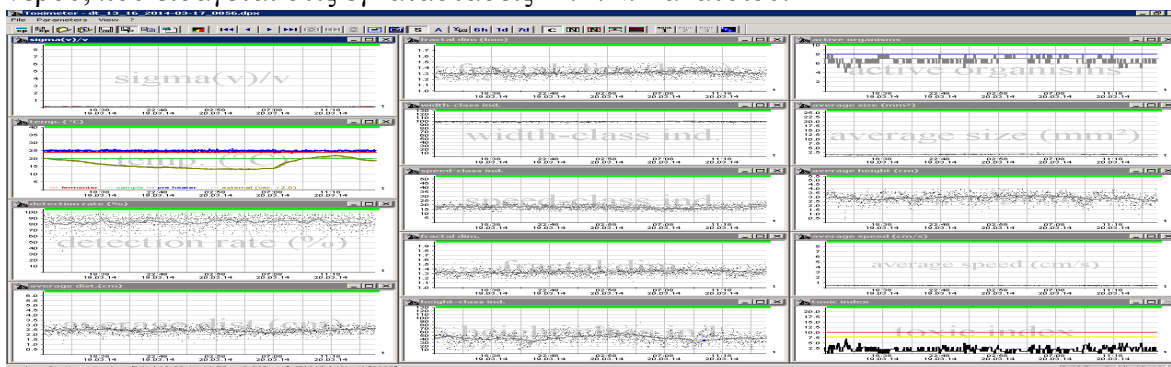
- Τα alarms αξιολογούνται, όταν συμβαίνουν μετά τις πρώτες 6 ώρες λειτουργίας και παρατήρησης των νέων Daphnia, έτσι ώστε να έχουν προσαρμοστεί τα άτομα στις συνθήκες της ανάλυσης. Αδύναμα ή τραυματισμένα άτομα συνήθως πεθαίνουν μέσα στις πρώτες ώρες μετά την έναρξη της μέτρησης. Γι' αυτό τον λόγο, συνιστάται να διατηρούμε τις Daphnia, σε νερό ίδιο με της μέτρησης.

## 2.4. Πειραματική προσθήκη τοξικών ουσιών.

Διάλυμα υδραργύρου (10L) με συγκεντρώσεις 1μg/L, 10μg/L, 100μg/L και 1000μg/L, προστέθηκαν διαδοχικά στο σύστημα τροφοδοσίας του ανεπεξέργαστου νερού του οργάνου με παράκαμψη (by-pass) με παροχή 2-3L/hr (παρόμοια του οργάνου) και καταμετρήθηκε ο χρόνος απόκρισης για LC50 και LC 100 των βιο-δεικτών. Επίσης διάλυμα φαινόλης (10L) με συγκεντρώσεις 10μg/L, 100μg/L και 1000μg/L, προστέθηκαν διαδοχικά στο σύστημα τροφοδοσίας του ανεπεξέργαστου νερού του οργάνου και καταμετρήθηκε ο χρόνος απόκρισης για LC50 και LC100 των βιο-δεικτών. Μετά την παροχή των 10 λίτρων τοξικών διαλυμάτων το σύστημα επανερχόταν στην σταθερή τροφοδοσία του ανεπεξέργαστου νερού χωρίς παράκαμψη.

## 3. Συμπεράσματα.

Η ασφάλεια και η ποιότητα υδροδότησης του αθηναϊκού πληθυσμού αποτελεί τον κύριο στόχο των διαχειριστών επεξεργασίας και ελέγχου του νερού της Ε.ΥΔ.Α.Π. Α.Ε. Πολύτιμο εργαλείο για τη διαχείριση κινδύνων στην επεξεργασία του νερού αλλά και στην συνεχή αξιολόγηση της ποιότητας αποτελεί το όργανο Daphnia Toximeter (bbe), που εγκαταστάθηκε στο τοξικολογικό εργαστήριο της υπηρεσίας Ποιότητας Νερού και λειτουργεί συνεχώς 24 ώρες/24ωρο και 365 ημέρες/έτος, ελέγχοντας την παρουσία τοξικών ουσιών στο ανεπεξέργαστο νερό εισαγωγής Μ.Ε.Ν. Γαλασίου. Η συνεχής καταγραφή των αποτελεσμάτων επιβεβαιώνουν την καλή ποιότητα του ανεπεξέργαστου νερού, που εισάγεται στις εγκαταστάσεις Μ.Ε.Ν. Γαλασίου.



Εικόνα 4: γραφήματα παραμέτρων λειτουργίας του οργάνου Daphnia Toximeter bbe.

### 3.1 Περιπτώσεις πειραματικών συναγεμύων του οργάνου Daphnia Toximeter bbe.

Κατά τη διάρκεια ή πριν από την επεξεργασία του πόσιμου νερού, είναι σημαντικό να συλλέγονται έγκαιρα πληροφορίες σχετικά με τις τοξικές επιβαρύνσεις ακατέργαστου νερού για την καλύτερη διαχείριση της διαδικασίας επεξεργασίας του νερού. Σε γενικές γραμμές μια τοξική αντίδραση είναι το αποτέλεσμα δύο παραμέτρων, καθώς υπάρχουν

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας

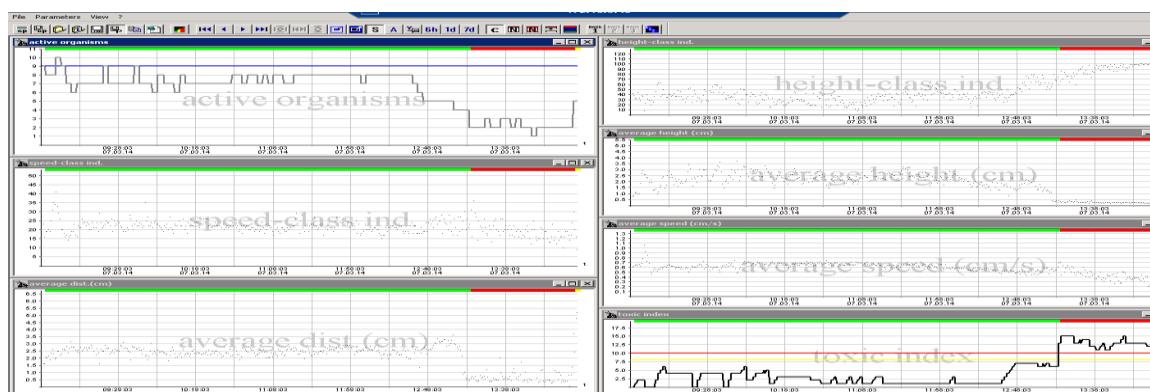
Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο Daphnia Toximeter.

μία χημική ουσία που επιδρά και ένας βιο-δείκτης που αντιδρά. Τα *Daphnia magna* είναι ένα μοντέλο βιολογικού ελέγχου τοξικότητας του νερού καλά μελετημένο και η συμπεριφορά τους κάτω από μη τοξικό περιβάλλον είναι σαφώς καθορισμένη (Persoone G., 2009). Αποκλίνουσες συμπεριφορές κολύμβησης θα μπορούσαν να είναι το αποτέλεσμα της αποφυγής μιας τοξικής ουσίας ή μείωση των μεταβολικών αντιδράσεων μετά από τοξικές επιδράσεις (Premysl Soldán, 2010). Οι χρόνοι απόκρισης της *Daphnia* είναι εξαιρετικά μικροί για τις επιβαλλόμενες συγκεντρώσεις τοξικών που αναφέρονται στην βιβλιογραφία. Το χρώμιο επιδρά με LC50 27μg/L σε δοκιμές των 48 ωρών (Mahassen M., 2003). Το carbofuran επιδρά με LC50 45μg/L σε δοκιμές των 24 ωρών (Dobsikova R.,2003), ενώ οι συγκεντρώσεις για μόλυβδο ανέρχονται σε LC50 440 μg/L σε 24ωρες δοκιμές (Ahmet Altında, 2008). Οι χρόνοι απόκρισης σε δηλητήρια χημικού πολέμου (όπως τα sarin, cyclosarin, tabun, tabun) είναι οι μόνοι, που αναφέρονται στην βιβλιογραφία ως εξαιρετικά σύντομοι (2 – 360 λεπτά) (Green U.,2003).

Οι δοκιμές ξεκίνησαν με την επίδραση διαλύματος (10L) υδραργύρου δόσης 1μg/L, που αποτελεί το ανώτατο νομοθετικό επιτρεπτό όριο ανίχνευσης του στο νερό. Με την παρέλευση 300 λεπτών επίδρασης υδραργύρου, η δειγματοληψία επανήλθε στην τροφοδοσία του ανεπεξέργαστου νερού (Canadian water quality guidelines, 2003). Ο κίτρινος προειδοποιητικός συναγερμός σήμανε μετά από 340 λεπτά από την έναρξη της δοκιμής και ο κόκκινος συναγερμός μετά από 360 λεπτά, χωρίς να αφανιστούν οι *Daphnia*. Για την δόση των 1000 μg/L, μετά από 210 λεπτά το 50% της *Daphnia* ήταν αδρανοποιημένο και σε ένα χρονικό διάστημα των 270 λεπτών όλα τα άτομα *Daphnia* ήταν νεκρά.

Πίνακας 1: συσχέτιση της επίδρασης διαλυμάτων τοξικού υδραργύρου με τον χρόνο απόκρισης των *Daphnia* και με την 50% και 100% απενεργοποίηση του πληθυσμού.

Τοξικό διάλυμα (10L)	Συγκέντρωση (mg/L)	Κίτρινος συναγερμός (min)	Κόκκινος Συναγερμός (min)	50% απενεργοποίηση (min)	100% απενεργοποίηση (min)
Hg	0.001	340	360	-	-
	0.01	320	360	-	-
	0.1	180	220	360	480
	1	170	180	210	270



Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας  
 Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο *Daphnia* Toximeter.



Εικόνα 5: γραφήματα της ενεργοποίησης συναγερμού, λόγω επίδρασης 1000μg/L τοξικού Hg στα άτομα *Daphnia* του οργάνου Daphnia Toximeter bbe.

Η θανατηφόρα επίδραση της φαινόλης συνέβη με την επίδραση τοξικού διαλύματος (10L) δόσης 1mg/L με την παρέλευση 50 λεπτών επίδρασης τοξικής ουσίας (Lucia Guilhermino, 2000). Ο κίτρινος προειδοποιητικός συναγερμός σήμανε μετά από 8 λεπτά από την έναρξη της δοκιμής και ο κόκκινος συναγερμός μετά από 10 λεπτά, με αποτέλεσμα να αφανιστούν το 50% της *Daphnia*.

Πίνακας 2: συσχέτιση της επίδρασης διαλυμάτων φαινόλης με τον χρόνο απόκρισης των *Daphnia* και με την 50% και 100% απενεργοποίηση του πληθυσμού.

Τοξικό διάλυμα (10L)	Συγκέντρωση (mg/L)	Κίτρινος συναγερμός (min)	Κόκκινος Συναγερμός (min)	50% απενεργοποίηση (min)	100% απενεργοποίηση (min)
PhOH	0.001	-	-	-	-
	0.01	180	200	-	-
	0.1	120	130	-	-
	1	8	10	10	50



Εικόνα 6: γράφημα της ενεργοποίησης συναγερμού, λόγω επίδρασης 1000μg/L φαινόλης στα άτομα *Daphnia* του οργάνου Daphnia Toximeter bbe.

#### 4. Βιβλιογραφία.

Βαλαβανίδης Αθ., Βλαχογιάννη Θ., “Δοκιμασίες τοξικότητας και οικοτοξικότητας σε υδρόβιους οργανισμούς”, Εγχειρίδιο Εργαστηρίου Χημείας Περιβάλλοντος, Τμήμα Χημείας, Καποδοστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2010, Αθήνα.

Ahmet Altında, Mehmet Borga Ergönül, Sibel Yigit and Özge Baykan, “The acute toxicity of lead nitrate on *Daphnia magna* Straus”, African Journal of Biotechnology Vol. 7 (23), pp. 4298-4300, 3 December, 2008.

BBE, Basic Manual for the bbe Daphnia Toximeter, Version 2.0.2.8 E1; June 2003.

BBE, Detailed Manual for the bbe Daphnia Toximeter (Annotations and Explanations to operating and software), Version 2.0 E1; June 2004.

BBE, Fundamental Manual for the bbe Daphnia Toximeter (Annotations and explanations to fundamental and theoretical aspects of toxic effects to *Daphnia magna*), February 2005.

BBE, Manual for the Water Conditioner, Version 2.0 E3, 09/08, 2005.

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας

Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο Daphnia Toximeter.

Benoit Roig, Ian J. Allan, and Richard Greenwood, SWIFT-WFD, Screening methods for Water data Information in support of the implementation of the Water Framework Directive, «A toolbox of existing and emerging methods for water monitoring under the WFD», 2003.

Canadian water quality guidelines for the protection of aquatic life, “inorganic mercury and methyl mercury”, 2003.

Dobsikova R., “Acute toxicity of carboruran to selected species of aquatic and terrestrial organisms”, Plant Protect Sci, volume 39, 103-108, 2003.

EPA/600/R-05/156, “Technologies and Techniques for Early Warning Systems to Monitor and Evaluate Drinking Water Quality: A State-of-the-Art Review”, August 25, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Office of Science and Technology, Health and Ecological Criteria Division, 2005.

Gaosheng Zhang, Linlin Chen, Yuedan Liu, TaeSoo Chon, Zongming Ren, Zijian Wang, Jianping Zhao and Yangyong Zhao, “A new online monitoring and management system for accidental pollution events developed for the regional water basin in Ningbo, China”, Water Science & Technology, 64.9, IWA Publishing 2011.

Gunatilaka A. and Diehl P., «A Brief Review of Chemical and Biological Continuous Monitoring of Rivers in Europe and Asia», Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change, Volume II, pp 9-28, 2000.

G. Persoone, R. Baudo, M. Cotman, C. Blaise, K.Cl. Thompson, M. Moreira-Santos, B. Vollat, A. Törökne, T. Han, “Review on the acute *Daphnia magna* toxicity test – Evaluation of the sensitivity and the precision of assays performed with organisms from laboratory cultures or hatched from dormant eggs”, Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, 2009.

ISO 6341:1996/Cor:1998: Water quality -Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) -Acute toxicity test, 1998.

Kaza M., Mankiewicz-Boczek J., Izydorczyk K., Sawicki J., “Toxicity Assessment of Water Samples from Rivers in Central Poland Using a Battery of Microbiotests- a Pilot Study”, J. of Environ. Stud. Vol. 16, No. 1, p.p. 81-89, 2007.

Lechelt, M., Blohm, W., Kirschneit, B., Pfeiffer, M., Gresens, E., Liley J., Holz, R., Lüring, C., Moldaenke C., “Monitoring of surface water by ultra sensitive *Daphnia* Toximeter”, Environmental Toxicology, Symposium Issue 2000, ISTA 9, Vol. 15, 5, pp. 390-400, 2000.

Lucia Guilhermino, Teresa Diamantino, M. Carolina Silva, and A.M.V.M. Soares, “Acute Toxicity Test with *Daphnia magna*: An Alternative to Mammals in the Pre-screening of Chemical Toxicity?”, Ecotoxicology and Environmental Safety 46, 357, Environmental Research, 2000.

Mahassen M. Ghazy and Madlen M. Habashy, Experimental toxicity of Chromium to two freshwater crustaceans; *Daphnia magna* and *macrobrachium rosenberg*”, Egypt J. AquaL BioL & Fish., VolJ, No.3 : 49 - 70 (2693), 2003.

Michels E., Semsari S., Bin C. and De Meester L., «Effect of Sublethal Doses of Cadmium on the Phototactic Behaviour of *Daphnia magna*», Ecotoxicology and Environmental Safety, Volume 47, Issue 3, Pages 261-265, 2000.

Premysl Soldán, «Possible way to substantial improvement of early warning system in the International Odra (Oder) River Basin», Environ. Monit. Assess, 2010.

Green U., H. Kremer<sup>1</sup>, M. Zillmer<sup>1</sup> and C. Moldaenke, “Detection of chemical threat agents in drinking water by an early warning real-time biomonitor” Environmental Toxicology, Volume 18, Issue 6, pages 368–374, December 2003.

Vonder Haar S. S., Krishna E. R., and Haught R. C., “Evaluation of a *Daphnia* biomonitor for realtime dinking water source testing”, Presented at 22nd Annual SETAC Conference, Baltimore, MD, 11/11-15/2001.

Watson S.B., Juttner F. and Koster O., “*Daphnia* behavioural responses to taste and odour compounds: ecological significance and application as an inline treatment plant monitoring tool”, Water Science & Technology, Vol. 55, No 5 pp 23–31, 2007.

WEKNOW: Web-based European Knowledge Network On Water, workshop reports EWG chemical quality 2005.

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας

Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με το όργανο *Daphnia* Toximeter.

Zongming Ren and Wang Z. , “Differences in the behaviour characteristics between *Daphnia magna* and Japanese madaka in an on-line bio monitoring system”, Journal of Environmental Sciences, Volume 22, Issue 5, Pages 703-708, 2010.

Γ. Βασιλαντωνοπούλου, Φ. Μισκάκη, Ε. Λύτρας  
Βιο-παρακολούθηση της ποιότητας του ανεπεξέργαστου νερού της Αθήνας και έλεγχος της τοξικότητας με  
το όργανο Daphnia Toximeter.

5<sup>ο</sup> Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα, 9-10 Μαΐου 2014