

2014 - 2020 Interreg V-A  
Italy - Croatia CBC Programme  
Call for proposal 2019 Strategic

## CoAStal and marine waters integrated monitoring systems for ecosystems proteCtion AnD managemEnt

### CASCADE

Project ID: 10255941

Priority Axis: Environment and cultural heritage

Specific objective: Improve the environmental quality conditions of the sea and coastal area by  
use of sustainable and innovative technologies and approaches

## D2.4.5

Local events (about a total of n. 10 guided  
tours, n. 10 laboratories, n. 10 seminars, n.  
10 workshops, n. 5 scientific training)

PP in charge: All PPs

### Report of Seminars – part 2

Final version

Public document

June, 2023

Project acronym	<b>CASCADE</b>
Project ID number	<b>10255941</b>
Project title	<b>CoAStal and marine waters integrated monitoring systems for ecosystems protection AnD managemEnt</b>
Priority axis	<b>3 - Environment and cultural heritage</b>
Specific objective	<b>3.2 - Contribute to protect and restore biodiversity</b>
Strategic theme	<b>3.2.1 - Marine environment</b>
Word Package number	<b>WP2</b>
Word Package title	<b>Communication activities</b>
Activity number	<b>Activity 2.4</b>
Activity title	<b>Events, Training and Workshops</b>
Partner in charge	<b>All PPs</b>
Partners involved	<b>All PPs</b>



2014 - 2020 Interreg V-A  
Italy - Croatia CBC Programme  
Call for proposal 2019 Strategic

**CoAStal and marine waters integrated monitoring systems for  
ecosystems proteCtion AnD managemEnt  
CASCADE**

Priority Axis: Environment and cultural heritage  
Specific objective: Improve the environmental quality conditions of the sea and coastal area by  
use of sustainable and innovative technologies and approaches

**Event follow up report**

A decorative graphic at the bottom of the page consisting of a thick, wavy blue band that curves upwards from the left and right sides towards the center, creating a sense of movement and depth.

<b>Work Package:</b>	<i>Indicate if:</i> 2. Communication activities
<b>Activity</b>	<i>Indicate if:</i> 2.4 – Events, Training and Workshops
<b>Deliverable:</b>	<i>Indicate if:</i> 2.4.5 - Local events: organized events as defined in the AF (guided tours, laboratories, seminars, workshops, scientific training) and external events. <b>In this deliverable both organized meetings and external events attended by PPs must be included</b>

<b>Project Partner:</b>	Institute of oceanography and fisheries
<b>Name of event:</b>	Info day project CASCADE
<b>Date:</b>	22.09.2021
<b>Event type:</b>	<i>Seminary</i> <i>Organized event</i>
<b>Event venue:</b>	<i>In presence</i>
<b>Short description of the event:</b>	<p>On 22 September 2021 in Metković-Hotel Narona from 9:30 representatives of the Institute of Oceanography and Fisheries and Dubrovnik-Neretva County in the framework of the implementation of the EU project CASCADE held a presentation of projects and project activities in the pilot area in Neretva.</p> <p>Following the lecture, honey plant seedlings were distributed at City Park in Metković as part of the promotional activities of the project.</p> <p>Staff of Public Institution for the management of protected areas gave a presentation on the biodiversity of the estuary.</p>
<b>Speakers speeches, brief summary and conclusion:</b>	<p>After the introductory presentation by the head of Administrative Department for Environmental Protection and Communal Affairs Miho Baće, representatives of the Institute of Oceanography and Fisheries gave presentations entitled:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Metals in the Marine Environment (Jelena Lušić, PhD),</li> <li>• Marine Biotoxins (Ivana Ujević, PhD),</li> <li>• The first appearance of PSP toxins in the bivalves of Croatian Adriatic (Romana Roje-Busatto, M.Sc.)</li> </ul> <p>The participants of the event visited the pilot area.</p>
<b>Role of CASCADE partner in the event:</b>	Presentation of project activities in the P4 (mouth of the river Neretva)
<b>Type of audience/target groups involved:</b>	Stakeholders, citizens

Target groups (AF Section F)	Target groups reached in this event	Details of involved target
General public	24	Croatian citizens
Local, regional and national public authorities	1	Representative from Metković city attended tour
Associations		
NGOs	1	Representative from HBOD non-profit organisation attended Tour.
Education and training organizations as well as universities and research institutes		

### Annexes:

- Photos from events (it is preferable to have few photos where CASCADE logo is visible - on presentation, poster, roll-up, promotional materials etc.),
- Invitation, Agenda, Participation list

### Explanation:

By the end of project, in LIBRARY and TOOL section of project website must upload:

- Reports of all meetings,
- Reports of all events organized (local events, etc.),
- Reports of participation in external events,
- PDF versions of promotional materials,
- Reports with links to websites, media relations and press releases issued.

## Annexe 1:

- Photos from events









**Dubrovačko-neretvanska županija**  
**Upravni odjel za zaštitu okoliša i komunalne poslove**  
**Vukovarska 16, 20 000 Dubrovnik**

**Institut za oceanografiju i ribarstvo**  
**Šetalište I. Meštrovića 63**  
**21000 Split**

Dubrovnik, 14. rujna 2021.

Poštovani,

u suradnji Dubrovačko-neretvanske županije i Instituta za oceanografiju i ribarstvo, a u sklopu provedbe EU projekta CASCADE, pozivamo Vas na predstavljanje projekta koje će se održati u Metkoviću - Hotel Narona, u srijedu, 22.rujna 2021. godine s početkom u 9:30 sati.

CASCADE je projekt u sklopu programa prekogranične suradnje INTERREG Italija – Hrvatska te obuhvaća teme zaštite morskog okoliša i održivog razvoja, s posebnim fokusom očuvanja i obnove ekosustava.

Nakon predstavljanja osnovnih aktivnosti i ciljeva projekta, slijedi obilazak pilot područja u kojem će se sudionici pobliže upoznati sa ekosustavom Ušća Neretve. Više detalja možete pročitati u priloženom dnevnom redu.

Radi situacije s pandemijom COVID-19, događanje će se održati prema svim važećim mjerama i preporukama Stožera Civilne zaštite RH. Broj sudionika je ograničen i potvrda sudjelovanja obvezna, elektronskim putem na e-mail adresu: [vicko.grkes@dnz.hr](mailto:vicko.grkes@dnz.hr) , najkasnije do ponedjeljka 20. rujna 2021.

S poštovanjem,

**Mag.biol. Iva Slade**  
*Upravni odjel za zaštitu okoliša  
i komunalne poslove  
Dubrovačko-neretvanska županija*

**Dr.sc. Ivana Ujević**  
*Laboratorij za plankton i toksičnost  
školjkaša  
Institut za oceanografiju i ribarstvo  
Split*

## DNEVNI RED

### *Interreg Italy – Croatia CASCADE*

Hotel Naron, Trg Kralja Tomislava 1, Metković

**22. rujna 2021**

<b>9:30 – 10:00</b>	<b>Registracija sudionika</b>
<b>10:00 – 10:10</b>	<b>Pozdravna riječ</b> <i>Dubrovačko-neretvanska županija, Institut za oceanografiju i ribarstvo</i>
<b>10:10 – 10:25</b>	<b>Uvodno predstavljanje projekta Cascade</b> <i>Miho Baće, Pročelnik UO za zaštitu okoliša i komunalne poslove Dubrovačko-neretvanske županije</i>
<b>10:25 – 10:40</b>	<b>Predstavljanje aktivnosti projekta Cascade</b> <i>Vicko Grkeš, Viši stručni suradnik UO za zaštitu okoliša i komunalne poslove Dubrovačko-neretvanske županije</i>
<b>10:40 – 10:50</b>	<b>Metali u morskom okolišu</b> <i>Dr.sc. Jelena Lušić, Institut za oceanografiju i ribarstvo</i>
<b>10:50 – 11:00</b>	<b>Pojava PSP toksina u školjkama hrvatskog Jadrana</b> <i>Mr.sc. Romana Roje-Busatto, Institut za oceanografiju i ribarstvo</i>
<b>11:00 – 11:10</b>	<b>Morski biotoksini</b> <i>Dr.sc. Ivana Ujević, Institut za oceanografiju i ribarstvo</i>
<b>11:10 – 11:30</b>	<b>Rasprava i zaključci</b>
<b>11:30 – 11:50</b>	<b>Pauza za kavu</b>
<b>12:00 – 13:00</b>	<b>Obilazak pilot područja – Delta Neretve uz stručno vođenje Javne ustanove za upravljanje zaštićenim dijelovima prirode Dubrovačko-neretvanske županije</b>
<b>13:00 – 14:00</b>	<b>Radni ručak</b>

**Institut za obnovljive energije i hidroenergijske tehnologije**

Doprinosi obnovljive energije i hidroenergijske tehnologije u okviru projekta IIR projekta CASCADE, postupak koji se odnosi na postrojenje projekta hidroelektrane u Makarskoj-Hrvatska, u vrijednosti od 20 miliona eura, godine u početku u 2020 godini.

CASCADE projekti u okviru programa perspektivne srednje i dugoročne budućnosti – Hrvatska iz osnivača koje obuhvaćaju razvoj i održavanje obnovljive i potpuno obnovljive i potpuno obnovljive tehnologije i obnovljive tehnologije.

Kroz postrojenje obnovljive energije i hidroenergijske tehnologije projekta IIR projekta CASCADE, postupak koji se odnosi na postrojenje projekta hidroelektrane u Makarskoj-Hrvatska, u vrijednosti od 20 miliona eura, godine u početku u 2020 godini.

Radi olakšavanja pandemije COVID-19, objavljuje se saopćenje prema vanjskim objavama i posredstvom Studija Odra za IIR. Ovo saopćenje je općenito podvrgnuto zaštiti osobnih podataka, makar i ako se ne odnose na osobne podatke. Kontaktirajte nas na e-mail adresu [info@iir.hr](mailto:info@iir.hr) – kontaktirajte nas na e-mail adresu 20. rujna 2021.



01/2021 (1/1)

# PROVESTI

aktivnosti promatranja, praćenja i modeliranja u pilot područjima za procjenu recentnog stanja, koje će:

- doprinijeti zaštiti obalne i morske bioraznolikosti,
- usmjeriti uspostavu mjera za obnavljanje ekosustava,
- procijeniti utjecaje ekstremnih događaja na ekosustave pilot područja,
- ukazati kako spriječiti daljnju devastaciju ekosustava u pilot područjima.

# SVRHA

Očuvati, zaštititi i obnoviti prirodna staništa, posebno ugroženih vrsta.

## CILJ

Procjena kvalitete morskih obalnih ekosustava za podršku integriranom upravljanju uz koordinirane i usklađene akcije koje uključuju praćenje, promatranje, modeliranje i upravljanje kako bi se poboljšalo znanje i procijenila ranjivost kopnenog, obalnog i morskog okoliša te ekosustava u Italiji i Hrvatskoj.

## KORIST

Projekt će temeljem rezultata istraživačkih aktivnosti na terenu putem komunikacije s dionicima javnih ustanova, agencija, istraživačkih centara i članica sveučilišta doprinijeti poboljšanju znanja o priobalju i moru. Prikupljeni podatci i protokoli za praćenje značajna su potpora konkretnim akcijama koje se bave ranjivošću okoliša i zaštitom ekosustava na prekograničnoj razini. Zaštita, upravljanje i obnova obalnih ekosustava predstavljat će dobru praksu za prenošenje na područja sa sličnim ekološkim potrebama.



## CASCADE – CoAStal and marine waters integrated monitoring systems for ecosystems proteCtion ANd managemEnt

Projekt u sklopu programa prekogranične suradnje INTERREG Italija-Hrvatska

Inegrirani sustavi nadzora obalnih i morskih voda za zaštitu i upravljanje ekosustavima

## RAZVITI

integrirane sustave praćenja, promatranja i modeliranja primjenjive za projektiranje i provedbu MSP/LSI/ICZM aktivnosti upravljanja te za postupke zaštite i obnavljanja ekosustava u 11 pilot područja.

\*MSP - Pomorsko prostorno planiranje, ICZM - Integrirano upravljanje obalnim područjem, LSI - Interakcija kopno - more

Projekt je sufinancirala Europska unija iz  
Europskog fonda za regionalni razvoj.

Trajanje projekta: 01/01/2020 - 31/12/2022

## PILOT PODRUČJE 4: UŠĆE RIJEKE NERETVE, HRVATSKA

Institut za oceanografiju i ribarstvo  
Dubrovačko-neretvanska županija

OČEKIVANI REZULTAT kroz radni paket 3  
– definirano stanje ekosustava ušća  
Neretve temeljem mjerenja u morskoj  
vodi, sedimentu i morskim organizmima  
primjenjujući:

- kritički pregled i analizu postojećih  
mjerenja,
- detaljan opis okoliša i obilježja  
ekosustava,
- optimalni dizajn integriranih alata za  
nadzor i modeliranje.



[www.italy-croatia.eu/web/cascade](http://www.italy-croatia.eu/web/cascade)  
Kontakti:

Institut za oceanografiju i ribarstvo  
ujevic@izor.hr  
Dubrovačko-neretvanska županija  
vicko.grkes@dnz.hr

## UŠĆE RIJEKE NERETVE I OKOLICA OBUHVAĆAJU KOPNENE, OBALNE I MORSKE VODE

Evaluacija lagune i morskog ekosustava potrebna  
je za održavanje/poboljšanje stanja okoliša i  
očuvanje biološke raznolikosti.

U području delte Neretve je pet zaštićenih  
područja, ornitološki rezervati Pod Gredom, Prud,  
Orepak, ornitološko – ihtiološki rezervat i  
područje ekološke mreže Natura 2000 – Delta  
Neretve i zaštićeni krajolik jezero Desne i jezero  
Kuti.

Ušće je povoljno mjesto za mriještenje riba zbog  
miješanja slatkih i morskih voda. Na životni ciklus  
riba u ovom okolišu utječu osim prirodnih i  
antropogeni čimbenici, kao npr. zamjetne  
poljoprivredne aktivnosti.

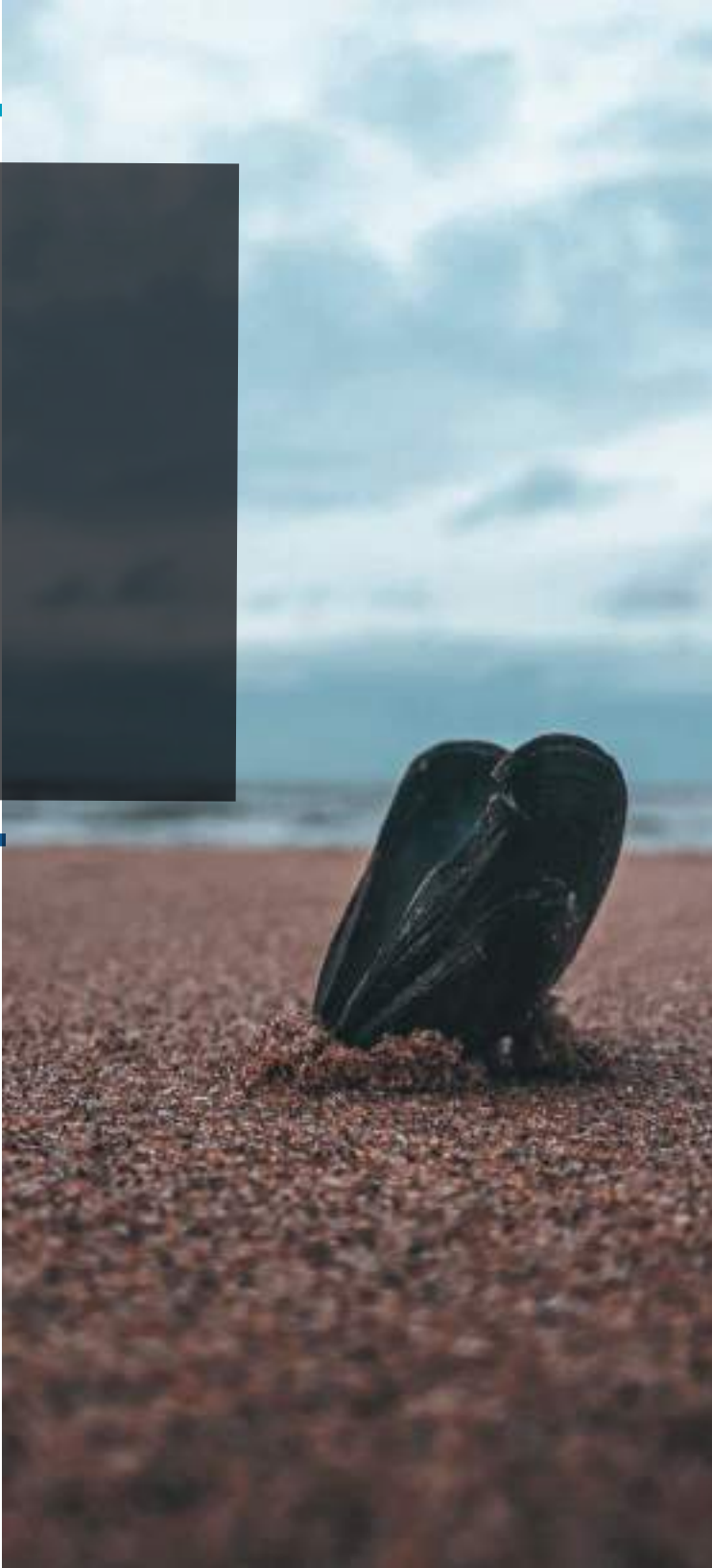
U sklopu aktivnosti interreg projekta CASCADE u  
pilot području ušća Neretve obaviti će se  
uzorkovanje morske vode, sedimenta i morskih  
organizama – dagnje, *Mytilus galloprovincialis*.

Za praćenje učinaka uzrokovanih  
antropogenim djelovanjem na status  
morskog okoliša koriste se bioindikatorske  
vrste koje mogu dati informacije o  
promjenama određenih kontaminanata u  
okolišu tijekom vremena. Školjkaši,  
posebice dagnje su najčešće  
upotrebljavani indikatori zagađenja. Oni  
zauzimaju važnu poziciju u hranidbenom  
lancu, široko su geografski rasprostranjeni,  
relativno dugog životnog vijeka,  
odgovarajućih dimenzija, veličine, mase,  
jednostavno se identificiraju, prikupljaju i  
lako održavaju u laboratorijskim uvjetima.

U uzorcima morske vode analizirat će se otopljeni  
kisik, otopljene hranjive tvari i salinitet.

U uzorcima sedimenta analizirat će se sadržaj  
karbonata, organske tvari i odrediti  
granulometrijski sastav.

U uzorcima sedimenta i dagnji analizirat će se na  
metali u tragovima, organski zagađivači  
(policiklički aromatski ugljikovodici), dok će se  
PSP, ASP i lipofilni toksini analizirati samo u  
uzorcima dagnji.





**Interreg**  
**Italy - Croatia**  
**CASCADE**

European Regional Development Fund



EUROPEAN UNION

CASCADE – CoAStal and marine waters integrated monitoring systems for ecosystems protection And management

Integrirani sustav praćenja obalnih i otvorenih morskih voda za zaštitu i upravljanje ekosustavima

### ISHODI PROJEKTA CASCADE

- Usklađivanje i koordiniranje mjera za poboljšanje znanja
- Procjena kvalitete i ugroženosti/ranjivosti morskih obalnih ekosustava Italije i Hrvatske
- Obnova staništa ugroženih vrsta
- Podrška integriranom upravljanju
- Objedinjavanje dugogodišnjih istraživanja na terenu
- Dijalog s partnerima iz javnog sektora
- Unaprjeđenje znanja o obalnim ekosustavima

5

aktivnosti obnove staništa ugroženih vrsta u obalnim i prijelaznim ekosustavima

6

integriranih sustava upravljanja

11

pregleda ativnosti praćenja parametara u pilot područjima



Trajanje projekta:  
01/01/2020 - 31/12/2022



Ukupni budžet projekta:  
5.817.547,00 €



ERDF:  
4.944.914,95 €



Proračun Instituta za oceanografiju i ribarstvo:  
465.886,00 €

Projekt je sufinancirala Europska unija iz Europskog fonda za regionalni razvoj.





CASCADE – CoAStal and marine waters integrated monitoring systems for ecosystems proteCtion ANd managemEnt

Integrirani sustav praćenja obalnih i otvorenih morskih voda za zaštitu i upravljanje ekosustavima

Institut za oceanografiju i ribarstvo i Dubrovačko-neretvanska županija u sklopu info dana projekta CASCADE organizira sljedeća predavanja:

- Pregled projekta CASCADE
- Metali u morskom okolišu
- Prva pojava PSP toksina u školjkama hrvatskog Jadrana
- Morski biotoksini

Pridružite nam se na predavanjima koje će se održati 14.09.2021 u Hotelu Naronu, Trg kralja Tomislava 1, Metković s početkom u 9:30 sati.



Trajanje projekta:  
01/01/2020 – 31/12/2022



Ukupni budžet projekta:  
5.817.547,00 €



ERDF:  
4.944.914,95 €

# MORSKI BIOTOKSINI

CASCADE | Partner N. 10 |  
Institute of Oceanography and Fisheries (Split, Croatia)  
dr. sc. Ivana Ujević

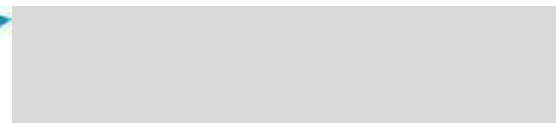
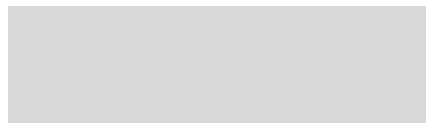


## **CILJ:**

**Procjena kvalitete morskih obalnih ekosustava za podršku integriranom upravljanju uz koordinirane i usklađene akcije koje uključuju praćenje, promatranje, modeliranje i upravljanje kako bi se poboljšalo znanje i procijenila ranjivost kopnenog, obalnog i morskog okoliša i ekosustava u Italiji i Hrvatskoj.**

# Pilot područje:

- P4: Neretva river mouth (HR)- IOF; DNC; CMCC

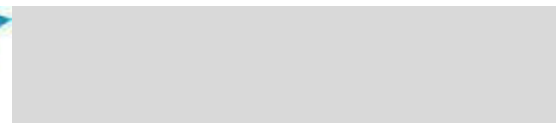
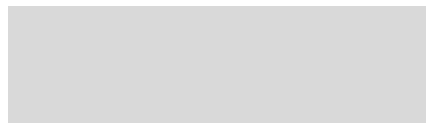


## WP 3 dosadašnje aktivnosti:

- 3.1 Prikaz/pregled postojećih programa praćenja/monitoringa u pilot području – ušće rijeke Neretve – P4
- 3.2 Detaljan opis ekosustava pilot područja
  - Procjena stanja morske vode, sedimenta i morskih organizama u pilot području – ušće rijeke Neretve – P4

## WP 4 aktivnosti:

- 4.1 Provesti ispitivanja odabranih parametara



## Pilot područje 4: ušće rijeke Neretve, IOF, DCN (HR)

Pritisci/utjecaji: - prirodni, kopno

- antropogeni, poljoprivredne aktivnosti.

Istraživanje:

- Uzorci morske vode analizirat će se: otopljeni kisik, otopljene hranjive tvari, salinitet.
- Uzorci sedimenta analizirati će se :sadržaj karbonata, organske tvari, granulometrijski sastav
- Uzorci sedimenta i biote (dagnje) analizirat će se: metali u tragovima i organska zagađivala (policiklični aromatični ugljikovodici), biotoksini (PSP, ASP i lipofilni toksini) u školjkašima

# MORSKI BIOTOKSINI

LT – Lipofilni morski biotoksini

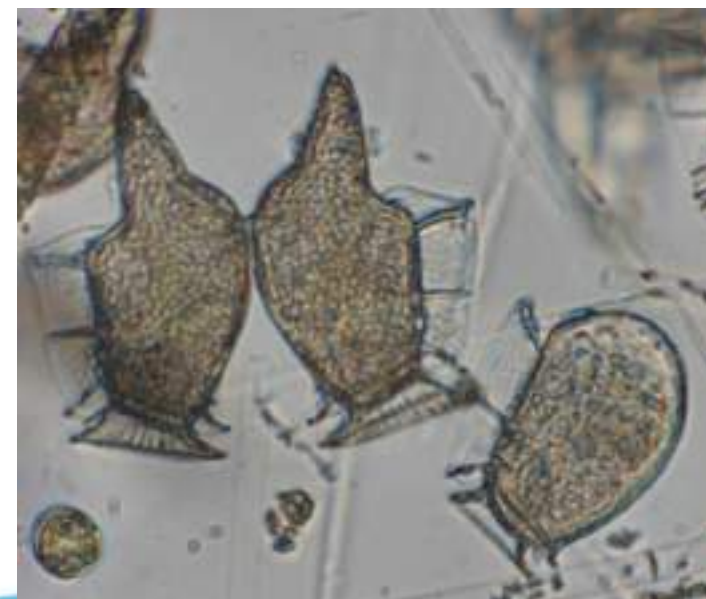
PSP

ASP

Toksično djeluju na ljude, sisavce, ptice, ali nisu toksični za školjkaše



- Fotosinteza
- Proizvodnja organske tvari
  - **Biotoksini**
  - **Ekološki čimbenici**



# TOKSIČNI FITOPLANKTON

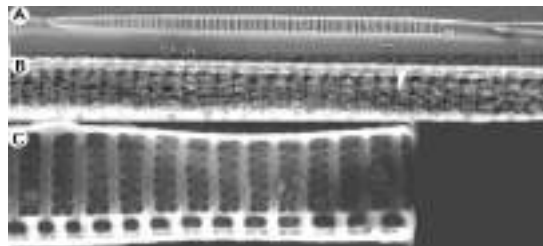
- *Alexandrium*, PSP



- *Dinophysis*, DSP



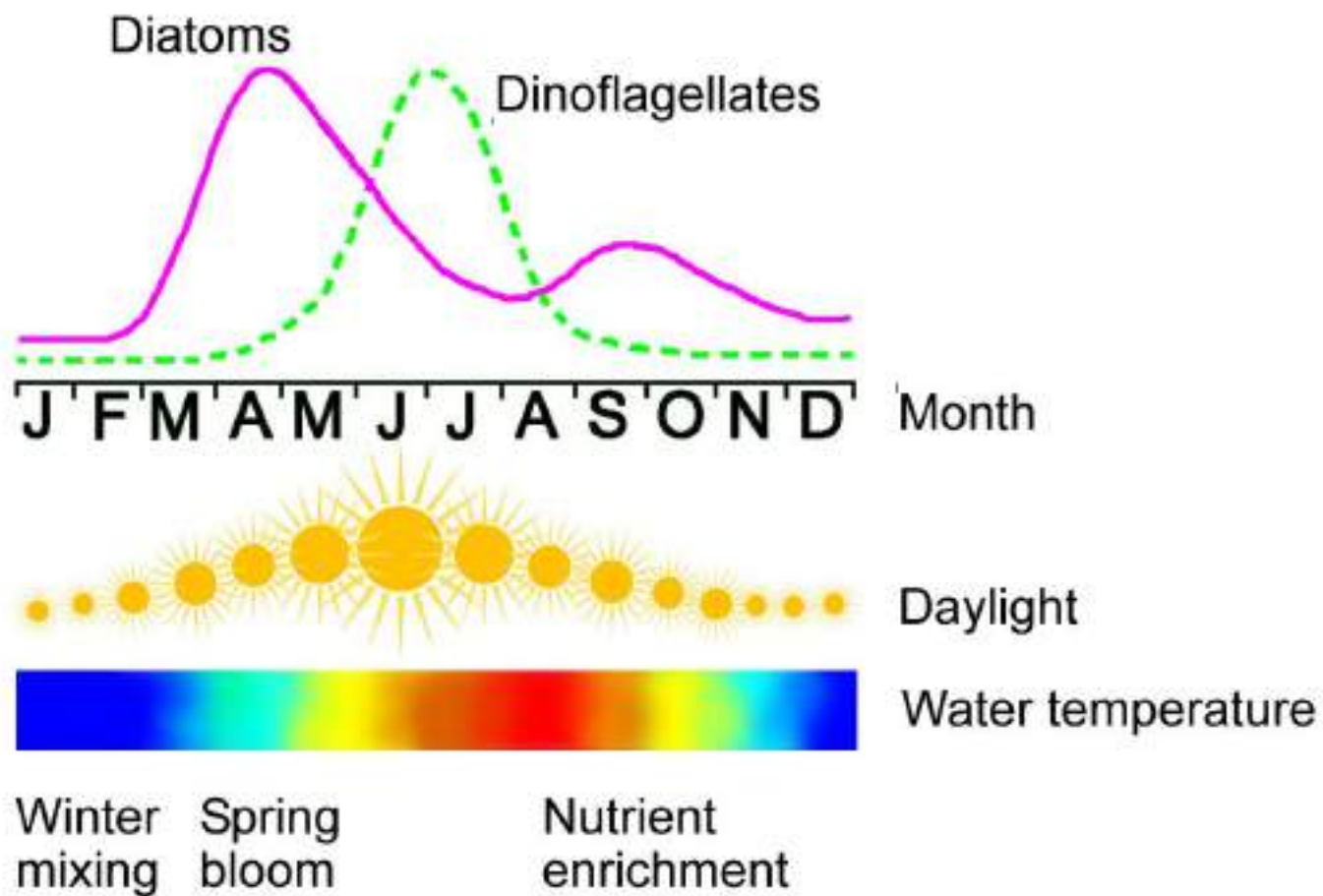
- *Pseudonitzschia*, ASP



# CVJETANJE MORA



“Cvjetanje mora”, rod dinoflagelati - *Lingulodinium polyedrum*, Vranjic





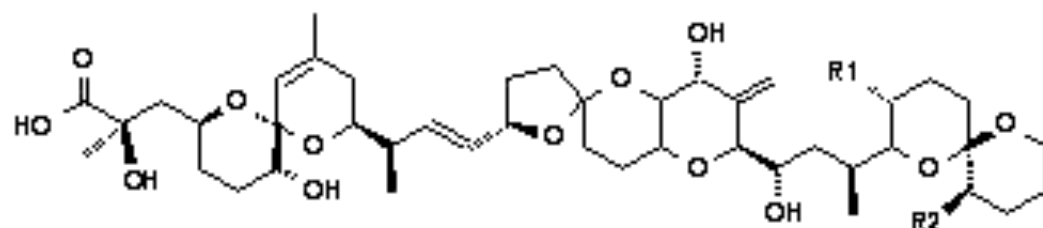
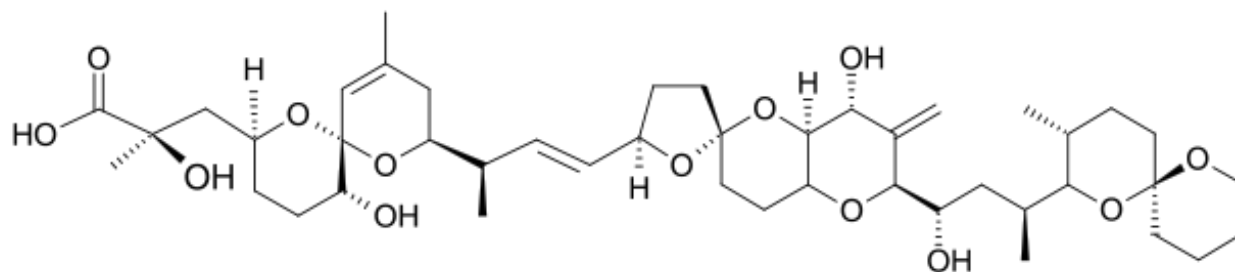
# ŠKOLJKAŠI - bioindikatori



# LIPOFILNA SKUPINA BIOTOKSINA

OA – okadaična kiselina,  $C_{44}H_{68}O_{13}$

DTXs – dinofizistoksini



R1 =  $CH_3$ , R2 = R3 = H

R1 = R2 =  $CH_3$ , R3 = H

R1 = H, R2 =  $CH_3$ , R3 = H

Okadaic acid (OA)

Dinophysistoxin-1 (DTX1)

Dinophysistoxin-2 (DTX2)

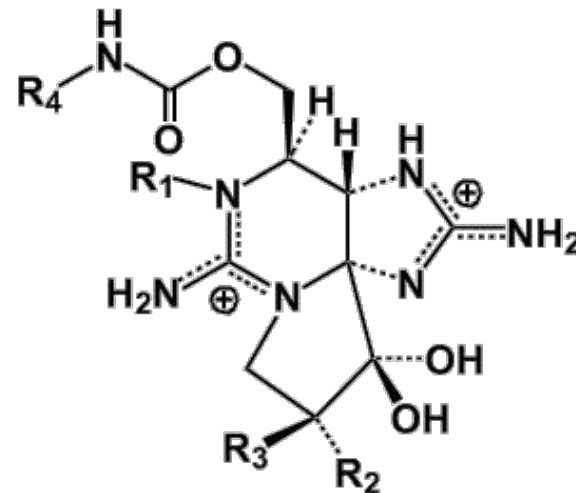
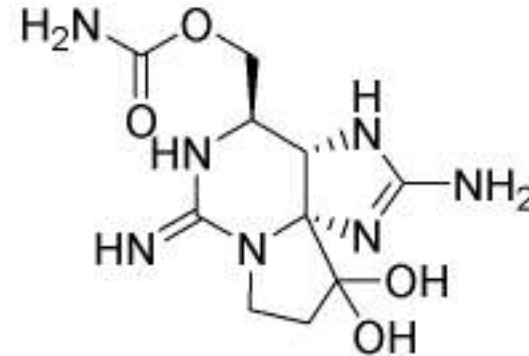
- PTXs, pektenotoksini
- AZAs, azaspiracidi
- YTXs, jesotoksini

# PSP SKUPINA

STX – saksitoksin,  $C_{10}H_{17}N_7O_4$

GTX – goniatoksin

NEO – neosaksitoksin

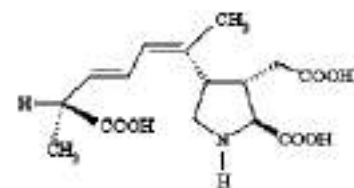


STX	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
STX	H	H	H	H
B1	H	H	H	SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
GTX2	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	H
C1	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
GTX3	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H
C2	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Neo	OH	H	H	H
B2	OH	H	H	SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
GTX1	OH	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	H
C3	OH	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
GTX4	OH	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H
C4	OH	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>

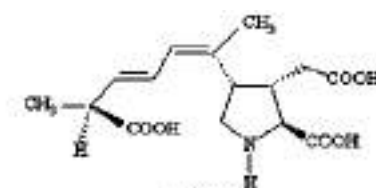
# ASP SKUPINA

DA – domoična kiselina,

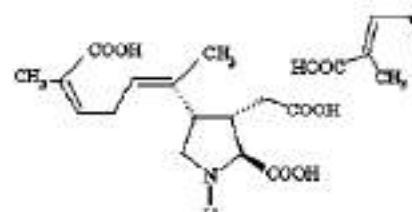
$C_{15}H_{21}NO_6$  i njeni derivati



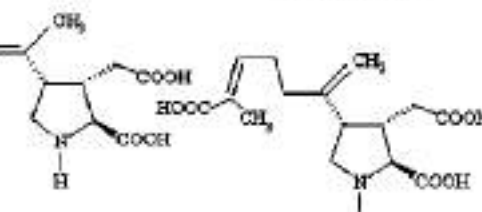
Domoic acid



C(1)-Domoic acid

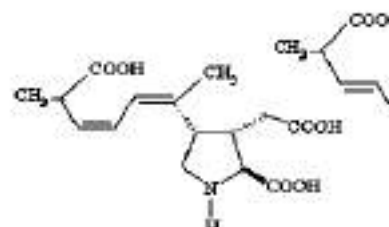
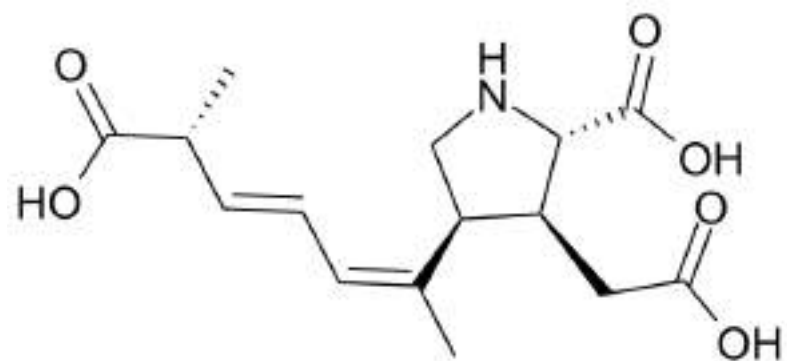


Isodomoic acid A

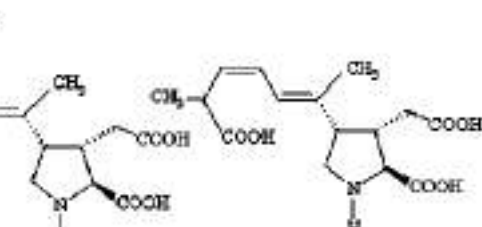


Isodomoic acid B

Isodomoic acid C

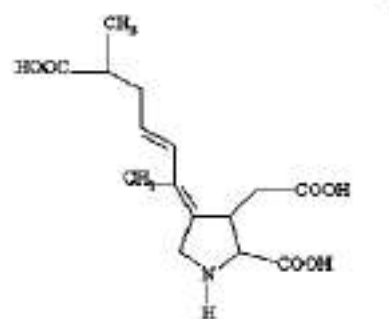


Isodomoic acid D

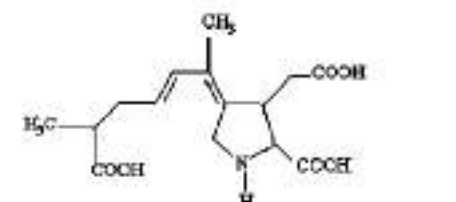


Isodomoic acid E

Isodomoic acid F



Isodomoic acid G



Isodomoic acid H



- 4 smrtna slučaja 1987, u Kanadi uzrokovana domoičnom kiselinom
- 200 uginulih kormorana 1991, California
- >50 uginulih morskih lavova 1998, California

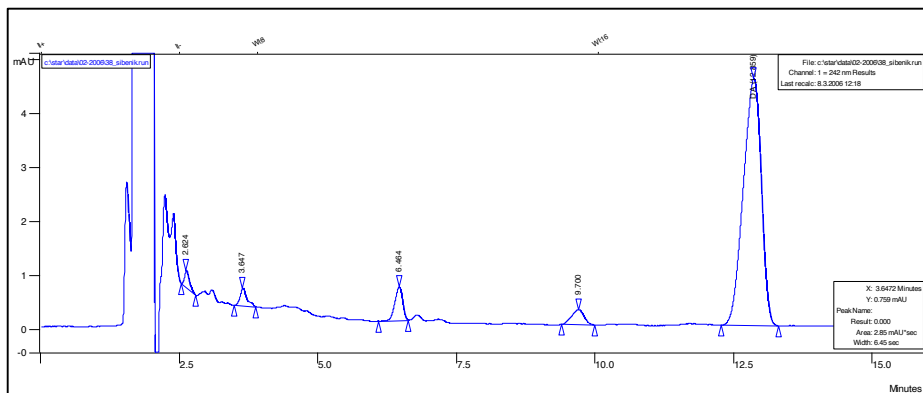


# MAKSIMALNO DOZVOLJENE KOLIČINE

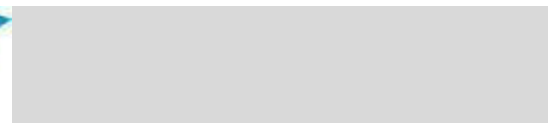
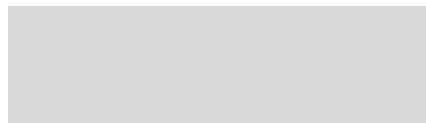
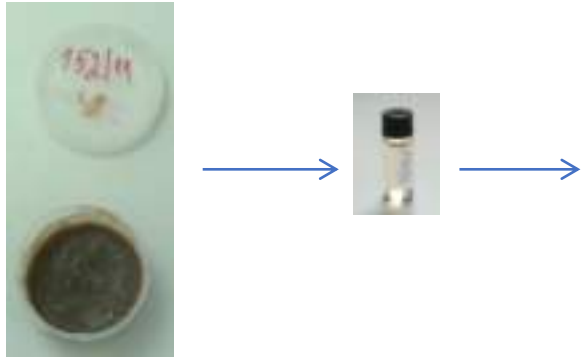
- **DSP**
- **Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla, 160 µg/kg za OA, DTXs i PTXs, 160 µg/kg AZA, te 3,75 mg/kg za YTXs**
- **PSP**
- **Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla, 800 µg/kg**
- **ASP**
- **Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla, 20 mg/kg**



# ASP I PSP, HPLC



# LT, LC – MS/MS





# CONTACT INFORMATION

Partner Name:

**Institute of Oceanography and Fisheries**


Department involved in the project:

**Laboratory of Plankton and Shellfish Toxicity**

**Laboratory of Chemical Oceanography and Sedimentology of the Sea**

Contact person: **Ivana Ujevic**

 Address: **Setaliste Ivana Mestrovica 63, Split, Croatia**

 Email address: **ujevic@izor.hr**

 Phone number: **+385 21408038**

 Website: **www.izor.hr**

Hvala na pozornosti!



# Metali u morskom okolišu

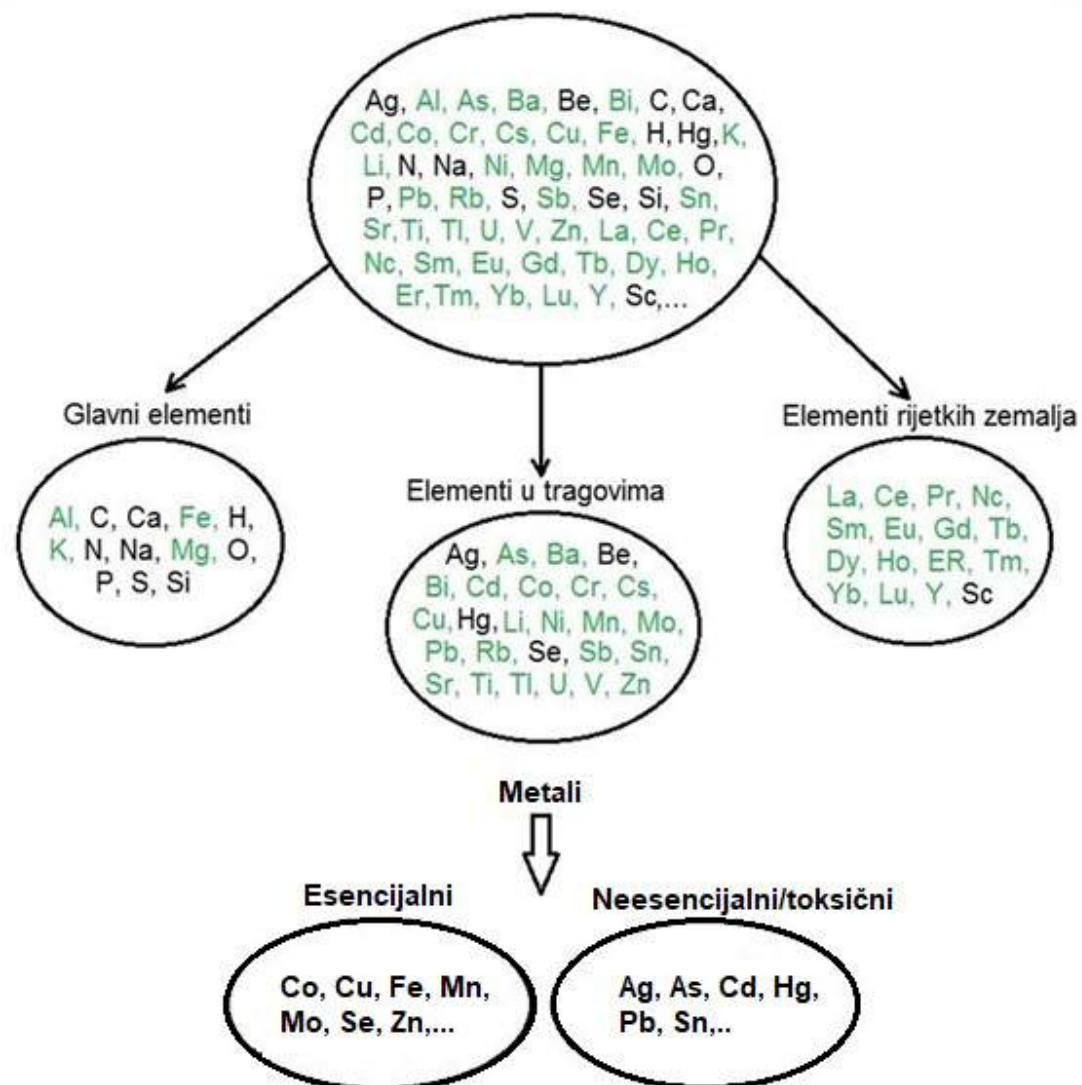
Jelena Lušić

Institut za oceanografiju i ribarstvo

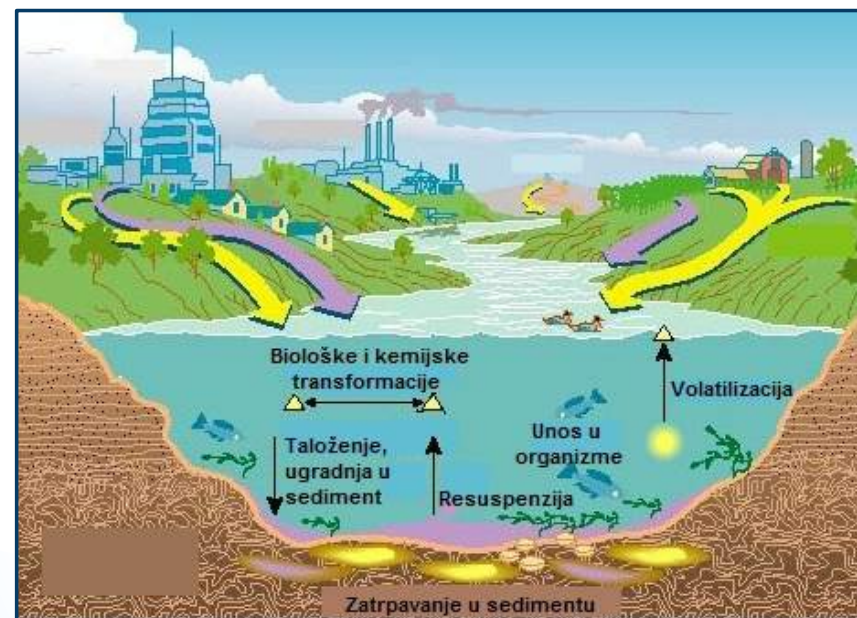
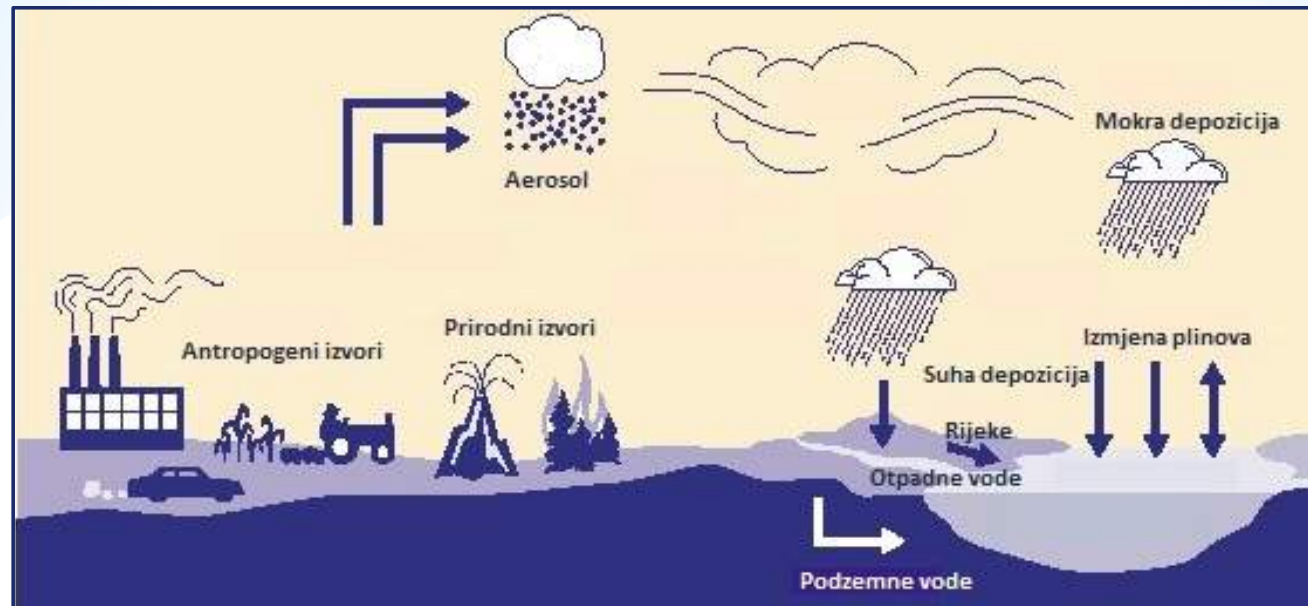
Laboratorij za kemijsku oceanografiju i sedimentologiju

Metković, 22. rujna 2021.

# Podjela elemenata u morskom okolišu

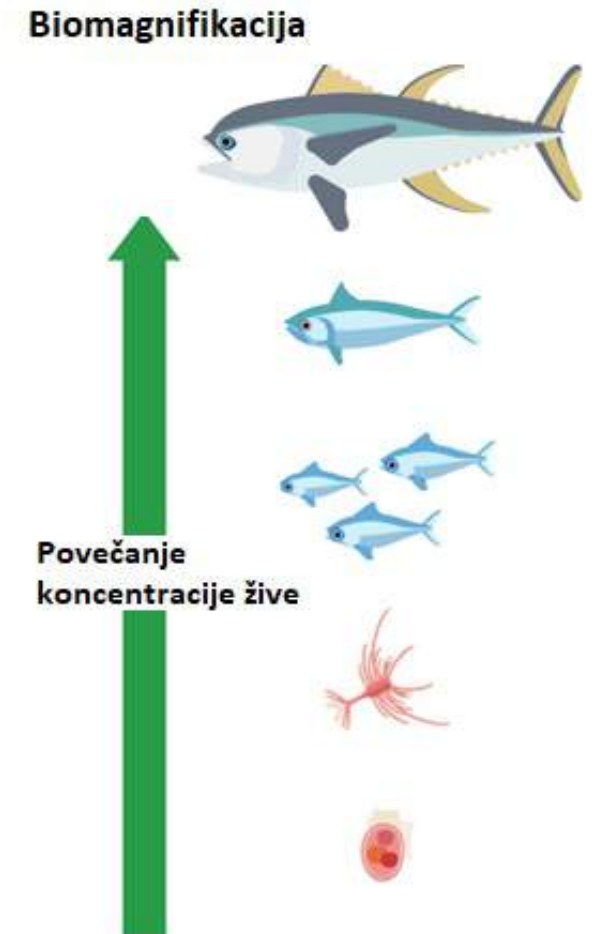
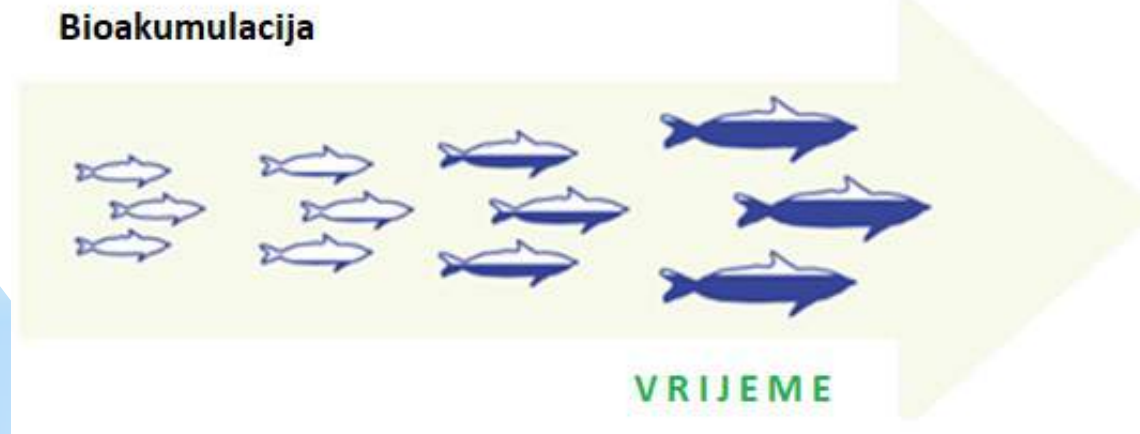


# Unos metala u tragovima u morski ekosustav



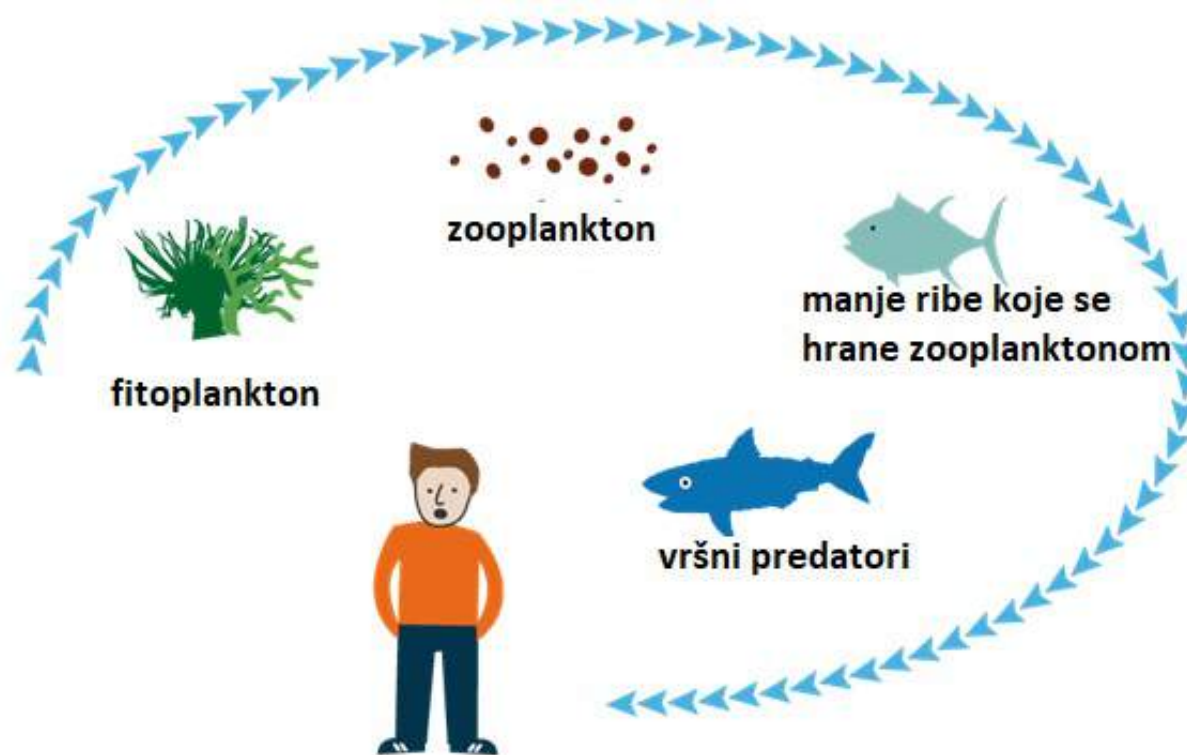
## Svojstva metala u tragovima

- Postojanost u okolišu;
- Nemogućnost biorazgradnje;
- Bioakumulacija;
- Biomagnifikacija (Hg).

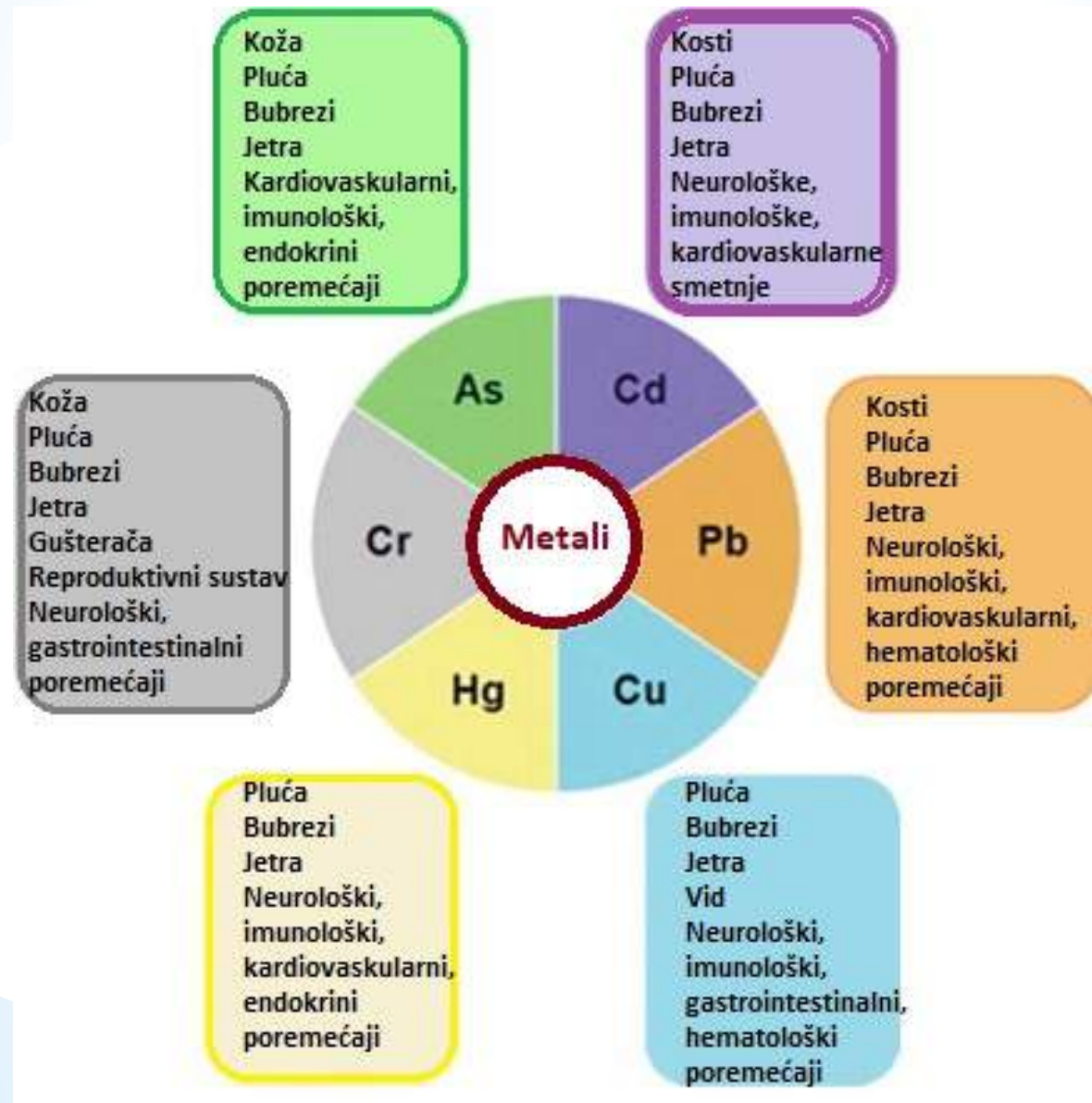


## Posljedice povišenih unosa metala u tragovima u morski okoliš

- Prag toksičnosti – svojstven za pojedini metal i vrstu organizma.
- Koncentracija iznad praga toksičnosti → poremećaj fizioloških funkcija izloženog organizma → ugibanje stanica i organizama → smanjenje bioraznolikosti ekosustava.
- Bioakumulacija u organizmima → hranidbeni lanac → utjecaj na ljudsko zdravlje.



## Posljedice povišenih unosa metala u tragovima u morski okoliš

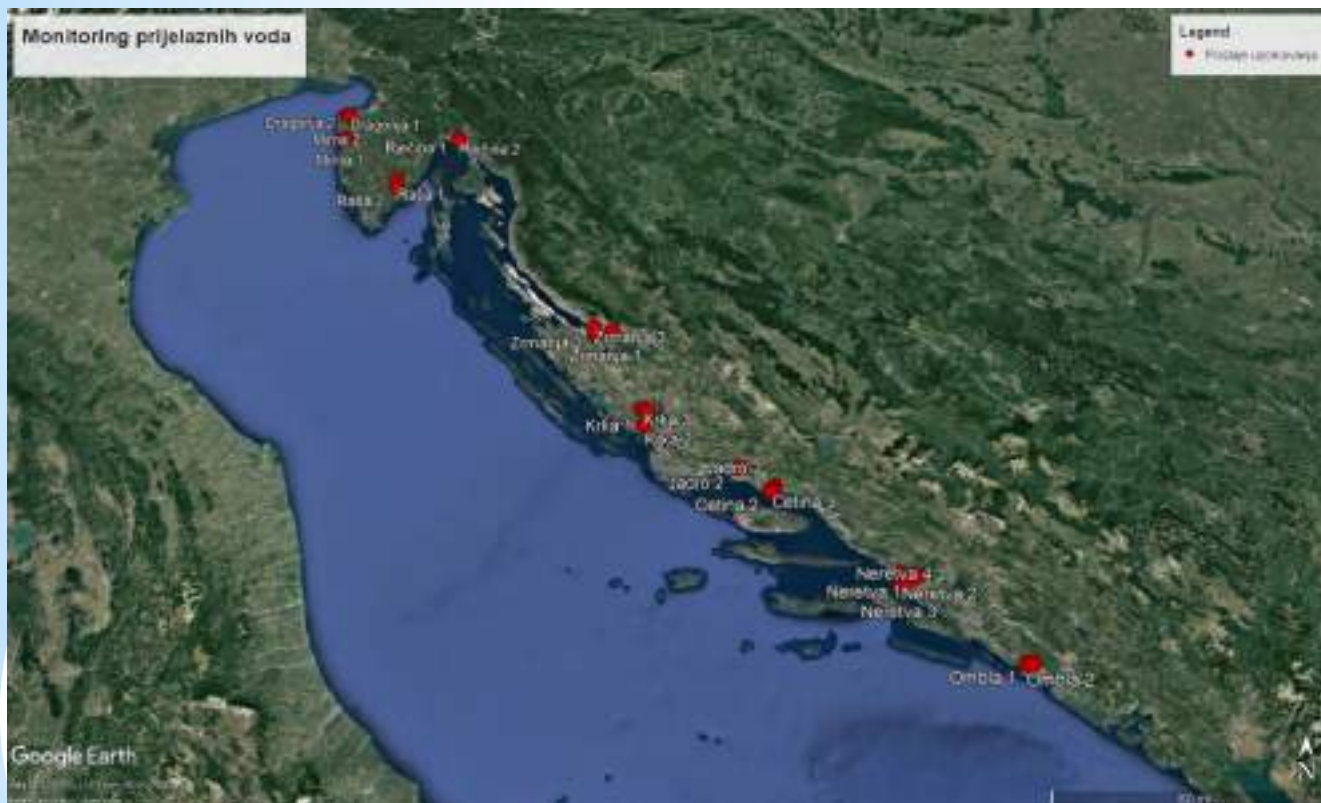




## Praćenje onečišćenja morskog okoliša

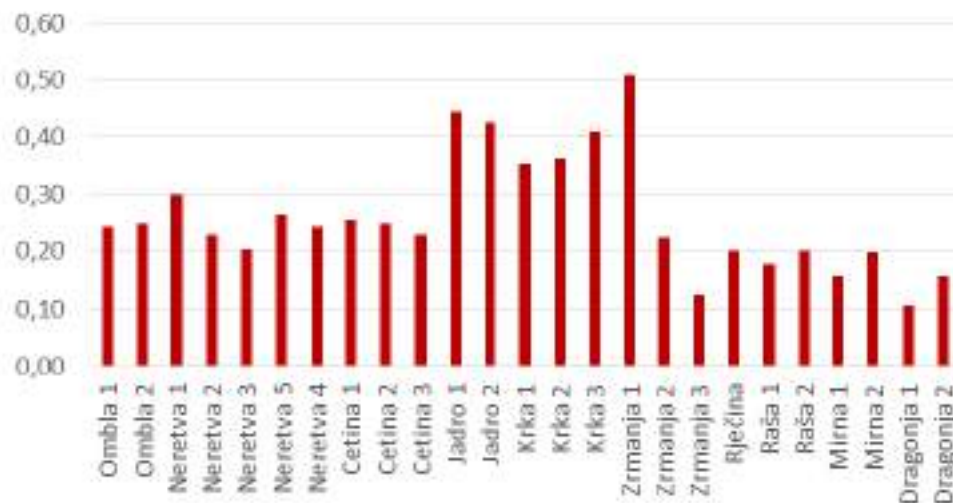


# Praćenje onečišćenja morskog okoliša

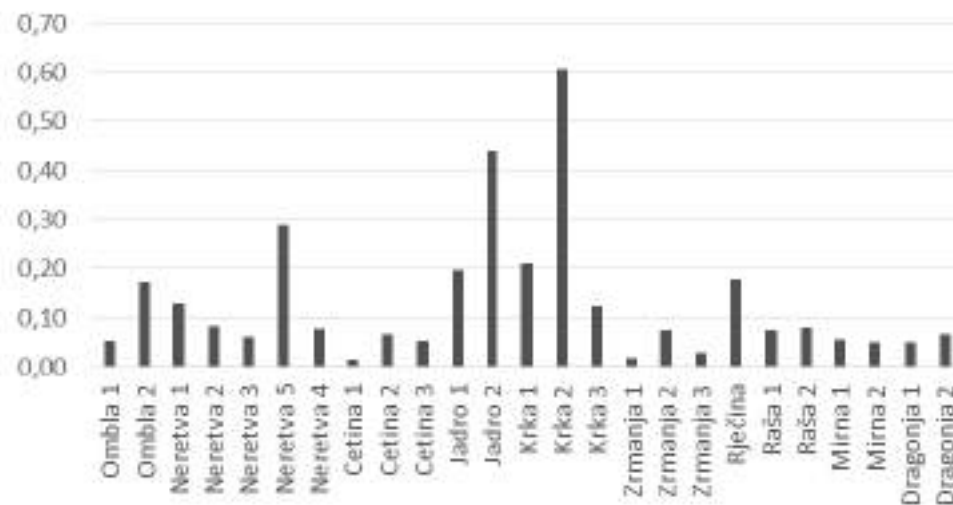


## Sadržaj kadmija, olova i žive u sedimentu

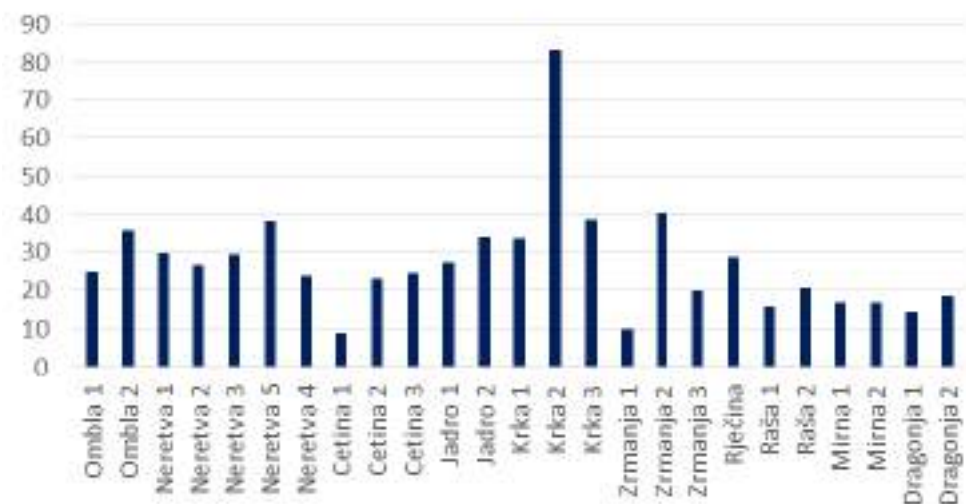
Cd (mg kg<sup>-1</sup>)



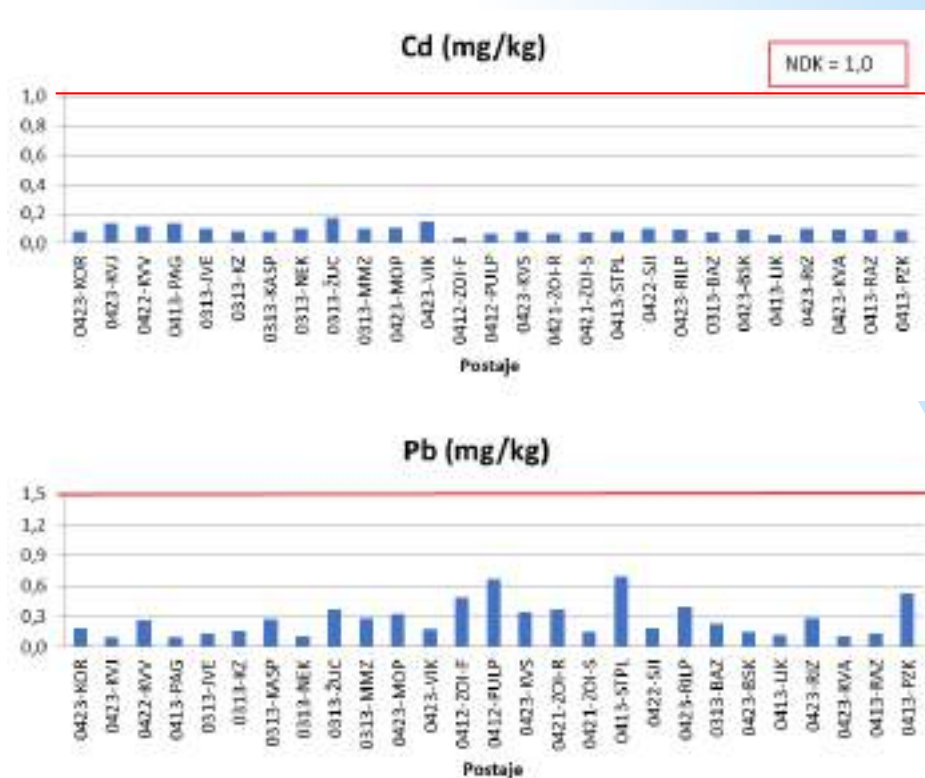
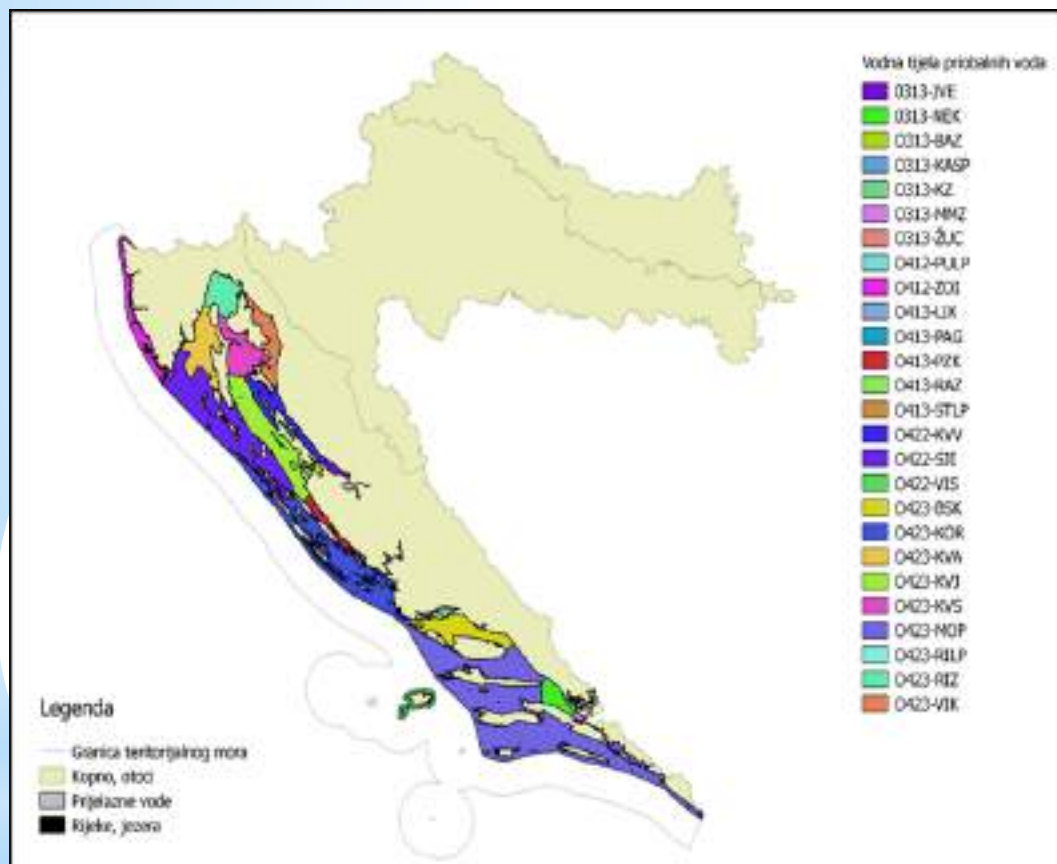
Hg (mg kg<sup>-1</sup>)



Pb (mg kg<sup>-1</sup>)

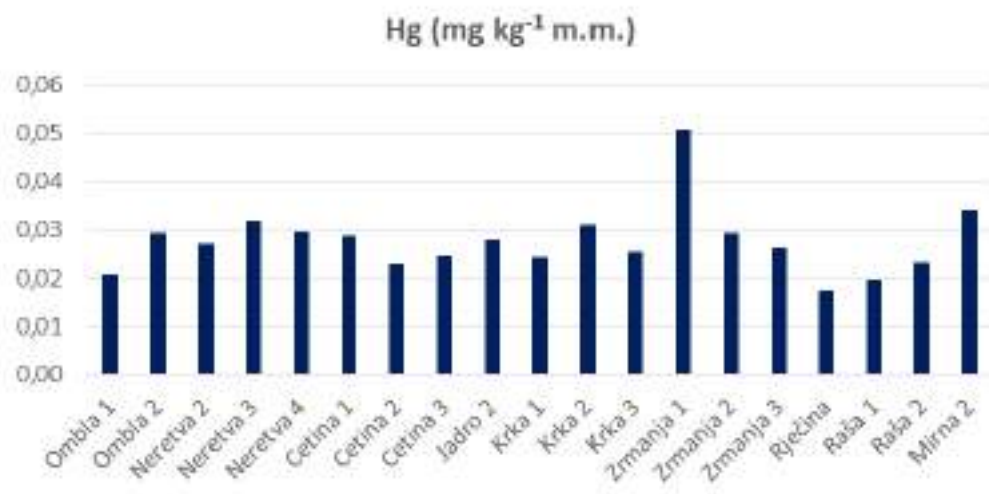


## Sadržaj kadmija i olova u dagnjama

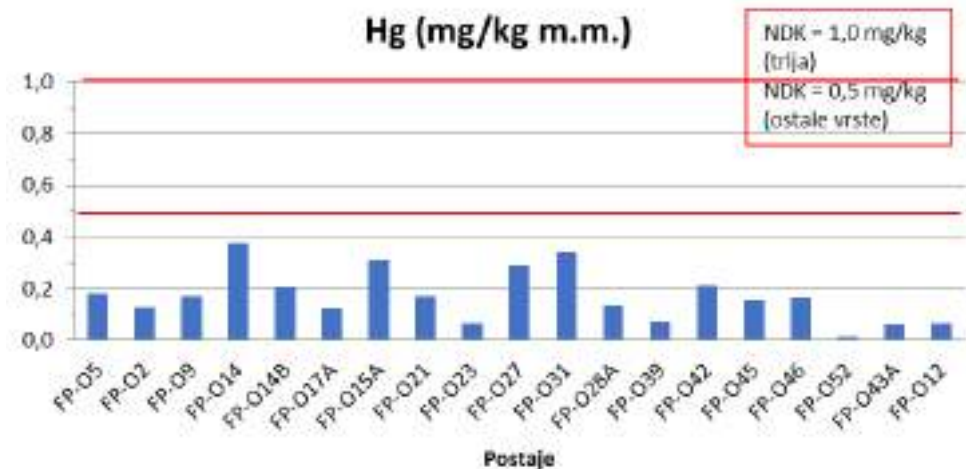


# Sadržaj žive u ribama

## Gavuni



## Komarča, trija, oslić, arbun



## Sprječavanje i remedijacija onečišćenja

- Sustavno praćenje stanja okoliša
- Pročišćavanje otpadnih voda
- Zabrane korištenja štetnih spojeva: olovo u gorivu, TBT u protuobraštajnim premazima
- Razvoj novih tehnologija pročišćavanja i uklanjanja metala iz otpadnih i onečišćenih voda

**Hvala!**

# POJAVA PSP TOKSINA U ŠKOLJKAMA HRVATSKOG JADRANA

CASCADE | Partner N. 10 |  
Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split

mr. sc. Romana Roje Busatto

Metković, 22.9.2021.





# INSTITUT ZA OCEANOLOGRAFIJU I RIBARSTVO- SPLIT

- Osnovan 1930.
- European Science Foundation Marine Board član od 2011.
- Nacionalni referentni centar za more Agencije za zaštitu okoliša od 2012.



Laboratory of Fisheries  
Science and  
Management of Pelagic  
and Demersal  
Resources



Laboratory for  
Aquaculture



Physical Oceanography  
Laboratory



Laboratory of Chemical  
Oceanography and  
Sedimentology of the  
Sea



Laboratory of Plankton  
and Shellfish toxicity



Laboratory of Marine  
Microbiology



Laboratory for Benthos



Laboratory of Ichthyology  
and Coastal Fishery

# LABORATORIJ ZA PLANKTON I TOKSIČNOST ŠKOLJKAŠA

- Nacionalni referentni laboratorij za biotoksine od 2011.
- Akreditiran ISO/IEC 17025:2017 za kvalitativno i kvantitativno ispitivanje sastava fitoplanktonske zajednice u morskoj vodi i ispitivanje sadržaja fikotoksina u školjkašima od 2008.



# LABORATORIJ ZA PLANKTON I TOKSIČNOST ŠKOLJKAŠA

Određivanje:

- Lipofilnih toksina u mekom tkivu školjkaša (DSP, Diarrhetic Shellfish Poisoning; YTX, Yessotoxins)- LC MS/MS metodom (SOP- EURLMB, Vigo)
- Paralitičkih toksina (PSP, Paralytic Shellfish Poisoning)- HPLC-FLD metodom (AOAC 2005.06)
- Amnezičkih toksina (ASP, Amnesic Shellfish Poisoning)- HPLC-UV metodom (Quilliam et al., 1995)
- Sastava fitoplanktonskih zajednica u morskoj vodi- metodom obrnute mikroskopije (HRN EN 15204:2008 -Ütermohl, 1958)

# Paralitičko trovanje školjkašima (engl. *Paralytic Shellfish Poisoning, PSP*)

Dinoflagelati:

- *Alexandrium catenella*, *A. fundyense*, *A. monilatum*, *A. peruvianum*, *A. tamarense*,
- *Pyrodinium bahamense*, var. *Bahamense*, var. *Compressum*
- *Gymnodinium catenatum*

## Toxic Microalgae

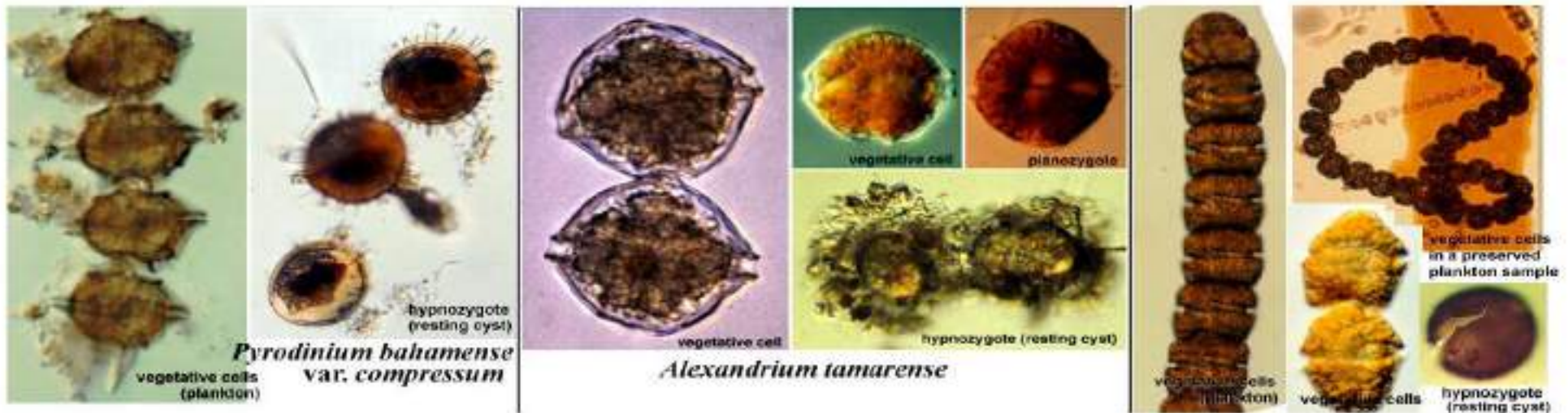
WESTPAC/IOC/UNESCO

Ver. 2.2 2000.1.1



ed. by Yasuwo Fukuyo (ufukuyo@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp)

### Species Responsible for Paralytic Shellfish Poisoning

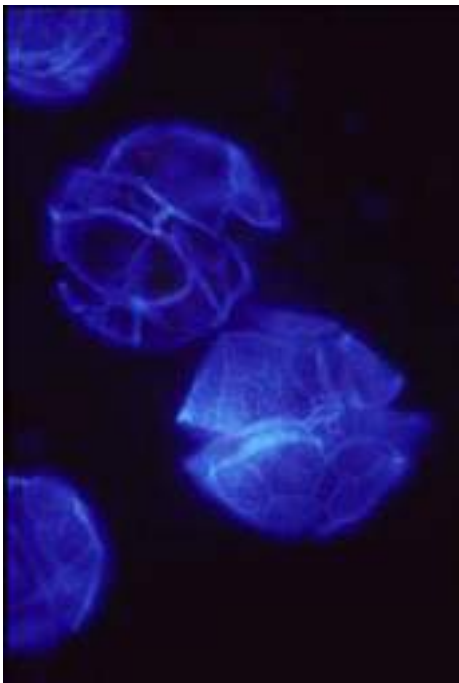


Stanice vrste *Alexandrium* tretirane s Calcofluor (G Usup).

# Paralitičko trovanje školjkašima Paralytic Shellfish Poisoning (PSP)

Saksitoksini- skupina neurotoksina

Simptomi nakon konzumacije kontaminiranih školjaka:



- trnci na usnama i vrhovima prstiju
- utrnuće mišića lica i ekstremiteta
- sniženje krvnog tlaka
- vrtoglavica
- paraliza voljnih mišića
- respiratorni zastoј
- smrt gušenjem unutar 12 h

# PSP u Jadranskom moru

Prve zabilješke:

- pojava *Alexandrium* spp. od 1976.
- pojava toksičnosti školjkaša u SZ Jadranu (Italija) u 1989.
- PSP toksičnost za vrijeme cvatnje *A. minutum* u SZ Jadranu (Italija), 1994.
- niske razine PSP u školjkama kaštelanskog zaljeva u 1995. i 1996.



# Praćenje PSP toksina u tkivu školjkaša

**Commission Regulation (EC) N° 2074/2005 amended by  
Commission Implementing Regulation (EU) N° 2019/627**

PSP toxins content of the whole body or any part edible separately of bivalve molluscs shall be determined using **AOAC official method 2005.06**

**Regulation (EC) 853/2004:**

'live bivalve molluscs... must not contain marine biotoxins in total quantities that exceed 800 µg of saxitoxin per kg for paralytic shellfish poisoning toxins (PSP).



# Uzorkovanje školjkaša na terenu



# Transport školjkaša



# Priprema uzoraka školjkaša u laboratoriju



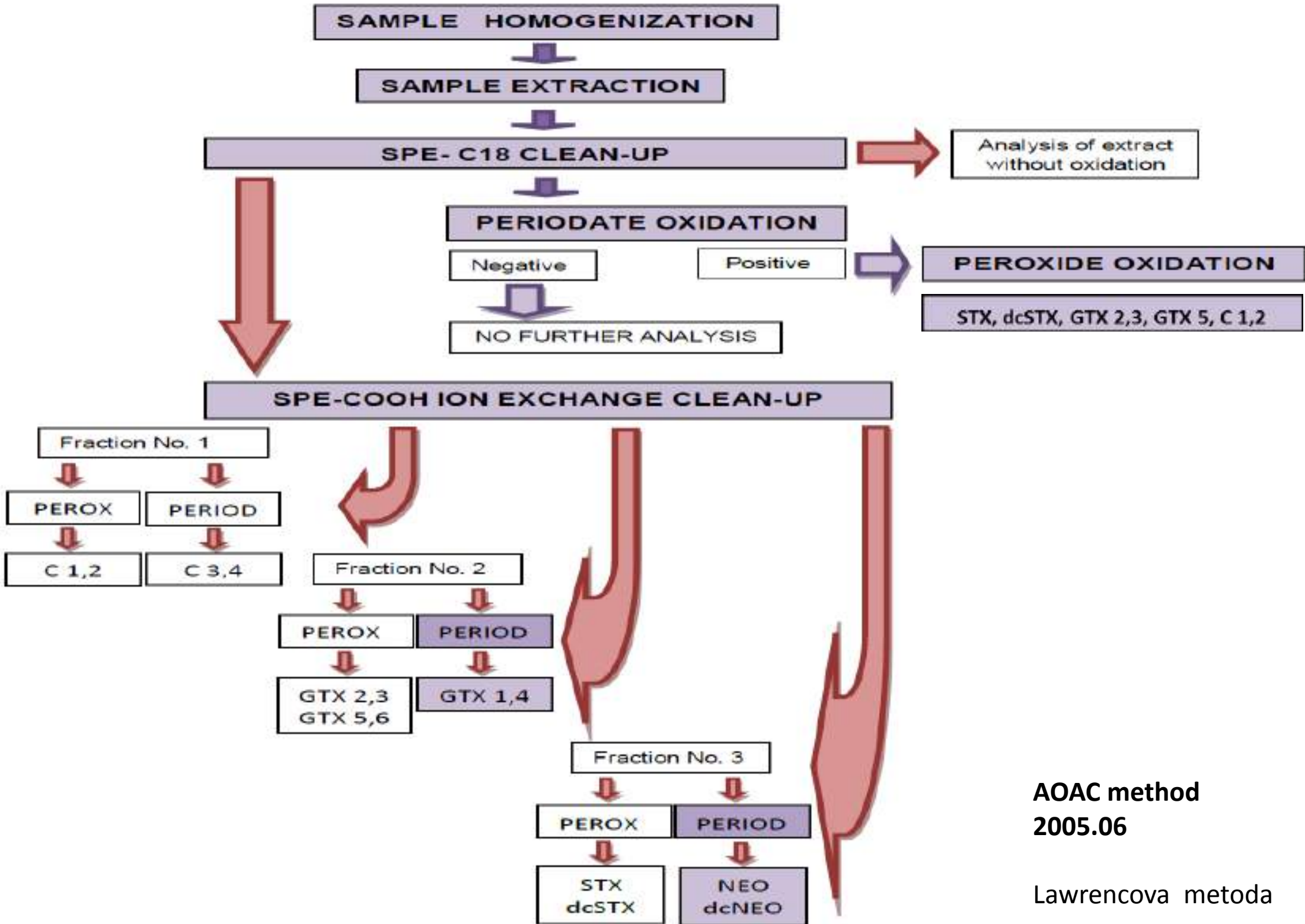
# Homogenizacija i vaganje uzoraka školjkaša



# Visokodjelotvorna tekućinska kromatografija s prekromatografskom oksidacijom i fluorescentnom detekcijom (HPLC-FD)

**“AOAC Official Method 2005.06,  
Quantitative determination of paralytic shellfish poisoning  
toxins in shellfish using prechromatographic oxidation and  
liquid chromatography with fluorescence detection:  
collaborative study”.**

J AOAC Int. 2005 Nov-Dec;88(6):1714-32



AOAC method  
2005.06

Lawrencova metoda

# Ekstrakcija toksina iz mekog tkiva školjkaša



# Ekstrakcija uzorka- SPE i COOH pročišćavanje





# Perjodna i peroksidna oksidacija ekstrahiranog uzorka

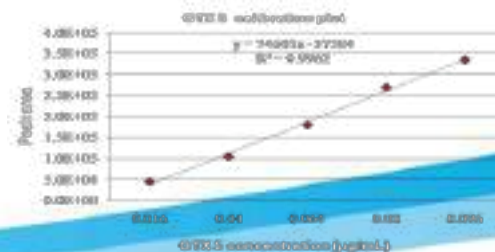
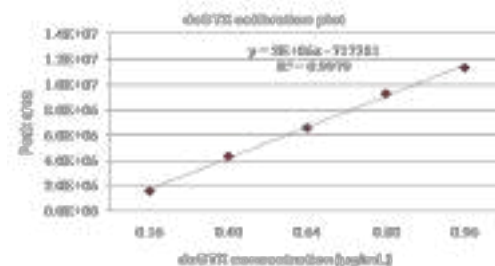
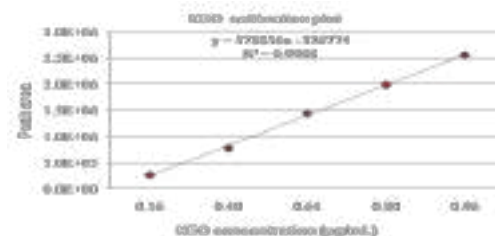
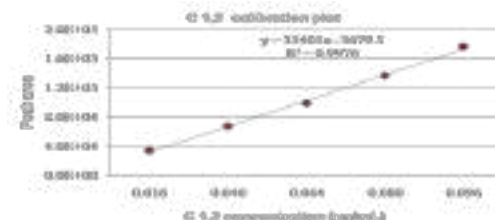
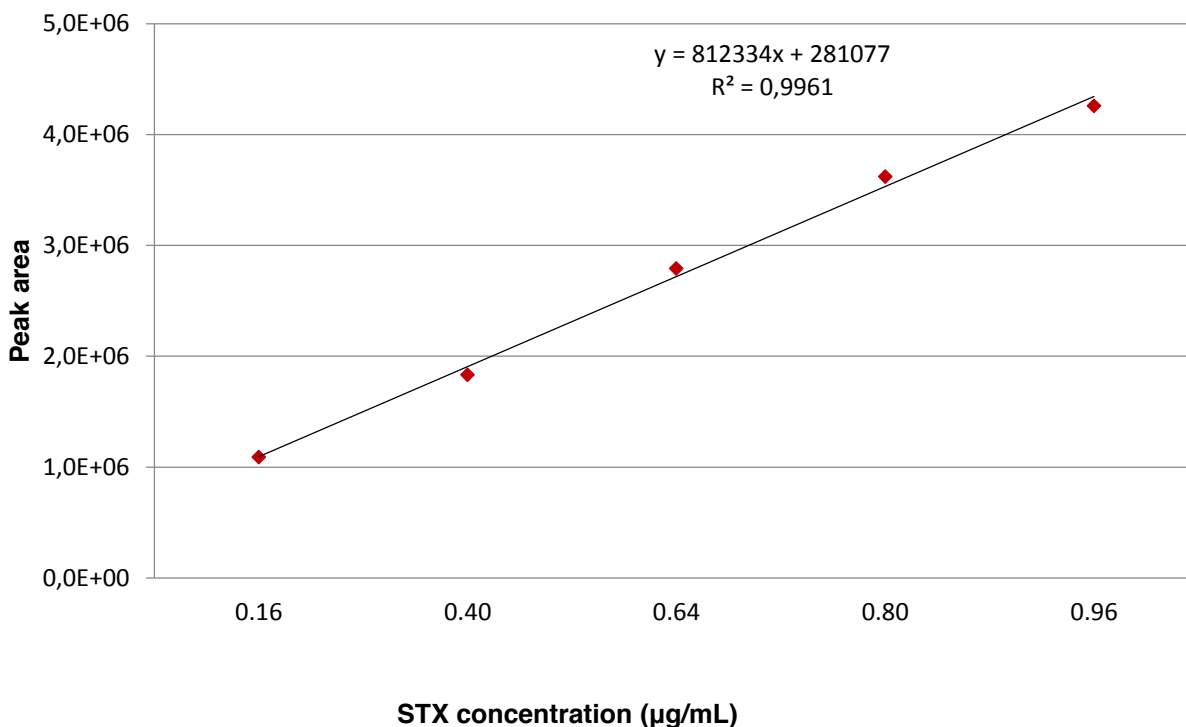


# HPLC-FLD analiza

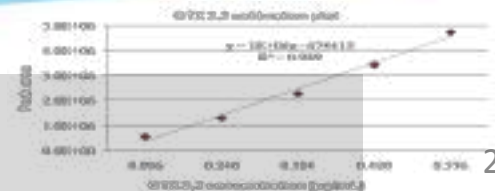
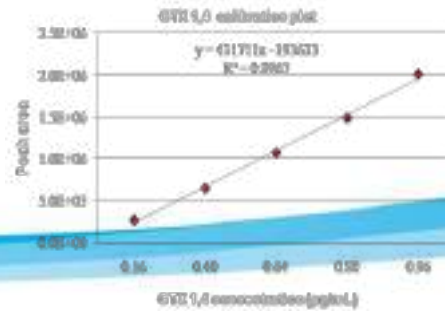
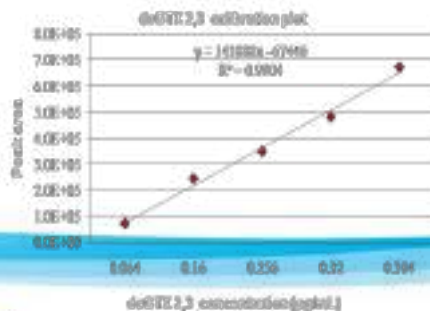
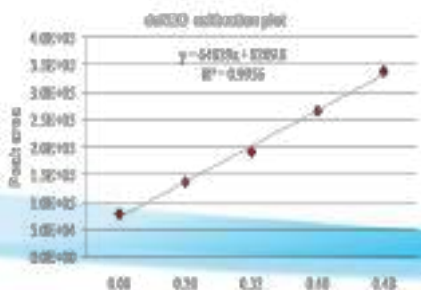


# Kalibracije pojedinačnih PSP standarda

STX calibration plot

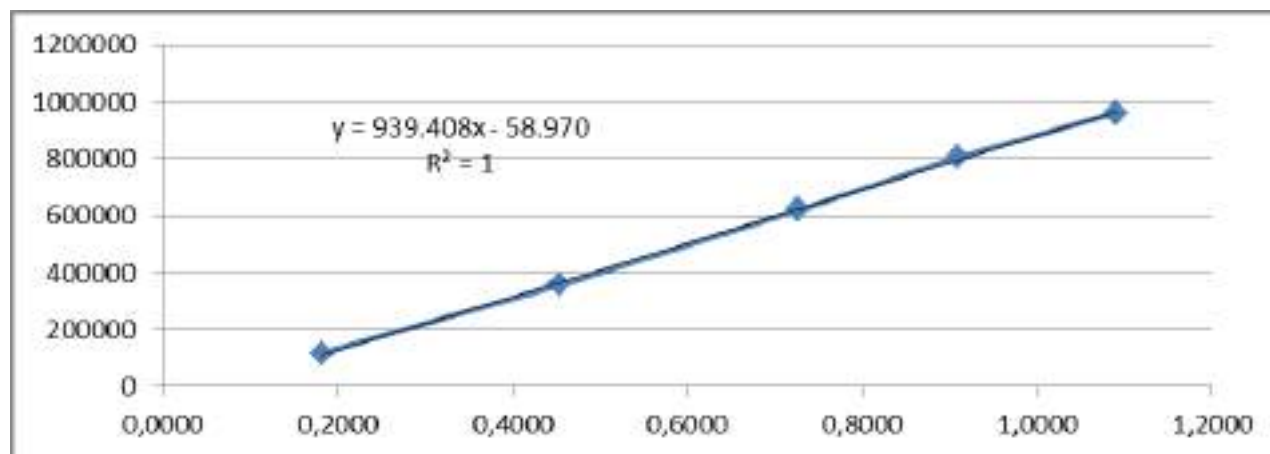


STX concentration (µg/mL)



# Izračun koncentracije pojedinačnih PSP toksina

µg/mL	µmol/L	area
0,064	0,1817	117285
0,16	0,4542	358968
0,256	0,7267	620173
0,32	0,9083	803738
0,384	1,0900	962124



X	y	a	b
µmol/L	AREA	939408	-34509

Y	$X (\mu M) = (Y - b) / a$	$X (\mu M / kg) = X (\mu M) \times 4 / 0.5$	$X (\mu g / kg) = X (\mu M / kg) \times Mr (dcGTX_{2,3})$	$X (\mu g \cdot STX_{eq} / kg) = X (\mu M / kg) \times Mr (STX) \times TEF$
SAMPLE	µM (X)	µM/kg (X)	µg/kg (X)	µg STXeq./kg (X)
34273	0,0993	0,7941	279,75	118,22
48447	0,1143	0,9148	247,90	104,76
38888	0,1042	0,8334	225,84	95,44
290581	0,3721	2,9768	806,71	340,91

# Monitoring biotoksina u školjkašima

Službeno praćenje biotoksina u školjkašima s uzgojnih i izlovnih područja hrvatskog dijela Jadrana počelo:

- 2000.- za skupine lipofilnih (LT) i paralitičkih toksina (PSP)
- 2006.- za amnezičke toksine (ASP)



# Monitoring biotoksina u školjkašima

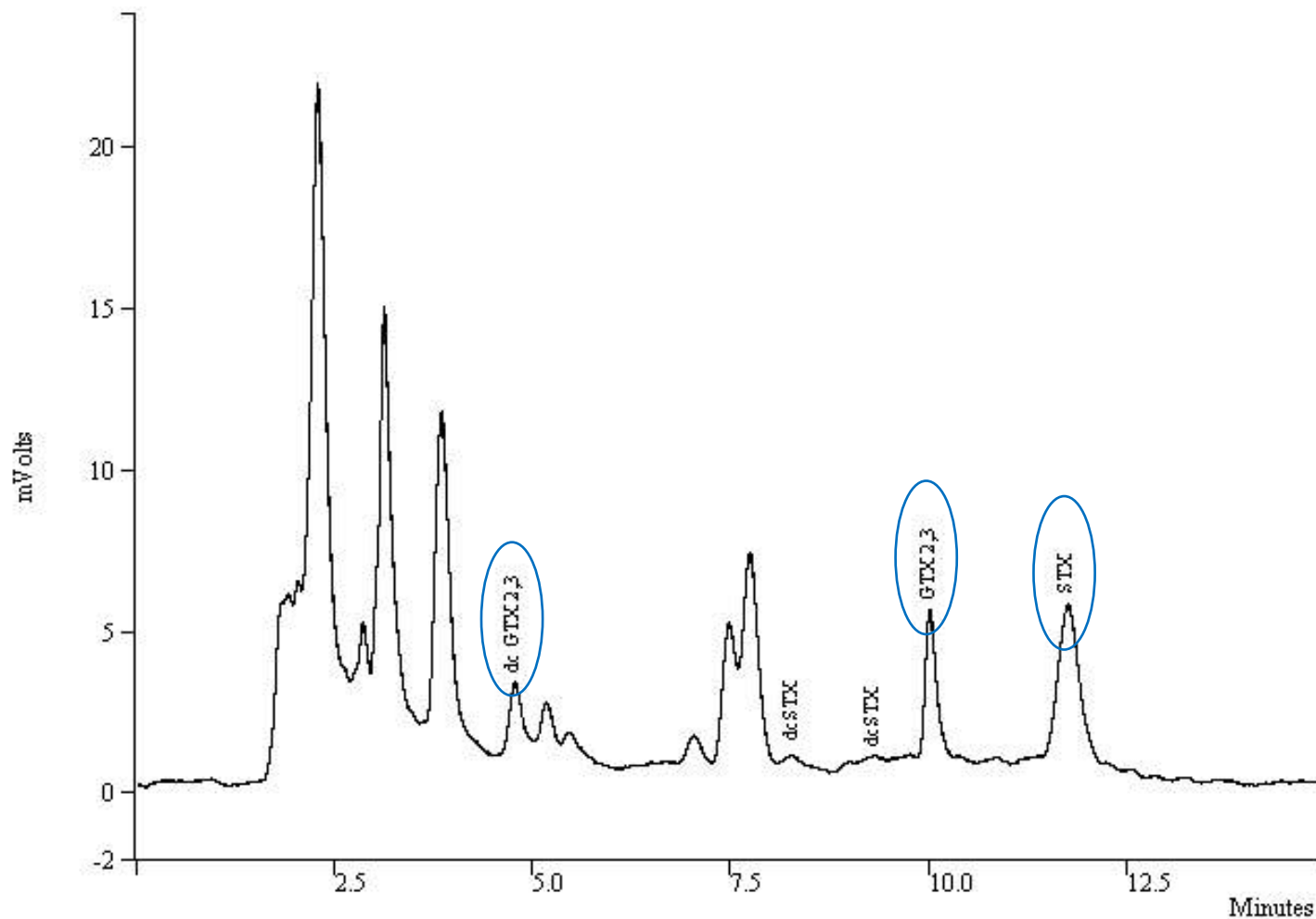
25 točaka  
3 zone Jadrana



# Prva pojava PSP toksičnosti u hrvatskom dijelu Jadrana

- od početka monitoringa, od srpnja 2000. do prosinca 2009. uzorkovano 3408 uzoraka školjaka
- uzorkovane vrste školjaka: *Mytilus galloprovincialis*, *Ostrea edulis*, *Pecten jacobaeus*, *Flexopecten proteus*
- PSP toksini u 12 uzoraka dagnji s južne obale Istre

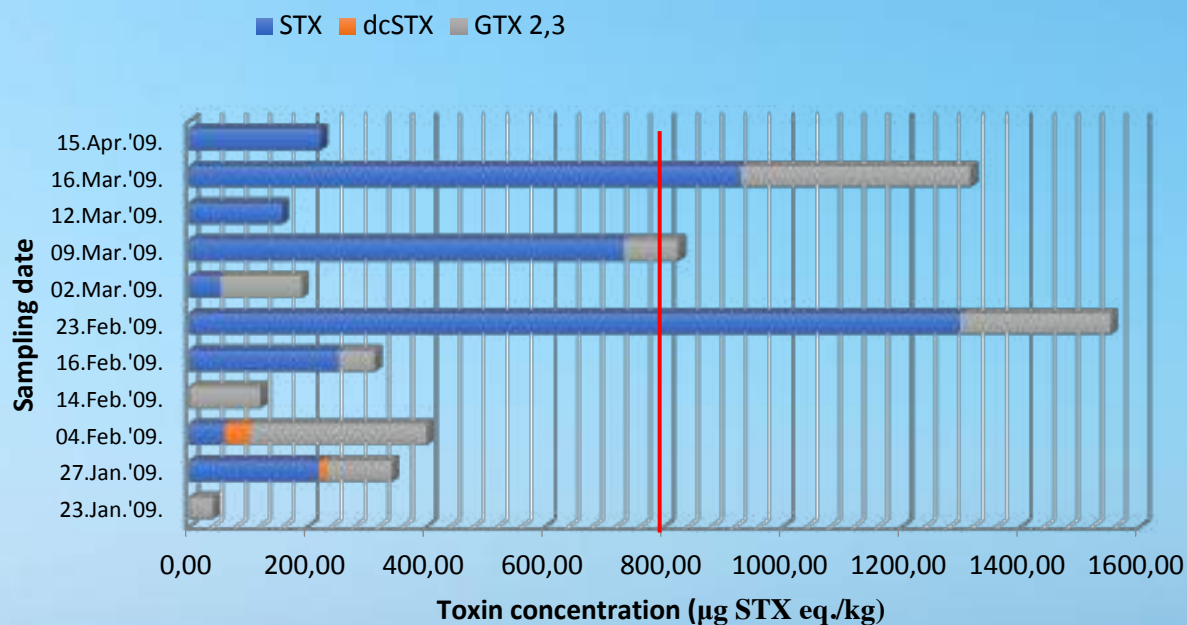
**Kromatogram uzorka dagnje (*M. galloprovincialis*) s postaje S4 (12.3.2009); ekstrakt C-18 nakon periodne oksidacije; sadrži STX, GTX 2,3 i dcGTX 2,3 toksine.**





# Prva pojava PSP toksičnosti u hrvatskom dijelu Jadrana

- PSP toksičnost od siječnja do travnja 2009.
- tri uzorka iznad dozvoljenih 800  $\mu\text{g}$  STX eq./kg
- PSP profil u školjkama: STX, dcSTX, GTX 2,3



Zahvaljujem na pozornosti!