

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ Β. ΚΟΓΙΑΝΝΑΚΚΗΣ**

**« ΘΕΡΜΟ ΝΕΡΟ ΚΑΙ ΔΙΦΑΙΝΥΛΑΜΙΝΗ ΓΙΑ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ  
ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟΥ ΕΓΚΑΥΜΑΤΟΣ ΜΗΛΩΝ, ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ  
ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ »**



**Μεταπτυχιακή Διατριβή**

που υποβλήθηκε στο Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών της  
Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας ως μερική  
υποχρέωση για τη λήψη Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στην  
Κατεύθυνση II «Σύγχρονη Φυτοπροστασία»

**Βόλος, Ιανουάριος 2008**

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών  
Κατεύθυνση II « Σύγχρονη Φυτοπροστασία »  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ & ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ

« ΘΕΡΜΟ ΝΕΡΟ ΚΑΙ ΔΙΦΑΙΝΥΛΑΜΙΝΗ ΓΙΑ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ  
ΤΟΥ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟΥ ΕΓΚΑΥΜΑΤΟΣ ΜΗΛΩΝ,  
ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ »

**Μεταπτυχιακή Διατριβή**  
Εμμανουήλ Β. Κογιαννάκης

Εξεταστική επιτροπή

**Νικόλαος Γ. Τσιρόπουλος**  
Αναπληρωτής Καθηγητής  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας  
Επιβλέπων

**Γεώργιος Δ. Νάνος**  
Αναπληρωτής Καθηγητής  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας  
Μέλος

**Μιλτιάδης Βασιλακάκης**  
Καθηγητής  
Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης  
Μέλος

Βόλος, Ιανουάριος 2008

Σε όσους  
μπουσουλίζουν στις  
λεωφόρους της  
γνώσης

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Στο σημείο αυτό, θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα της μεταπτυχιακής μου διατριβής, Αναπληρωτή Καθηγητή και διευθυντή του Εργαστηρίου Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας της Σχολής Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος κ. Νικόλαο Τσιρόπουλο για την καθοδήγηση και τη βοήθεια που μου προσέφερε σε όλα τα στάδια της διατριβής. Ιδιαίτερες ευχαριστίες εκφράζονται στον Αναπληρωτή Καθηγητή και διευθυντή του Εργαστηρίου Δενδροκομίας της Σχολής Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος κ. Γεώργιο Νάνο για την καθοδήγηση και την βοήθειά του στο πειραματικό μέρος της εργασίας αλλά και στην συγγραφή της εργασίας. Θερμές ευχαριστίες, επίσης, εκφράζονται στον Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης κ. Μιλτιάδη Βασιλακάκη για τις χρήσιμες διορθώσεις του ως μέλος της εξεταστικής επιτροπής.

Επίσης πολλές ευχαριστίες εκφράζονται στον γεωπόνο, υποψήφιο Διδάκτορα κ. Δημήτριο Λύκα για τη συμπαράστασή του και τη βοήθειά του στο πειραματικό μέρος της διατριβής.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 ΜΗΛΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ .....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Ιστορική προέλευση-Σημαντικότητα.....	1
1.1.2 Οικονομική σημασία της μηλοκαλλιέργειας .....	2
1.1.3. Σημασία της μηλοκαλλιέργειας στο ανατολικό Πήλιο και την Αγιά.....	2
1.1.4. Βοτανικά χαρακτηριστικά .....	3
1.1.5. Κλίμα-έδαφος.....	4
1.1.6. Διαμόρφωση δέντρων-Κλάδεμα καρποφορίας .....	4
1.1.7. Ανάπτυξη καρπού-Συγκομιδή.....	4
1.1.8. Ποιότητα καρπών.....	5
1.1.9. Περιβάλλον Οπωρώνα.....	8
1.1.10. Η θρεπτική αξία του μήλου για τον άνθρωπο .....	9
1.1.11. Στάδιο ωρίμανσης.....	10
1.1.12. Πρόγνωση του χρόνου συγκομιδής.....	11
1.1.13. Δείκτες ωρίμανσης για τα μήλα Ζαγοράς Πηλίου.....	13
1.1.13. Εμπορία μήλων.....	14
1.1.14. Συντήρηση με μηχανική ψύξη .....	14
1.1.15. Μεθωρίμανση των φρούτων μετά την αποθήκευση και ζωή στο ράφι .....	21
<b>1.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ     ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ .....</b>	<b>22</b>
1.2.1. Γενικά.....	22
1.2.2. Μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων Φ.Π. ....	23
1.2.3. Αξιολόγηση (validation) των μεθόδων προσδιορισμού υπολειμμάτων .....	24
1.2.5. Δειγματοληψία (sampling) και διατήρηση των δειγμάτων .....	26
1.2.7. Αναλυτική διαδικασία .....	28
1.2.8. Χρωματογραφικές τεχνικές .....	31
1.2.9. Ποσοτική ανάλυση .....	33
1.2.10. Γενικές αρχές για τη μείωση της χρήσης και ανίχνευσης υπολειμμάτων Φ.Π. σε προϊόντα φυτικής προέλευσης .....	34
<b>1.3. ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟ ΕΓΚΑΥΜΑ (SCALD) .....</b>	<b>35</b>
1.3.1. Αίτια του Scald.....	35
1.3.2. Συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη του Scald.....	37
1.3.3. Μέτρα πρόληψης και ελέγχου του Scald.....	38
1.3.4. Αντιμετώπιση του Scald με χημικές ουσίες.....	41
1.3.5. Ποικιλίες και ευαισθησία στο Scald.....	42
<b>1.4. ΔΙΦΑΙΝΥΛΑΜΙΝΗ (DPA).....</b>	<b>44</b>
1.4.1. DPA .....	44

1.4.2. Χαρακτηριστικά και φυσικοχημικές Ιδιότητες DPA .....	44
1.4.3. Μεταβολισμός και συσσώρευση της DPA στον άνθρωπο και τα ζώα .....	45
1.4.4. Μεταβολισμός της DPA σε φυτικούς ιστούς.....	45
1.4.5. Άλλες ιδιότητες της DPA.....	46
1.4.6. Συμπεριφορά & υπολειμματική δράση της DPA .....	47
1.4.7. Ανασκόπηση αναλυτικών μεθόδων (τεχνικών), για τη διερεύνηση και προσδιορισμό υπολειμμάτων της DPA.....	48
1.4.8. Ανίχνευση Υπολειμμάτων DPA σε αμεταχειρίιστα μήλα.....	50
1.4.9. Σκευάσματα και τρόποι εφαρμογής DPA .....	51
1.4.10. Δυσμενείς επιδράσεις της DPA.....	52
1.4.11. Τρόποι μείωσης της έκθεσης σε DPA στους χώρους εργασίας.....	53
<b>1.5. ΧΡΗΣΗ ΘΕΡΜΟΥ ΝΕΡΟΥ ΣΤΙΣ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ...</b>	<b>55</b>
1.5.1. Γενικά.....	55
1.5.2. Επίδραση θέρμανσης στη φυσιολογία των καρπών.....	57
1.5.3. Παραδείγματα εφαρμογής θερμού νερού - αποτελεσματικότητα.....	58
1.5.4. Άλλες τεχνικές με θερμότητα .....	58
1.5.5. Συνδυασμένη χρήση θερμότητας και φυτοπροστατευτικών προϊόντων. ....	59
1.5.6. Παραδείγματα συνδυασμού μεταχειρίσεων με θερμό νερό και φυτοπροστατευτικών προϊόντων. ....	60
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>61</b>
<b>2.1 ΓΕΝΙΚΑ .....</b>	<b>61</b>
<b>2.2. ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ .....</b>	<b>61</b>
<b>2.3. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ.....</b>	<b>63</b>
<b>2.4. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΗΛΩΝ .....</b>	<b>63</b>
2.4.1. Μέτρηση χρώματος .....	64
2.4.2. Σκληρότητα σάρκας .....	65
2.4.3. ΔΣΣ.....	65
2.4.4. Ενεργός οξύτητα.....	65
2.4.5. Ολική οξύτητα.....	65
2.4.6. Δείκτης ωρίμανσης.....	65
2.4.7. Ένταση Scald.....	66
2.4.8. Άλλες παρατηρήσεις.....	66
<b>2.5 ΕΛΕΓΧΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ DPA ΣΤΑ ΜΗΛΑ .....</b>	<b>66</b>
2.5.1. Χημικές ουσίες (διαλύτες και αναλυτικά πρότυπα).....	66
2.5.2 Προετοιμασία των δειγμάτων για εκτίμηση υπολειμμάτων .....	67
2.5.3. Εκχύλιση .....	67
2.5.4. Χρωματογραφική ανάλυση.....	67
<b>2.6. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ .....</b>	<b>68</b>

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3</b>	<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b> .....	<b>69</b>
3.1.	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΦΑΙΝΥΛΑΜΙΝΗΣ .....	69
3.2.	ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΔΡΑ ΣΕ ΜΗΛΑ ΠΟΙΚ. STARKING DELICIOUS .	72
3.3.	ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΔΡΑ ΣΕ ΜΗΛΑ ΠΟΙΚ. GRANNY SMITH .....	76
3.4.	ΓΕΝΙΚΑ ΣΧΟΛΕΙΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΗΛΩΝ .	79
3.5	ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΗΛΩΝ ΠΟΙΚ. STARKING DELICIOUS	81
3.5.1.	<i>Ένταση και ποσοστό καρπών με Scald ποικ. Starking Delicious</i> .....	93
3.6	ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΗΛΩΝ ΠΟΙΚ. GRANNY SMITH .....	97
3.6.1.	<i>Ένταση και ποσοστό καρπών με Scald ποικ. Granny Smith</i> .....	108
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4</b>	<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	<b>112</b>
4.1.	ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΔΡΑ ΣΤΑ ΜΗΛΑ .....	112
4.2.	ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΗΛΩΝ .....	114
4.3.	ΣΧΟΛΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΕΜΒΑΠΤΙΣΗΣ .....	120
4.4.	ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΕΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟ .....	121
<b>ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....		<b>123</b>
<b>ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....		<b>129</b>

## ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ

DPA: Διφαινυλαμίνη  
Scald: Επιφανειακό Έγκαυμα  
Φ.Π.: Φυτοπροστατευτικό Προϊόν  
CA: Ελεγχόμενη Ατμόσφαιρα  
HWT: Μεταχείριση με θερμό νερό  
HAT: Μεταχείριση με θερμό αέρα  
HWT1/3DPA: Μεταχείριση με θερμό νερό με το 1/3 της δόσης DPA που χρησιμοποιείται στα συστήματα διαβροχής (Drencher)  
Fogging-DPA : Μεταχείριση υποκαπνισμού της DPA  
Drencher-DPA: Μεταχείριση διαβροχής με διάλυμα DPA από διαβρεχτή (Drencher)  
Ποικ.: ποικιλία  
Εικ.: Εικόνα  
RSD: Σχετική Τυπική Απόκλιση  
ΕΣΔ: Ελάχιστη Σημαντική Διαφορά  
+4dSL: 4 ημέρες ζωή στο ράφι  
MRL. Μέγιστο όριο υπολειμμάτων  
GC: Αέρια Χρωματογραφία  
t<sub>R</sub>: Χρόνος Κατακράτησης  
Ημ: ημέρες  
ΔΣΣ: Διαλυτά Στερεά Συστατικά  
IEC: Εσωτερική Συγκέντρωση Αιθυλενίου  
CT: Συζευγμένα τριένια  
Ctols: Συζευγμένες Τριενόλες  
PPO: Πολυφαινολοξειδάση  
NS: Μη στατιστικώς σημαντική διαφορά  
\*: Στατιστικώς σημαντική διαφορά  
Μ.Π. : Μη προσδιοριζόμενα υπολείμματα  
HI: Έγκαυμα λόγω έκθεσης σε υψηλή θερμοκρασία (Heat Injury)  
E.E.: Ευρωπαϊκή Ένωση  
Δt: Διαφορά θερμοκρασίας  
ILOS: Καταπόνηση από την πολύ χαμηλή συγκέντρωση Οξυγόνου  
ULO: Πολύ χαμηλή συγκέντρωση Οξυγόνου



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το επιφανειακό έγκαυμα (Scald) είναι μια σοβαρή μετασυλλεκτική μη παρασιτικής φύσεως ασθένεια, που οφείλεται στην οξείδωση ενός τερπενίου (α-farnesene) των υποδερμικών κυττάρων του φλοιού των μήλων και αχλαδιών.

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η υπολειμματικότητα και η αποτελεσματικότητα της μετασυλλεκτικής εφαρμογής διφαινυλαμίνης σε μήλα με την τεχνική της διαβροχής (Drencher-DPA) καθώς και με εμβάπτιση των μήλων για 3 min σε θερμό νερό με (HWT1/3DPA) ή χωρίς (HWT) το 1/3 της δόσης DPA που χρησιμοποιείται εμπορικά στα Drencher. Πέρα από τις παραπάνω μεταχειρίσεις στην ποικ. Starking Delicious έγινε και εφαρμογή DPA με υποκαπνισμό (Fogging-DPA). Χρησιμοποιήθηκαν μήλα ποικ. Starking Delicious από την περιοχή Ζαγοράς Πηλίου και Granny Smith από την περιοχή Αγίας Λαρίσης. Μετά τις πειραματικές μεταχειρίσεις ακολούθησε συντήρηση σε κοινή ψύξη στους  $0\pm 1^{\circ}\text{C}$  και Σ.Υ. 90-95%. Για τον έλεγχο του επιπέδου των υπολειμμάτων DPA και της ποιότητας των μήλων ποικ. Starking Delicious έγιναν 6 έξοδοι [0, 20 (μόνο για ανίχνευση υπολειμμάτων DPA), 40, 60, 90, 145 ημ από την έναρξη του πειράματος] και 7 έξοδοι για την ποικ. Granny Smith (0, 20, 40, 60, 80, 120, 165 ημ από την έναρξη του πειράματος). Τα υπολείμματα της DPA εκχυλίστηκαν από ομογενοποιημένο ιστό (σάρκα και φλοιό) μήλων με κυκλοεξάνιο και προσδιορίστηκαν σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή αζώτου-φωσφόρου (GC-NPD). Η ποιότητα των μήλων εκτιμήθηκε με το χρώμα φλοιού, τη σκληρότητα σάρκας, την περιεκτικότητα χυμού σε ΔΣΣ, το pH και την ολική οξύτητα, καθώς και τον δείκτη ωρίμανσης καρπού. Στις 60, 90 και 145ημ για την ποικ. Starking Delicious και στις 80 και 165 ημ συντήρησης των μήλων στο ψυγείο για την ποικ. Granny Smith έγινε επιπλέον και εκτίμηση της έντασης του Scald. Μετά την αρχική εκτίμηση τα μήλα παρέμειναν σε συνθήκες δωματίου για 4 ημέρες (ζωή στο ράφι) και επανεξετάστηκε η ένταση του Scald, η ποιότητα των μήλων και το επίπεδο των υπολειμμάτων DPA.

Παρά τη μειωμένη δόση DPA στα μήλα των μεταχειρίσεων HWT1/3DPA τα υπολείμματα της ουσίας ήταν υψηλότερα σε σχέση με αυτά που προσδιορίστηκαν στα μήλα της μεταχείρισης Drencher-DPA αρχικά και κατά τη μεγαλύτερη διάρκεια συντήρησης. Τα επίπεδα των υπολειμμάτων DPA των μήλων της μεταχείρισης Fogging-DPA ήταν σημαντικά μικρότερα από τις άλλες μεταχειρίσεις με DPA στην ποικ. Starking Delicious. Με την παραμονή των μήλων στο ράφι παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των υπολειμμάτων DPA για τα μήλα όλων των μεταχειρίσεων και των δύο ποικιλιών.

Το χρώμα του φλοιού των μήλων ποικ. Starking Delicious δεν επηρεάστηκε σημαντικά, ενώ στην ποικ. Granny Smith μόνο η απόχρωση ήταν παρόμοια σε όλη τη διάρκεια του πειράματος. Στην ποικ. Starking Delicious η εφαρμογή DPA με τη μεταχείριση HWT1/3DPA διατήρησε τα μήλα σκληρότερα, ενώ δεν είχε καμία επίδραση στη σκληρότητα των μήλων ποικ. Granny Smith. Γενικότερα, η χρήση DPA στα μήλα διατηρεί τη σκληρότητά τους, ακόμα και κατά την παραμονή τους στο ράφι. Η περιεκτικότητα σε ΔΣΣ δεν επηρεάστηκε από την παρουσία της DPA, εκτός από τη μεταχείριση HWT1/3DPA στην ποικ. Starking Delicious, που παρατηρήθηκε μικρότερη περιεκτικότητα σε ΔΣΣ συνολικά. Η ολική οξύτητα χυμού των μήλων και των δύο ποικιλιών ήταν παρόμοια για όλες τις μεταχειρίσεις. Με την παραμονή των μήλων στο ράφι η περιεκτικότητα σε οξέα για την ποικ. Starking Delicious ήταν παρόμοια, ενώ στην ποικ. Granny Smith όλες οι μεταχειρίσεις εκτός από το μάρτυρα είχαν χαμηλότερη οξύτητα. Η υψηλή συγκέντρωση DPA στα μήλα της ποικ. Starking Delicious τα διατήρησε πιο ανώριμα σε σχέση με τα μήλα των άλλων μεταχειρίσεων, όπως και η θέρμανση των καρπών, αλλά με μικρότερη ένταση. Το ίδιο παρατηρήθηκε και στην ποικ. Granny Smith. Τα μήλα της HWT1/3DPA ήταν τα πιο άνοστα-ξινά (τυπικά της ποικιλίας) για την ποικ. Granny Smith. Με την παραμονή στο ράφι τα μήλα και των δύο ποικιλιών δεν ωρίμασαν περαιτέρω.

Η εφαρμογή της DPA με υποκαπνισμό δεν αποδείχθηκε αποτελεσματική για μακροχρόνια προστασία των μήλων της ποικ. Starking Delicious από το Scald, αλλά για αυτή την ποικιλία ούτε και η HWT1/3DPA βρέθηκε αποτελεσματικότερη της HWT. Η αποτελεσματικότερη μέθοδος αντιμετώπισης του Scald στην ποικ. Starking Delicious ήταν η μεταχείριση της DPA με Drencher. Για την ποικ. Granny Smith η μεταχείριση HWT1/3DPA ήταν το ίδιο αποτελεσματική, στην αντιμετώπιση του Scald, με τη Drencher-DPA, ενώ η μεταχείριση HWT ήταν αποτελεσματική στη μείωση του Scald, αλλά όχι τόσο όσο με χρήση DPA. Το Scald εμφανίστηκε μετά τις 60ημ συντήρησης για τα μήλα ποικ. Starking Delicious και 80ημ για την ποικ. Granny Smith. Με την παραμονή των μήλων στο ράφι η ένταση, το ποσοστό καρπών με Scald και το ποσοστό καρπών με ένταση Scald >1 αυξήθηκαν σε όλες τις μεταχειρίσεις, αλλά εμπορικά ασήμαντα για της μεταχειρίσεις με DPA εκτός της μεταχείρισης με υποκαπνισμό.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

### 1.1 ΜΗΛΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

#### 1.1.1 Ιστορική προέλευση-Σημαντικότητα

Η μηλιά ήταν γνωστή από τους προϊστορικούς χρόνους (3000 π.Χ.) σε αυτοφυή αλλά και καλλιεργούμενη μορφή. Υπάρχουν πολλά είδη μηλιάς, εκείνο όμως που έδωσε τις πιο πολλές καλλιεργούμενες ποικιλίες είναι το *Malus domestica*. Ο άγριος πρόγονος του *Malus domestica* είναι το *Malus sylvestris*. Τα άγρια δέντρα ακόμα βρίσκονται στα βουνά της κεντρικής Ασίας, στην Κίνα, στο Kazakhstan, Kyrgyzstan, Tajikistan και Xinjiang. Άλλα είδη που ανήκουν στο γένος είναι τα *Malus baccata* και *Malus sieversii* χωρίς καμιά, προς το παρόν, εμπορική αξία.

Σαν συνέπεια των εμπορικών ταξιδιών και πολέμων που έκαναν οι Αρχαίοι Έλληνες και Ρωμαίοι η μηλιά διαδόθηκε στην Ευρώπη. Η επιλογή των ποικιλιών άρχισε πολύ νωρίς και στο τέλος του 13<sup>ου</sup> αιώνα μ.Χ. έγιναν γνωστές πολλές καλλιεργούμενες ποικιλίες. Όταν οι άποικοι άρχισαν να εγκαθίστανται στο νέο κόσμο πολλές ποικιλίες που καλλιεργούνταν στην Ευρώπη μεταφέρθηκαν στην Αμερική (Βασιλακάκης και Θεριός, 1998).

Υπάρχουν πάνω από 7.500 γνωστές ποικιλίες μήλων με διαφορετική αντοχή στη θερμοκρασία και το κλίμα. Οι περισσότερες καλλιεργούμενες ποικιλίες χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μήλων για νωπή κατανάλωση αλλά υπάρχουν ποικιλίες που τα μήλα τους προορίζονται για χρήση στη μαγειρική ή για την παραγωγή χυμού. Οι μηλεώνες έχουν οικονομική ζωή περίπου 20-50 χρόνια, αν και μπορούν να είναι παραγωγικοί για πάνω από 100 χρόνια. Όταν τα γεράσουν η ποιότητα και η ποσότητα του παραγόμενου προϊόντος μειώνεται, ενώ τα δέντρα γίνονται πιο επιρρεπή στους εχθρούς και τις ασθένειες, που σημαίνει μεγαλύτερη και εντατικότερη χρήση Φ.Π. (Pennell, 2006).

Η καλλιέργεια της μηλιάς καταλαμβάνει την τρίτη θέση παγκοσμίως σε σημαντικότητα στα οπωροφόρα δέντρα με ετήσια παραγωγή 47 εκ. τόνους το 1997 (πλην της Κίνας), ενώ το 2002 παρήχθησαν 45 εκ. τόνοι μήλα με εμπορική αξία 10 δις \$. Πάνω από 20 εκ. τόνοι μήλων παράγονται στην Κίνα, ενώ ακολουθούν η Αργεντινή, ΗΠΑ, Τουρκία, Γαλλία, Ιταλία, Ρωσία, Γερμανία, Πολωνία κ.τ.λ. Τα τελευταία έτη η παγκόσμια παραγωγή αυξάνεται συνεχώς λόγω αύξησης της μηλοκαλλιέργειας στην Κίνα. Στην Ελλάδα η συνολική έκταση της μηλοκαλλιέργειας ήταν 182.000 στρ. το 1992, ενώ το 1996 περιορίστηκε σε 137.000 στρ. λόγω

εγκατάλειψης πολλών πεδινών μηλεώνων που παρήγαγαν μήλα χαμηλής ποιότητας. Αν και οι εκτάσεις της μηλοκαλλιέργειας μειώθηκαν, η συνολική παραγωγή παρέμεινε σχεδόν η ίδια λόγω των παραγωγικότερων ποικιλιών και καλλιεργητικών τεχνικών που εισήχθησαν στη χώρα.

### **1.1.2 Οικονομική σημασία της μηλοκαλλιέργειας**

Οι κυριότερες μηλοπαραγωγικές περιοχές της Ελλάδας βρίσκονται στους νομούς: Ημαθίας, Πέλλας, Λαρίσης, Κοζάνης, Φλώρινας, Καστοριάς, Αρκαδίας και Μαγνησίας (Κουκουργιάννης, 1997). Η παραγωγή και εμπορία μήλων αποτελούν σημαντικό τομέα της εθνικής οικονομίας αποδίδοντας υψηλή πρόσοδο στους καλλιεργητές. Η εξαγωγή ελληνικών μήλων και η προώθηση τους σε ξένες αγορές γίνεται σε πολύ μικρό βαθμό αφού κάτι τέτοιο προϋποθέτει υψηλή ποιότητα, άψογη συσκευασία, ανταγωνιστικότητα και σταθερότητα σε όλη τη διάρκεια της διάθεσης του προϊόντος. Μηλοπαραγωγικές περιοχές της χώρας μας, όπως η Ζαγορά Πηλίου και η Αρκαδία, έχουν πετύχει αναγνώριση των μήλων τους από την Ε.Ε. ως προϊόν Π.Ο.Π. (Προστατευμένης Ονομασίας Προέλευσης), ενώ άλλες περιοχές έχουν αναγνωρίσει τα μήλα τους ως Π.Γ.Ε. (Προϊόν Γεωγραφικής Ένδειξης) από το Υπουργείο Γεωργίας. Υπάρχει η κατάλληλη και απαραίτητη εμπειρία και γνώση, απαιτείται όμως βελτίωση σε τομείς όπως η συντήρηση (ψυκτικοί χώροι, θάλαμοι συντήρησης με CA, κ.λ.π.) συσκευασία, εμπορία, καθώς και η εισαγωγή νέων καλλιεργητικών τεχνικών, ώστε η μηλοκαλλιέργεια να παραμείνει δυναμική, να εξελιχθεί και τα ελληνικά μήλα να γίνουν ανταγωνιστικά στις διεθνείς αγορές.

### **1.1.3. Σημασία της μηλοκαλλιέργειας στο ανατολικό Πήλιο και την Αγιά**

Η συστηματική μηλοκαλλιέργεια στον Ν. Μαγνησίας, με επίκεντρο τις ορεινές περιοχές του Πηλίου, όπως η Ζαγορά, άρχισε στις αρχές του 1950, ενώ ο Αγροτικός Συνεταιρισμός Ζαγοράς παράγει και διακινεί μήλα από το 1916. Στην περιοχή υπήρχε παράδοση στην καλλιέργεια μήλων και η τοπική ποικ. Φιρίκι ήταν ήδη γνωστή στους καταναλωτές για τουλάχιστον 200 χρόνια. Το σύνολο σχεδόν των μηλεώνων είναι παραδοσιακοί, σε επικλινή όξινα εδάφη, σε σπορόφυτα υποκείμενα και διαμόρφωση κόμης σε ελεύθερο κύπελλο, με μεγάλο ύψος που συνεπάγεται υψηλό κόστος παραγωγής και συγκομιδής. Τα τελευταία χρόνια γίνεται ανανέωση της καλλιέργειας, όπως φυτεύσεις σε υποκείμενο MM106 και νέες ποικιλίες (Gala, Red Chief κ.α.). Η βασική όμως τάση των παραγωγών και των οργανώσεών τους είναι η διατήρηση της ποικιλίας Starking Delicious, η οποία ανέδειξε την περιοχή. Ο ρόλος του Αγροτικού Συνεταιρισμού Ζαγοράς είναι καθοριστικός για την παραγωγή μήλων υψηλής

ποιότητας, στην κοινή διαχείριση και οργάνωση της εμπορίας. Διαθέτει σύγχρονο διαλογητήριο και 54 ψυκτικούς θαλάμους με απλή ψύξη και με CA. Με κατοχυρωμένο εμπορικό σήμα "ΖΑΓΟΡΙΝ" (καν. ΕΕΚ 1107/96) και ΠΟΠ, τα μήλα ΖΑΓΟΡΙΝ διατίθενται στην εσωτερική αγορά αλλά και σε αγορές του εξωτερικού όπως στις χώρες της Ε.Ε., Αραβικές, Ισραήλ, Κύπρος κ.ά. Η πλειοψηφία των νοικοκυριών της περιοχής του ανατολικού Πηλίου απασχολείται αποκλειστικά με τη γεωργία, με κεντρική ή μοναδική δραστηριότητα την καλλιέργεια των μήλων, που αποτελεί και την κύρια πηγή του εισοδήματός τους.

Στην επαρχία Αγιάς καλλιεργείται εκτενώς η μηλιά παρόλο ότι η περιοχή δεν είναι ορεινή. Στην περιοχή παράγονται το 1/4 έως 1/3 της Ελληνικής μηλοπαραγωγής. Αυτό οφείλεται στο ιδιαίστον κλίμα της περιοχής που επηρεάζεται από το Αιγαίο και τα βουνά τριγύρω. Φυσικά δημιουργούνται ποικίλα μικροπεριβάλλοντα και άλλα είναι κατάλληλα για καλλιέργεια πράσινων και κίτρινων μήλων και άλλα για κόκκινα μήλα. Λόγω του επίπεδου εδάφους η μηλοκαλλιέργεια στην Αγιά είναι εντατική και μηχανοποιημένη με γραμμική διαμόρφωση, ημινάνα και νάνα υποκείμενα με όλες τις μοντέρνες ποικιλίες και κλώνους. Λόγω βέβαια του χαμηλού υψομέτρου και της γειτνίασης εκτενή πεδιάδα συχνά τα κόκκινα μήλα υποβαθμίζονται ποιοτικά και μειώνεται ο χρόνος ψυχοσυντήρησής τους. Τα πράσινα και κίτρινα μήλα εμφανίζουν συχνά ηλιοεγκαύματα στην φλούδα τους και ταχεία κατάρρευση.

#### 1.1.4. Βοτανικά χαρακτηριστικά

Η καλλιεργούμενη μηλιά *Malus pumila* (συνώνυμο *Malus domestica*) ανήκει στην οικογένεια Rosaceae και την υποοικογένεια Maloideae. Στον Πίν. 1.1 παρουσιάζεται αναλυτικά η βοτανική ταξινόμηση της καλλιεργούμενης μηλιάς.

**Πίνακας 1.1.** Βοτανική ταξινόμηση της μηλιάς

<u>Επιστημονική ταξινόμηση</u>	
Βασίλειο:	<u>Plantae</u>
Υποφίλο:	<u>Magnoliophyta</u>
Κλάση:	<u>Magnoliopsida</u>
Τάξη:	<u>Rosales</u>
Οικογένεια:	<u>Rosaceae</u>
Υποοικογένεια:	<u>Maloideae</u>
Γένος:	<u>Malus</u>
Είδος:	M. domestica
<u>Διονυμικό όνομα</u>	
<i>Malus domestica</i> Borkh.	

Ο καρπός της μηλιάς είναι ψευδής. Το εδώδιμο τμήμα αποτελείται από ιστούς που προέρχονται από την πάχυνση της βάσης του κάλυκα, της στεφάνης και των στημόνων. Συμπληρώνεται από ένα τμήμα που προέρχεται από την ωθήκη και τα καρπόφυλλα που περιβάλλει τα σπέρματα (Βασιλακάκης και Θέριος, 1998).

### 1.1.5. Κλίμα-έδαφος

*Κλίμα:* Η μηλιά είναι δέντρο των ψυχρών και υγρών περιοχών. Απαιτεί δροσερό καλοκαίρι (μέγιστη θερμοκρασία μέχρι 29° C), ενώ αντέχει στις χαμηλές θερμοκρασίες μέχρι -40° C. Οι χαμηλές θερμοκρασίες (1200-1500 ώρες < 7° C) είναι απαραίτητες για τη διακοπή του λήθαργου των οφθαλμών της και το δροσερό καλοκαίρι βασική προϋπόθεση για την παραγωγή μήλων υψηλής ποιότητας με σχετική ανθεκτικότητα στο Scald (Σφακιωτάκης, 1993; Βασιλακάκης, 1996).

*Έδαφος:* Η μηλιά προτιμά εδάφη γόνιμα, βαθιά, καλά αποστραγγιζόμενα και επαρκώς εφοδιασμένα με ασβέστιο. Οι μεγαλύτερες αποδόσεις επιτυγχάνονται σε πεδινές περιοχές, όπου υπάρχει η δυνατότητα εντατικής εκμετάλλευσης, ενώ η καλύτερη ποιότητα μήλων παράγεται στις ημιορεινές ή ορεινές περιοχές λόγω ευνοϊκότερου κλίματος (Βασιλακάκης και Θέριος, 1998). Η υψηλή συγκέντρωση καλίου, αζώτου, φωσφόρου και η μικρή σε ασβέστιο σχετίζεται με την ανάπτυξη του Scald, αν και ο τρόπος δεν είναι πλήρως γνωστός. Η υψηλή περιεκτικότητα σε νιτρικά αυξάνει την ευπάθεια στο Scald και σχετίζεται με την υψηλότερη παραγωγή a-farnesene (Ferguson *et al.*, 1999).

### 1.1.6. Διαμόρφωση δέντρων-Κλάδεμα καρποφορίας

Η μηλιά μπορεί να διαμορφωθεί σε διάφορα σχήματα, τα σπουδαιότερα από τα οποία είναι: 1. Κύπελλο, 2. Κυπελλοπυραμίδα, 3. Θαμνοειδές κύπελλο, 4. Νάνος πυραμίδα κατά ορόφους (Dwarf pyramid), 5. Ατρακτοειδής θάμνος (Spindle bush), 6. Οπωρώνας λιβάδι (Meadow orchard), 7. Παλμέτα: α) κανονική παλμέτα και β) ελεύθερη παλμέτα. Η διαμόρφωση της κόμης των δέντρων από μικρό στάδιο, το ετήσιο χειμερινό και θερινό κλάδεμα και η κατάλληλη λίπανση συντελούν στην ευρωστία των δέντρων που εντοπίζεται και στα παραγόμενα μήλα.

### 1.1.7. Ανάπτυξη καρπού-Συγκομιδή

Μετά τη γονιμοποίηση του άνθους αρχίζει η ανάπτυξη του καρπού. Τα μη γονιμοποιημένα άνθη πέφτουν. Ο καρπός αυξάνει στην αρχή (2-3 εβδομάδες) λόγω του

πολλαπλασιασμού των κυττάρων και στη συνέχεια έχουμε διόγκωση των κυττάρων. Τα σπέρματα παίζουν καθοριστικό ρόλο για την αύξηση του καρπού και απαιτείται 5-6 σπέρματα ανά καρπό για ικανοποιητικού μεγέθους μήλο (Βασιλακάκης, 1996). Το πότε θα συγκομιστεί ένας καρπός είναι σημαντικός παράγοντας για την ποιότητα και καλή συντήρησή του. Υπάρχει μια περίοδος 5-20 ημέρες, που εξαρτάται από τη ποικιλία και τις καιρικές συνθήκες στην διάρκεια της οποίας θα πρέπει να συγκομιστούν οι καρποί. Η συγκομιδή των καρπών γίνεται με το χέρι.

### 1.1.8. Ποιότητα καρπών

Ο πιο διαδεδομένος ορισμός της ποιότητας είναι εκείνος που έχει δοθεί από τους Kramer και Twigg (1970), που ορίζει ότι “ Ποιότητα είναι το σύνολο εκείνων των χαρακτηριστικών ενός συγκεκριμένου προϊόντος, που επιτρέπουν το διαχωρισμό του και σχετίζονται άμεσα με την ικανότητα του καταναλωτή, ο οποίος χρησιμοποιώντας τα χαρακτηριστικά αυτά, είναι σε θέση να ξεχωρίσει το προϊόν και να το διακρίνει από το σύνολο ομοειδών προϊόντων". Σε κάθε περίπτωση τα χαρακτηριστικά της ποιότητας ενός προϊόντος θα πρέπει να ικανοποιούν τις επιθυμίες του καταναλωτή.

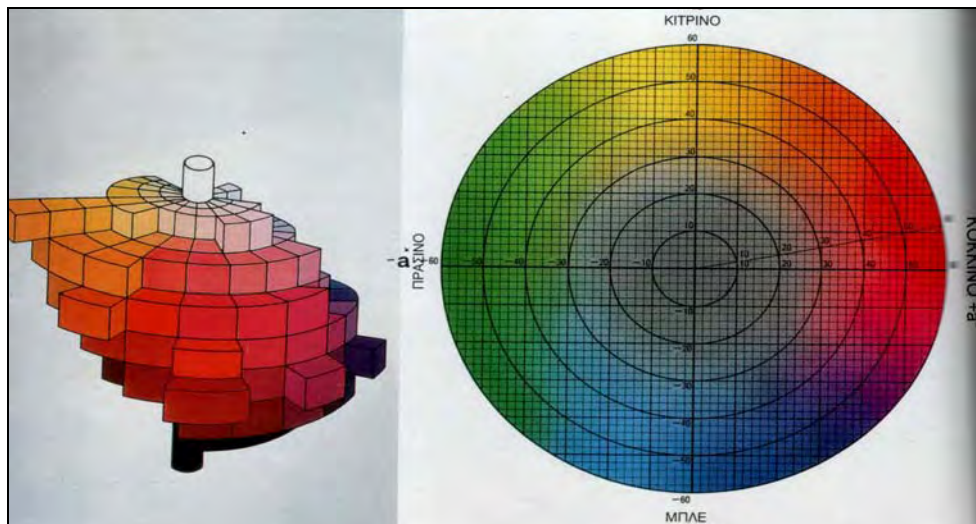
#### 1.1.8.1. Εμφάνιση-Χρώμα

Η εμφάνιση είναι το σπουδαιότερο χαρακτηριστικό ποιότητας που καθορίζει την τιμή πώλησης του προϊόντος. Κριτήρια εμφάνισης είναι το μέγεθος (το σπουδαιότερο), το χαρακτηριστικό σχήμα του κάθε καρπού και ποικιλίας, η επιφανειακή κατάσταση του καρπού (πιθανές παραμορφώσεις υποβαθμίζουν την ποιότητα του καρπού) και το χρώμα.

Το χρώμα εξαρτάται από το στάδιο ωρίμανσης και από κλιματικούς παράγοντες, όπως η ηλιακή ακτινοβολία και η θερμοκρασία ανάπτυξης του καρπού. Το χρώμα των καρπών οφείλεται στην παρουσία τριών ειδών χρωστικών: της χλωροφύλλης, των καροτινοειδών και των ανθοκυανών. Η χλωροφύλλη μειώνεται με την ωρίμανση των καρπών και δημιουργεί το βασικό χρώμα του φλοιού. Οι κόκκινες, μπλε, και μοβ αποχρώσεις οφείλονται στη σύνθεση ανθοκυανής. Το χαρακτηριστικό χρώμα των ώριμων καρπών οφείλεται στην παρουσία εστέρων της ξανθοφύλλης και της καροτίνης και το επίχρωμα καθορίζεται από τη σχέση των καροτινοειδών προς τις ξανθοφύλλες και την τυχόν ύπαρξη ανθοκυανών στις κόκκινες ποικιλίες (Σφακιωτάκης, 1995). Ο φθορισμός της χλωροφύλλης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την μέτρηση πολλών φυσιολογικών καταπονήσεων όπως το Chilling Injury, η πιθανότητα ανάπτυξης Scald, η υδατική καταπόνηση και η πιθανότητα ανάπτυξης αναερόβιου μεταβολισμού λόγω χαμηλής συγκέντρωσης  $O_2$  (Ekman *et al.*, 2005).

Η μέτρηση του χρώματος των καρπών μπορεί να γίνει με απλούς χρωματικούς πίνακες ή με χρωματομέτρα. Η λειτουργία των χρωματομέτρων βασίζεται στη τριχρωματική ευαισθησία που παρουσιάζει το ανθρώπινο μάτι να συλλαμβάνει το χρώμα με τρεις φωτοευαίσθητες ουσίες που αντιστοιχούν στα τρία βασικά χρώματα κόκκινο, πράσινο και μπλε. Τα χρωματομέτρα εκπέμπουν ακτινοβολία από μια φωτεινή πηγή (xenon) και το ανακλώμενο φως από την επιφάνεια του καρπού διέρχεται από τρία φίλτρα, κόκκινο, πράσινο και μπλε.

Το διερχόμενο φως αναλύεται με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή, συσχετίζεται με ορισμένα πρότυπα και στο χρώμα δίνονται τιμές  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ . Το  $L^*$  δείχνει τη λαμπερότητα ή φωτεινότητα, η τιμή  $a^*$  τη διαβάθμιση του χρώματος από πράσινο ( $-a^*$ ) έως κόκκινο ( $+a^*$ ) και η τιμή του  $b^*$  από κίτρινο ( $+b^*$ ) σε μπλε ( $-b^*$ ). Το απόλυτο χρώμα δίδεται από την συνισταμένη των παραγόντων αυτών σε σφαιρική διάταξη (Εικ. 1.1).



**Εικόνα 1.1.** Σφαιρική αναπαράσταση των χρωμάτων με το σύστημα  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ .

Πηγή Σφακιωτάκης, 1995.

#### 1.1.8.2 Φυσικά χαρακτηριστικά

Η υφή, σκληρότητα, τραγανότητα είναι χαρακτηριστικά που αναφέρονται στην εσωτερική κατασκευή των φυτικών μερών και εξαρτώνται από την σπαργή των κυττάρων, τη φύση των κυτταρικών τοιχωμάτων και την παρουσία ορισμένων κυτταρικών ουσιών (άμυλο, χυμός, νερό). Η γεύση και το άρωμα διεγείρουν τα αισθητήρια της γεύσης και της όσφρησης. Η γεύση μπορεί να είναι γλυκιά, αλμυρή, ξινή ή πικρή και καθορίζεται από την περιεκτικότητα σε σάκχαρα, άλατα, οξέα, ταννίνες και άλλες ουσίες. Στο άρωμα των καρπών συμβάλουν οι πτητικές ουσίες αλδεΐδες, κετόνες, εστέρες και τερπένια. Συστατικά των καρπών ιδιαίτερα σημαντικά για τη διατροφή του ανθρώπου είναι και τα: Βιταμίνη C και άλλες βιταμίνες ανόργανα στοιχεία, όπως Na, K, Ca, P, Mg, Fe κ.α. Οι φυτικές ίνες (διαλυτές και αδιάλυτες)



αποτελούν ένα σημαντικό διατροφικό στοιχείο επιλογής των καρπών για τη διαίτα του ανθρώπου στο δυτικό κόσμο.

#### 1.1.8.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα των καρπών

Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα πριν από τη συγκομιδή είναι:

- *Γενετική σύσταση*: Ποικιλία ή κλώνου επηρεάζει όχι μόνο την απόδοση αλλά είναι καθοριστικός παράγοντας των χαρακτηριστικών ποιότητας των μήλων.
- *Παράγοντες του περιβάλλοντος*: Για τα περισσότερα οπωροκηπευτικά η επικράτηση ήπιων θερμοκρασιών στην βλαστική τους περίοδο προωμίζει και αυξάνει την ποιότητα των καρπών. Ζεστές ημέρες με καθαρό ουρανό που εναλλάσσονται με ψυχρές νύχτες ευνοούν την ανάπτυξη έντονου χρώματος στα περισσότερα είδη καρπών.

Η διάρκεια, η ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας και η ποιότητα του ηλιακού φάσματος επηρεάζει την ποιότητα των καρπών μηλιάς καθώς αυτοί απαιτούν απευθείας έκθεση σε ηλιακό φως για το σχηματισμό του επιχρώματος. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα των καρπών είναι η εδαφική υγρασία, οι επικρατούντες άνεμοι στην περιοχή της καλλιέργειας, η εφαρμογή των κατάλληλων καλλιεργητικών τεχνικών και χημικών ή ορμονικών επεμβάσεων.

#### 1.1.8.4. Μεταχείριση κατά τη συγκομιδή

Οι καρποί θα πρέπει να συλλέγονται στο κατάλληλο στάδιο συλλεκτικής ωρίμανσης. Η συγκομιδή των καρπών στα γιγαρτόκαρπα (μήλα, αχλάδια) γίνεται κατά το στάδιο της φυσιολογικής ωρίμανσης και η ωρίμανση συνεχίζεται στους χώρους της συντήρησης (Σφακιωτάκης, 1995). Ο τρόπος συγκομιδής και η μεταχείριση των καρπών κατά τη διαλογή, τη συντήρηση και τη μεταφορά τους είναι καθοριστικός παράγοντας για την καλή διατήρηση της ποιότητας τους.

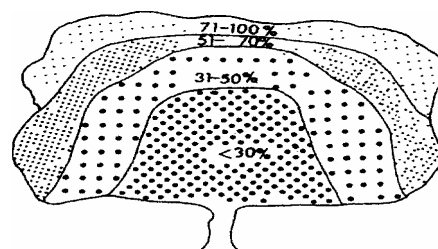
#### 1.1.8.5. Μετασυλλεκτική μεταχείριση

Οι παράγοντες που καθορίζουν την ποιότητα κατά τη μετασυλλεκτική μεταχείριση δηλαδή την αποθήκευση του καρπού μέχρι την αγορά του από τον καταναλωτή είναι η θερμοκρασία, η σχετική υγρασία και η σύσταση της ατμόσφαιρας των χώρων που συντηρούνται οι καρποί. Ο ρυθμός παραγωγής αιθυλενίου από τον καρπό καθορίζει την ποιότητά του μετασυλλεκτικά. Καθοριστικός, επίσης παράγοντας για την καλή ποιότητα των

καρπών είναι ο τρόπος μεταφοράς και συσκευασίας καθώς και ο τρόπος και ο χρόνος έκθεσης τους (ζωή στο ράφι) στον καταναλωτή.

### 1.1.9. Περιβάλλον Οπωρώνα

Η διασπορά των ειδών πάνω στη Γη υπήρξε αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στις συνθήκες του περιβάλλοντος που επικρατούν σε μια περιοχή και την ικανότητα του είδους να προσαρμόζεται στις συνθήκες αυτές. Τα στοιχεία του περιβάλλοντος είναι το έδαφος, οι κλιματικοί και οι βιοτικοί παράγοντες. Το φως, η θερμοκρασία, το νερό και τα θρεπτικά στοιχεία του εδάφους επηρεάζουν κύρια τις φυσιολογικές λειτουργίες του δέντρου. Από τους κλιματικούς παράγοντες η ακτινοβολία έχει την μεγαλύτερη επίδραση στις βιολογικές λειτουργίες. Η ηλιακή ακτινοβολία που δέχεται κάθε δέντρο καθορίζεται από το γεωγραφικό πλάτος και τη νέφωση μιας περιοχής. Την ευνοϊκότερη επίδραση στην παραγωγή ποιοτικών και ικανοποιητικού μεγέθους μήλων ασκεί η έκθεση του οπωρώνα στην ηλιακή ακτινοβολία. Περιοχές με νότια έκθεση δέχονται την περισσότερη ηλιακή ακτινοβολία. Το γεωμετρικό σχήμα της κόμης του δέντρου επηρεάζει την ποσότητα της ακτινοβολίας που δέχεται η κόμη από τον ήλιο ή τη διάχυτη ακτινοβολία από το περιβάλλον. Η πυκνότητα της κόμης επηρεάζει με τη σκίαση την ένταση του φωτός που δέχεται το δέντρο στα διάφορα μέρη του (Σφακιωτάκης, 1993). Ένα δέντρο μηλιάς, δέχεται το μεγαλύτερο μέρος της έντασης του φωτός στα εξωτερικά στρώματα (70-100%), ενώ μειωμένη ένταση φωτός δέχεται το εσωτερικό του δέντρου (από 30-70% ανάλογα με το βαθμό σκίασης) (Looney, 1968) (Εικ. 1.2).



**Εικόνα 1.2.** Κατανομή του φωτισμού, ως ποσοστά πλήρους ηλιοφάνειας, σε ένα κανονικό δέντρο μηλιάς ποικ. Delicious (Πηγή: Looney, 1968)

Τα μήλα από τα σκιαζόμενα μέρη του δέντρου έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα ανάπτυξης Scald πράγμα που δείχνει τη συσχέτιση του Scald με την ηλιακή ακτινοβολία, τη βροχόπτωση και τη θερμοκρασία (Ferguson *et al.*, 1999).

### 1.1.10. Η θρεπτική αξία του μήλου για τον άνθρωπο

Ο κυριότερος, ίσως, λόγος διάδοσης και καλλιέργειας της μηλιάς σε πάρα πολλές περιοχές του κόσμου, είναι η υψηλή θρεπτική αξία των μήλων. Το μήλο πέρα από τη γευστικότητά του, καλύπτει μερικώς τις ανάγκες του ανθρώπινου οργανισμού σε βιταμίνες Α, C και Ε. Επιπλέον, προμηθεύει τον ανθρώπινο οργανισμό με πηκτίνες και κυτταρίνες που διευκολύνουν την πέψη και βοηθούν στην καλή λειτουργία του πεπτικού συστήματος. Ένα νωπό μήλο βάρους 200g περιέχει κατά μέσο όρο τα θρεπτικά στοιχεία που αναφέρονται στον Πίν. 1.2 (Gebhardt και Matthews, 1989).

**Πίνακας 1.2.** Περιεκτικότητα των μήλων σε θρεπτικά στοιχεία ανά 100g καρπού.

Νερό	84%	Κάλιο	244 mg
Ενέργεια	125	Βιταμίνη Α	110 IU
Υδατ/κες	32g	θειαμίνη	0,04 mg
Ασβέστιο	15mg	Ριβοφλαβίνη	0,03 mg
Φώσφορος	15mg	Νιασίνη	0,2 mg
Σίδηρος	0,4mg	Ασκορβικό οξύ	12 mg

Πηγή (Gebhardt και Matthews, 1989)

Το 70% της ποσότητας των βιταμινών που περιέχει το μήλο βρίσκονται στο φλοιό και στην σάρκα λίγα χιλιοστά κάτω από το φλοιό. Η κατανάλωση μήλων προστατεύει από την ανάπτυξη καρκίνου του εντέρου, του προστάτη και του ήπατος. Έχει αποδειχθεί ότι η κατανάλωση μήλων προστατεύει από καρδιοπάθειες, βοηθάει στην απώλεια βάρους και στον έλεγχο της χοληστερίνης, ενώ είναι χαμηλής περιεκτικότητας σε θερμίδες όπως όλα σχεδόν τα φρούτα και λαχανικά. Προστατεύει το νευρικό σύστημα από την παραγωγή ουσιών που συντελούν στη σταδιακή μείωση της ομαλής λειτουργίας του.

Τα αντιοξειδωτικά που περιέχονται στα μήλα είναι κυρίως φαινολικά με μεγαλύτερη συχνότητα τα quercetin, epicatechin και procyanidin B2. Τα φαινολικά είναι μια σημαντική κλάση συστατικών του φλοιού των μήλων. Λειτουργούν σαν υπόστρωμα για τα ένζυμα που καφετιάζουν τα μήλα, έχουν αντιοξειδωτική δράση, είναι σημαντικοί παράγοντες για τον καθορισμό της ποιότητας των μήλων, παίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του φρούτου στα παθογόνα και σε μερικές φυσιολογικές λειτουργίες (Golding *et al.*, 2001). Η εφαρμογή DPA πριν από την αποθήκευση είχε ελάχιστες επιδράσεις στον μεταβολισμό των φαινολικών τα οποία διατηρούνται σχεδόν στο ίδιο επίπεδο με την ημέρα συγκομιδής ακόμα και μετά από 9 μήνες συντήρησης στους 0° C στην ποικ. Granny Smith, οπότε η αντιοξειδωτική δράση των

μήλων δεν μεταβάλλεται. Τα αντιοξειδωτικά συστατικά των μήλων δεν μεταβάλλονται σημαντικά κατά τη ψυχοσυντήρηση, ενώ μετά την επεξεργασία για χυμοποίηση στον χυμό μένει μόνο το 10% της αρχικής συγκέντρωσης (DeEll *et al.*, 2005). Τα μήλα είναι από τις κύριες πηγές φλαβονοειδών στο ανθρώπινο σιτηρέσιο στις εύκρατες περιοχές. Τα φλαβονοειδή είναι μια από τις κυριότερες κλάσεις φυτοχημικών ουσιών που βρίσκονται στα φρούτα και λαχανικά. Η περιεκτικότητα των φυτοχημικών στα μήλα εξαρτάται από την ποικιλία, το στάδιο συγκομιδής, τον τρόπο αποθήκευσης και μετασυλλεκτικής επεξεργασίας. Τα πιο κοινά φλαβονοειδή που βρίσκονται στα φρούτα και τα λαχανικά είναι η ομάδα της κουερσετίνης (quercetin). Η περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες είναι μεγαλύτερη σε κόκκινα μήλα που αναπτύσσονται στην εξωτερική πλευρά του δέντρου, με μεγαλύτερη ένταση ηλιακής ακτινοβολίας, σε σχέση με αυτά που βρίσκονται στο εσωτερικό της κόμης. Σε μελέτες του Awad (2002) παρατηρήθηκε ότι η υψηλή αζωτούχος λίπανση συμβάλλει στην μειωμένη περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες, κατεχίνη και ολικά φλαβονοειδή, μειώνει σημαντικά τον κόκκινο χρωματισμό της φλούδας των μήλων, ενώ η ασβεστούχος λίπανση αυξάνει τις ανθοκυάνες και τα φλαβονοειδή.

Στις Η.Π.Α. το 22% της κατανάλωσης φαινολικών προέρχεται από τα μήλα, που είναι η κύρια πηγή των ουσιών αυτών στο σιτηρέσιο. Άλλες πλούσιες πηγές φλαβονοειδών και φαινολικών είναι το τσάι και τα κρεμμύδια.

### 1.1.11. Στάδιο ωρίμανσης

Το στάδιο ωρίμανσης των μήλων στη συγκομιδή επηρεάζει τόσο τη διάρκεια συντήρησης όσο και την ποιότητα των καρπών, δηλαδή τη φυσική και χημική σύσταση του καρπού, καθώς και την εκδήλωση-ένταση φυσιολογικών ασθενειών και αλλοιώσεων όπως το Scald, η πικρή κηλίδωση, υάλωση, μετασυλλεκτικές σήψεις από *Penicillium expansum* και *Botrytis cinerea* κ.α.

Στα μήλα διακρίνονται δύο στάδια ωρίμανσης:

- Το στάδιο συλλεκτικής ωρίμανσης ή στάδιο ωρίμανσης για συγκομιδή.
- Το στάδιο ωρίμανσης για κατανάλωση.

Στο στάδιο ωρίμανσης για συγκομιδή, ο καρπός δεν τρώγεται ευχάριστα. Τα μήλα είναι κλιμακτηριακοί καρποί, όταν αρχίσουν να ωριμάζουν ενεργοποιείται εντονότερα το ενζυμικό σύστημα παραγωγής αιθυλενίου, της ορμόνης που προάγει την ωρίμανση των καρπών. Η ωρίμανση του καρπού κατά τη συγκομιδή παίζει σπουδαίο ρόλο στη μετέπειτα «ζωή» του. Πολύ πρόωμη συγκομιδή πρέπει να αποφεύγεται διότι οι καρποί δεν αποκτούν πλήρως τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και επιπλέον παρουσιάζουν Scald σε μεγάλο

βαθμό. Αντίθετα, πολύ όψιμη συγκομιδή πρέπει να αποφεύγεται γιατί οι υπερώριμοι καρποί έχουν μειωμένη συντηρησιμότητα και σε σύντομο χρονικό διάστημα υποβαθμίζεται η ποιότητά τους που εκδηλώνεται κυρίως με μαλάκωμα της σάρκας και αύξηση της ευαισθησίας στις ασθένειες.

Η επιλογή του σταδίου συγκομιδής πρέπει να γίνεται πάντοτε ανάλογα με τη μέθοδο συντήρησης που εφαρμόζεται. Καρποί που προορίζονται για μακρά συντήρηση πρέπει να συγκομίζονται σε στάδιο που δεν έχει αρχίσει η αυτοκαταλυτική παραγωγή αιθυλενίου, ενώ οι καρποί που προορίζονται για να διατεθούν σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη συγκομιδή συνιστάται να αφήνονται περισσότερο χρόνο στο δέντρο για να αποκτούν καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

### 1.1.12. Πρόγνωση του χρόνου συγκομιδής

Η πρόγνωση του χρόνου συγκομιδής είναι χρήσιμη όχι μόνο για τον παραγωγό ο οποίος πρέπει να οργανώσει τη συγκομιδή, αλλά και για όλους όσους ασχολούνται με τη μεταφορά, συντήρηση σε ψυκτικούς χώρους και εμπορία των μήλων. Για την πρόγνωση του χρόνου έναρξης συγκομιδής των μήλων χρησιμοποιούνται: α) διάφορες υποκειμενικές και αντικειμενικές αναλύσεις, β) η καρπική περίοδος, και γ) οι μονάδες θερμότητας από την πλήρη άνθηση (Σφακιωτάκης, 1995). Η μέση χρονική περίοδος από την πλήρη άνθηση μέχρι την έναρξη συγκομιδής, ονομάζεται καρπική περίοδος και θεωρείται σχετικά σταθερό κριτήριο πρόγνωσης της ημερομηνίας συγκομιδής για τα μήλα. Η καρπική περίοδος της ποικιλίας Starking Delicious για παράδειγμα είναι 145-150 ημέρες (Βασιλακάκης, 1999).

#### 1.1.11.1. Κριτήρια συλλεκτικής ωρίμανσης

Τα κριτήρια συλλεκτικής ωρίμανσης στηρίζονται σε μια ή περισσότερες μετρήσεις που βοηθούν να προσδιοριστεί αν οι καρποί έχουν φτάσει στο κατάλληλο στάδιο για συγκομιδή, ικανοποιώντας ένα ελάχιστο επίπεδο αποδεκτής ποιότητας για άμεση διάθεση ή για συντήρηση. Τα πλέον γνωστά κριτήρια συλλεκτικής ωρίμανσης των μήλων, είναι:

*Μέγεθος και χαρακτηριστικό σχήμα της ποικιλίας:* Το μέγεθος του καρπού και το σχήμα του είναι χαρακτηριστικό της ποικιλίας επηρεάζεται όμως και από πολλούς άλλους παράγοντες οπότε δεν μπορεί να αποτελέσει από μόνο του ασφαλές κριτήριο.

*Ευκολία απόσπασης του καρπού:* Η δύναμη που απαιτείται προκειμένου ο καρπός να αποσπαστεί από το καρποφόρο όργανο είναι κριτήριο αρκετά καλό αν συνδυαστεί με την εμπειρία του παραγωγού καθώς και με άλλα κριτήρια.

*Χρώμα βασικό και επιχρώμα:* Οι χρωστικές, χλωροφύλλες και καροτενοειδή δίνουν το βασικό χρώμα στον φλοιό, το οποίο με την ωρίμανση, μετατρέπεται σε διάφορες διαβαθμίσεις, από βαθύ πράσινο, σε ανοιχτό πράσινο, πρασινοκίτρινο ή κίτρινο, και σε ορισμένες ποικιλίες μπορεί να αποτελέσει ασφαλές κριτήριο ωρίμανσης. Ο προσδιορισμός του βασικού χρώματος του φλοιού και του επιχρώματος γίνεται με το μάτι, με χρήση χρωματικών χαρτιών και με τα χρωματόμετρα. Αξίζει να σημειωθεί ότι το χρώμα των μήλων δεν μεταβάλλεται σημαντικά στη συντήρηση, ενώ μήλα χωρίς κατάλληλο χρωματισμό δεν προτιμώνται από τους καταναλωτές, συνήθως είναι σκληρά, αμυλώδη, ανώριμα και χρησιμοποιούνται για χυμό ή για άλλα επεξεργασμένα προϊόντα με χαμηλότερη τιμή αγοράς.

*Τεστ γεύσης, άρωμα:* Δαγκώνοντας ένα μήλο μπορεί κανείς να αντιληφθεί τη σκληρότητα της σάρκας, την γλυκύτητα, την οξύτητα, τη στυφότητα και το άρωμα. Χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλα κριτήρια.

*Σκληρότητα:* Η σκληρότητα των μήλων μπορεί να μετρηθεί με πενетроμέτρο τύπου Effegi ή Magness-Taylor. Το κριτήριο αυτό βασίζεται στο μαλάκωμα της σάρκας των μήλων καθώς αυτά ωριμάζουν. Το μέγεθος του μήλου ή η Υάλωση μπορούν να επηρεάσουν τη σκληρότητα. Μεγάλα μήλα με Υάλωση έχουν μικρότερη σκληρότητα από τα υγιή και μικρού μεγέθους. Βασική παράμετρος στη μέτρηση της σκληρότητας των μήλων είναι ο χρόνος που πιέζεται το έμβολο του πενετομέτρου πάνω στη σάρκα του καρπού. Ο ιδανικός χρόνος διείσδυσης του εμβόλου έχει υπολογιστεί στα 2 sec. Συνήθως, χρησιμοποιούνται πενетроμέτρα με διάμετρο εμβόλου 11 mm και βάθος μέτρησης της σάρκας στα 7,9 mm. Η φλούδα στο σημείο διάτρησης αφαιρείται σε βάθος 1 mm.

*ΔΣΣ:* Στα φρούτα, καθώς ωριμάζουν, το άμυλο μετατρέπεται σε σάκχαρο. Για τη μέτρηση των διαλυτών στερεών συστατικών (σακχάρων κυρίως) χρησιμοποιείται σακχαροδιαθλασίμετρο και μικρή ποσότητα χυμού, ενώ τα ΔΣΣ εκφράζονται σε ποσοστό % βαθμών Brix. Καθώς τα μήλα ωριμάζουν η περιεκτικότητα σε σάκχαρο αυξάνει. Μήλα από καλλιέργεια με μεγάλη παραγωγή έχουν συγκριτικά λιγότερα σάκχαρα σε σχέση με μήλα από καλλιέργεια με κανονική παραγωγή κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Τα σάκχαρα είναι αυξημένα σε χρονιές με μικρή σχετικά υγρασία, υψηλή θερμοκρασία και ηλιοφάνεια, ενώ εξαρτάται και από τη διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων στο δέντρο. Τα σάκχαρα των μήλων σε ένα δέντρο μπορεί να διαφέρουν σημαντικά και αυτό εξαρτάται από τη θέση του καρπού στο δέντρο. Καρποί που συλλέγονται από ψηλότερα σημεία του δέντρου έχουν περισσότερα σάκχαρα σε σχέση με τα μήλα που βρίσκονται στις ποδιές.

*Τεστ ιωδίου:* Η μετατροπή του αμύλου σε σάκχαρο κατά την ωρίμανση των μήλων, αρχίζει από την περιοχή των σπερμάτων και προχωράει προς το φλοιό του καρπού. Με το τεστ

ιωδίου, που είναι πρακτικό και πολύ εύκολο να εφαρμοστεί, ο παραγωγός μπορεί να προσδιορίσει την περιεκτικότητα του καρπού σε άμυλο. Η εκτίμηση βασίζεται στην σκούρα μπλε χρώση του αμύλου, που παίρνουν τα κύτταρα, όταν έρθουν σε επαφή με διάλυμα ιωδίου σε ιωδιούχο κάλιο. Για ορισμένες ποικιλίες μηλιάς έχουν καθιερωθεί δείκτες αμύλου με τη βοήθεια των οποίων οι παραγωγοί προσδιορίζουν το στάδιο συλλογής για συντήρηση σε CA.

*Οξύτητα:* Καθώς τα φρούτα ωριμάζουν, η ολική οξύτητά τους μειώνεται. Το κύριο οξύ στον χυμό των μήλων είναι το μηλικό οξύ και παίζει καθοριστικό ρόλο στη γευστικότητά τους. Η ποσότητα του οξέος στο χυμό εξαρτάται από την ποικιλία και το στάδιο ωρίμανσης. Η οξύτητα μετριέται με τιτλοδότηση με 0,1N NaOH μέχρι pH=8,2, ενώ υπάρχουν και σύγχρονα χρωματομετρικά tests.

*Μέτρηση αναπνοής-Εσωτερική συγκέντρωση αιθυλενίου (IEC):* Η συγκομιδή των μήλων πρέπει να γίνεται πριν αρχίσει η κλιμακτηριακή αύξηση της αναπνοής. Στο στάδιο αυτό οι καρποί στο δέντρο φτάνουν σε ένα κλιμακτηριακό ελάχιστο, σημείο χαρακτηριστικό της αναπνευστικής δραστηριότητας, που δείχνει ότι έχουν εξασφαλισθεί όλες οι βιολογικές προϋποθέσεις για μια κανονική εξέλιξη των καρπών, και αν απομακρυνθούν από το δέντρο μπορούν να εξελιχθούν κανονικά με το σύνδρομο φαινόμενο της ωρίμανσης που καταλήγει στο στάδιο της οργανοληπτικής ωρίμανσης. Στην πράξη προσδιορίζεται καλύτερα το στάδιο της φυσιολογικής ωρίμανσης με μετρήσεις της IEC με τη βοήθεια GC. Η συγκομιδή των μήλων που προορίζονται για μακρά συντήρηση, πρέπει να γίνεται πριν η IEC υπερβεί τις τιμές 0,1-0,5 ppm. Μεταξύ της IEC και της περιεκτικότητας σε ΔΣΣ παρατηρείται στενή συσχέτιση.

*Χρώμα φρούτου και σπερμάτων:* Το χρώμα των σπερμάτων είναι ένα γενικό κριτήριο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ωρίμανση των μήλων. Το κριτήριο αυτό της ωρίμανσης είναι ιδιαίτερα χρήσιμο στις πρώιμες ποικιλίες μήλων. Το χρώμα της σάρκας και του φλοιού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας της χλωροφύλλης που βρίσκεται ακόμα στο μήλο.

### **1.1.13. Δείκτες ωρίμανσης για τα μήλα Ζαγοράς Πηλίου**

Από τους Σφακιωτάκης κ.ά (1997), πραγματοποιήθηκε έρευνα με σκοπό τη μελέτη διαφόρων δεικτών συλλεκτικής ωρίμανσης των μήλων της περιοχής για πρόγνωση της συντηρησιμότητας και κυρίως της ευαισθησίας των μήλων ποικ. Starking Delicious στο Scald σε διάφορα υψόμετρα και περιόδους συγκομιδής.

Οι δείκτες ωρίμανσης που εκτιμήθηκαν κατά τη συγκομιδή ήταν ο αριθμός ωρών με θερμοκρασία κάτω των 12,5° C μέχρι τη συγκομιδή, η αντίσταση της σάρκας του καρπού στην πίεση, τα ΔΣΣ, η IEC, και ο δείκτης αμύλου-ιωδίου.

Η μελέτη της συντηρησιμότητας των καρπών και η εκτίμηση της ευπάθειας στο Scald έδειξε ότι το Scald περιορίστηκε σημαντικά στους καρπούς που είχαν εκτεθεί για περισσότερες από 100 ώρες σε θερμοκρασίες κάτω των 12,5° C και δεν εμφανίστηκε καθόλου στους καρπούς που συγκέντρωσαν 150 ώρες < 12,5° C. Τα αποτελέσματα αυτά ενισχύουν την υπόθεση ότι τα μήλα κατά την εποχή ωρίμανσης στο δέντρο, έχουν ανάγκη από μια περίοδο σκληραγώγησης με την έκθεση σε θερμοκρασίες του φθινοπώρου (<12,5° C) ώστε να είναι σε θέση να υποστούν την επίδραση των χαμηλών θερμοκρασιών συντήρησης (0° C) χωρίς να πάθουν ζημιές από το ψύχος, που εκδηλώνονται με το Scald.

Από τα δεδομένα της έρευνας προτάθηκε ότι το στάδιο συγκομιδής για την ποικιλία Starking Delicious στην περιοχή Ζαγοράς, είναι κατάλληλο όταν ικανοποιηθούν οι ελάχιστες τιμές των παρακάτω κριτηρίων:

Ωρες θερμοκρασιών κάτω των 12,5° C : >125

Εσωτερική συγκέντρωση αιθυλενίου (ppm) : < 1.0

Δείκτης αμύλου-ιωδίου: 3-4

ΔΣΣ: >11,5%

Συνεκτικότητα σάρκας: <6,5 kgF

### 1.1.13. Εμπορία μήλων

Ένας από τους κύριους παράγοντες που συντέλεσαν στην επέκταση της μηλοκαλλιέργειας στην Ελλάδα, είναι η δυνατότητα συντήρησης των μήλων για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά τη συγκομιδή, μέσα σε εμπορικά ψυγεία. Με τη συντήρηση σε ψυγεία επιδιώκεται η διατήρηση καρπών καλής ποιότητας επί μακρό χρονικό διάστημα, η ομαλή τροφοδοσία της αγοράς και η επιμήκυνση του χρόνου επεξεργασίας όταν τα μήλα προορίζονται για μεταποίηση. Η καρποί των περισσότερων εμπορικών ποικιλιών συγκομίζονται από τα τέλη Αυγούστου έως τέλη Οκτωβρίου και μπορούν να διατηρηθούν υπό συνθήκες κανονικής ατμόσφαιρας σε κοινά ψυγεία από 2 μέχρι 6 μήνες δηλαδή μέχρι και το Μάρτιο. Τους υπόλοιπους 3-4 μήνες υπάρχει ένα κενό το οποίο καλύπτεται με εισαγωγές μήλων από χώρες του εξωτερικού. Τελευταία και στην Ελλάδα άρχισε να εφαρμόζεται η συντήρηση υπό συνθήκες CA παρατείνοντας το χρόνο συντήρησης και διακίνησης των μήλων πέραν των 7 μηνών. Για παράδειγμα καρποί της ποικιλίας Starking Delicious συντηρούνται στα εμπορικά ψυγεία με κοινή ψύξη 4-5 μήνες και με CA πάνω από 7 μήνες.

### 1.1.14. Συντήρηση με μηχανική ψύξη

Η συντήρηση οπωροκηπευτικών προϊόντων σε κοινά ψυγεία βοήθησε στην παράταση της διάθεσής τους για πολλούς μήνες. Πρώτα με τη χρησιμοποίηση πάγου και ύστερα με τη



μηχανική ψύξη δημιουργήθηκαν ψυκτικοί χώροι σε πολλές χώρες του κόσμου με τους οποίους εξασφαλίζεται η διάθεση των νωπών προϊόντων για πολλούς μήνες του έτους. Η γρήγορη ψύξη μετά τη συγκομιδή μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ποιότητα των καρπών καθώς και τη ζωή τους στη συντήρηση και στο ράφι. Καλά γνωστές μέθοδοι που απομακρύνουν την θερμότητα που έχουν τα φρούτα από τον αγρό είναι η υδρόψυξη, η χρήση θρυμματισμένου πάγου, η βεβιασμένη κίνηση ψυχρού αέρα και η ψύξη σε φορτηγά ψυγεία. Πιο εξειδικευμένες μέθοδοι ψύξης χρησιμοποιούν υγρό άζωτο (N) ή CO<sub>2</sub> καθώς τα φρούτα περνούν με ιμάντα από τις συσκευές ψύξης πριν από τη συσκευασία (Ekman *et al.*, 2005).

Στην Ελλάδα υπολογίζεται ότι από τα 66 περίπου ψυγεία που διαθέτει η χώρα και καλύπτουν έναν όγκο 1.600.000 m<sup>3</sup>, τα περισσότερα χρησιμοποιούνται για την συντήρηση οπωροκηπευτικών (Καραουλάνης, 1976). Η συγκέντρωση ψυκτικών χώρων παρουσιάζεται κοντά σε μεγάλα αστικά κέντρα και στις περιοχές όπου παράγεται ο μεγαλύτερος όγκος νωπών προϊόντων. Τη μεγαλύτερη συγκέντρωση παρουσιάζουν οι νομοί Ημαθίας, Λάρισας, Μαγνησίας και Θεσσαλονίκης.

#### 1.1.14.1. Ρύθμιση των συνθηκών περιβάλλοντος στους χώρους συντήρησης

Η ρύθμιση του περιβάλλοντος στα κοινά ψυγεία αποβλέπει στον έλεγχο της θερμοκρασίας, σχετικής υγρασίας και αερισμού.

Ρύθμιση θερμοκρασίας. Η θερμοκρασία επιδιώκεται να διατηρείται στα ψυγεία συντήρησης με μια διακύμανση  $\pm 1^{\circ}$  C από το άριστο επίπεδο που συνιστάται για κάθε προϊόν (Πίν. 1.3). Όταν η συντήρηση γίνεται πολύ κοντά στο σημείο πήξεως χρειάζεται στενότερο εύρος διακύμανσης. Θερμοκρασία κάτω από το κρίσιμο όριο μπορεί να προκαλέσει πάγωμα ή ζημιές από χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ θερμοκρασίες πάνω από το κρίσιμο όριο έχουν ως αποτέλεσμα να συντομεύουν τη διάρκεια συντήρησης στα ψυγεία. Η μεγάλη διακύμανση της θερμοκρασίας προκαλεί απόθεση σταγονιδίων και εφίδρωση στην επιφάνεια του προϊόντος ή και μεγάλες απώλειες υγρασίας.

Η διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας μέσα στα στενά επιθυμητά όρια είναι το αποτέλεσμα καλού σχεδιασμού του συστήματος ψύξης. Το σύστημα πρέπει να είναι σχεδιασμένο έτσι που να είναι σε θέση να ανταπεξέλθει σε περίοδο αιχμής με μεγάλες ποσότητες καρπών, που απαιτούν μεγάλο ψυκτικό φορτίο. Εάν το σύστημα δεν μπορεί να αποδώσει σε περιόδους αιχμής, η θερμοκρασία του αέρα του ψυγείου αυξάνεται και περιορίζεται η διάρκεια συντήρησης του προϊόντος. Το σύστημα ψύξης πρέπει να είναι σχεδιασμένο έτσι ώστε η θερμοκρασία του αέρα που εξέρχεται από τον εξατμιστήρα να

βρίσκεται πολύ κοντά στην επιθυμητή θερμοκρασία συντήρησης. Με αυτό αποφεύγονται οι μεγάλες διακυμάνσεις της θερμοκρασίας σε περιόδους έναρξης και διακοπής της ψύξης.

**Πίνακας 1.3.** Συνθήκες θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας που συνιστώνται για συντήρηση φρούτων και λαχανικών.

Είδος	Θερμοκρασία (°C)	Σχετική υγρασία (%)	Διάρκεια συντήρησης	Κρίσιμη θερμοκρασία παγώματος (°C)	Περιεκτικότητα σε νερό (%)	Ειδική θερμότητα (Btu/lb.°F)
Αβοκάντο	4,4-13	85-90	2-8 εβδ.	-0,3	31,5	0,81
Ακτινίδια	-0,5-0	90-95	3-5 μίν.	-1,6	82	0,86
Αχλάδια	-1,5-0,5	90-95	2-7 μίν.	-1,5	83,2	0,87
Βερίκοκα	-0,5-0	90-95	1-3 εβδ.	-0,3	76	0,88
Βύσσινα	0	90-95	3-7 ημέρ.	-1,7	83,7	0,87
Grapefruit	14-15,5	85-90	6-8 εβδ.	-1	87,5	0,90
Δαμάσκηνα	-0,5-0	90-95	2-5 εβδ.	-0,8	86,6	0,89
Ελιές	5-10	85-90	4-6 εβδ.	-1,4	80	0,84
Κεράσια	-1-0,5	90-95	2-3 εβδ.	-1,8	80,4	0,84
Κυδώνια	-0,5-0	90	2-3 μίν.	-2	83,8	0,87
Λεμόνια	14,3-15,6	85-90	1-6 μίν.	-1,4	87,4	0,90
Μανταρίνια	4	90-95	2-4 εβδ.	-1	87,3	0,90
Μήλα	-1-4	90-95	1-12 μίν.	-1,5	84,1	0,87
Μπανάνες	13-14	90-95	-	-0,7	75,7	0,81
Πορτοκάλια	3-9	85-90	3-8 εβδ.	-1,2	85,5	0,88
Ροδάκινα	-0,5-0	90-95	2-4 εβδ.	-0,9	98,1	0,91
Σταφύλια	-1-0,5	90-95	1-6 μίν.	-2,1	81,6	0,85
Σύκα	-0,5-0	85-90	7-10 ημέρ.	-2,4	78	0,82
Φράουλες	0	95	1-2 εβδ.	-0,8	-	-

Πηγή : Hardenburg *et al*, 1990

Μεγάλη επιφάνεια του εξατμιστήρα σε σχέση με το χώρο ψύξης επιτρέπει τέτοιους χειρισμούς με μικρή διαφορά θερμοκρασίας εξατμιστήρα και περιβάλλοντος χώρου. Στη διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας μεγάλη επίδραση ασκεί και η καλή μόνωση των τοιχωμάτων του ψυγείου καθώς και η καλή κυκλοφορία του αέρα μέσα στο ψυγείο. Το σύστημα κυκλοφορίας πρέπει να εξασφαλίζει κίνηση αέρα με ταχύτητα 0,25 ως 0,35 m / sec γύρω από το κιβώτιο συντήρησης (Σφακιωτάκης, 1995). Αυτό επιτυγχάνεται με ισχυρό ψυκτικό μηχάνημα που διασφαλίζει τουλάχιστον 7,5 εναλλαγές αέρα ανά ώρα (με βάση τη χωρητικότητα του κενού ψυγείου). Κατά το γέμισμα του ψυγείου επιδιώκεται η στοίβαξη των παλετών να γίνεται έτσι ώστε ο ψυχρός αέρας να έρχεται σε επαφή τουλάχιστο με τη μια πλευρά κάθε κιβωτίου συντήρησης.

Μεγάλη σημασία στη διατήρηση ομοιόμορφης σταθερής θερμοκρασίας παίζει και η εγκατάσταση θερμοστατών με ικανοποιητική ακρίβεια  $\pm 0,2^{\circ}$  C, οι οποίοι τοποθετούνται σε αντιπροσωπευτικές θέσεις στο ύψος ανθρώπου (1,5 m από το πάτωμα) για εύκολο έλεγχο και ρύθμιση της επιθυμητής θερμοκρασίας. Αποφεύγεται η τοποθέτηση των θερμοστατών κοντά σε πηγές θερμότητας ή κοντά στις πόρτες, για να μη δέχονται την επίδραση των ρευμάτων αέρα από τον εξωτερικό χώρο. Αποφεύγεται επίσης η τοποθέτηση του θερμοστάτη σε θέσεις με ψυχρά ρεύματα, όπως κοντά και κάτω από τον εξατμιστήρα, για να μη γίνεται εσφαλμένα κακή ρύθμιση της θερμοκρασίας. Ένα καλό θερμόμετρο τοποθετείται κοντά στο θερμοστάτη και γίνεται περιοδικά έλεγχος της ακρίβειας των ενδείξεών του. Η ρύθμιση της θερμοκρασίας επιτυγχάνεται σε ψυγεία με καλά μονωμένα τοιχώματα, με επαρκή ψυκτική ικανότητα, όπως τονίστηκε ανωτέρω.

Ρύθμιση σχετικής υγρασίας. Κατά τη συντήρηση, για τα περισσότερα οπωροκηπευτικά προϊόντα, επιδιώκεται η σχετική υγρασία να διατηρείται στο εύρος από 90 ως 95% (Πίν. 1.3). Σχετική υγρασία κάτω από 90% συντελεί σε απώλειες υγρασίας, ενώ σχετική υγρασία πάνω από 95% ή κοντά στο σημείο κορεσμού (100%) συντελεί σε ανάπτυξη μικροοργανισμών. Για ευαίσθητα στην απώλεια υγρασίας προϊόντα τα ψυκτικά μηχανήματα πρέπει να είναι σχεδιασμένα έτσι ώστε να επιτρέπουν την ανάπτυξη υψηλής σχετικής υγρασίας στο χώρο του ψυγείου. Συνήθως στα κοινά ψυγεία ο εξατμιστήρας λειτουργεί έτσι ώστε να παρουσιάζει  $6^{\circ}$ C χαμηλότερη θερμοκρασία από την επιθυμητή θερμοκρασία. Η  $\Delta t$  δημιουργεί μεγάλη απόθεση υγρασίας στην επιφάνεια του εξατμιστήρα και έχει ως επίδραση τη μείωση της σχετικής υγρασίας στο 70% ως 80% στο χώρο συντήρησης και σταδιακή απώλεια νερού από τα συντηρούμενα προϊόντα. Μεγαλύτερη επιφάνεια εξατμιστήρα επιτρέπει την απόδοση του ίδιου ψυκτικού φορτίου με μικρότερη  $\Delta t$  και κατά συνέπεια δημιουργεί μικρότερη απόθεση

υγρασίας και μεγαλύτερη σχετική υγρασία στο χώρο του ψυγείου. Ο εξατμιστήρας πρέπει να έχει αρκετά μεγάλη επιφάνεια που να δημιουργεί  $\Delta t$  όχι μεγαλύτερη από  $3^{\circ} \text{C}$  από την επιθυμητή θερμοκρασία. Επίσης ρύθμιση της σχετικής υγρασίας επιτυγχάνεται με την εξάτμιση νερού από το προϊόν, απορρόφησή του από τα υλικά συσκευασίας ή εμπλουτισμός με ειδικούς υγραντήρες που μειώνουν το έλλειμμα τάσεως υδρατμών. Πολλές φορές χρησιμοποιούνται υγραντήρες με ψεκασμό ομίχλης ή ατμού για εμπλουτισμό με υγρασία του χώρου του ψυγείου.

Σύσταση ατμοσφαιρικού αέρα. Η σύσταση του ατμοσφαιρικού αέρα στα συστήματα συντήρησης με κοινή ψύξη παραμένει κοντά στις συνήθεις συνθήκες (21%  $\text{O}_2$ , 78%  $\text{N}_2$ ). Στους κλειστούς όμως χώρους των ψυγείων, αν οι πόρτες παρουσιάζουν στεγανότητα, το διοξείδιο του άνθρακα που παράγεται από την αναπνοή των καρπών είναι δυνατόν να συσσωρεύεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις οπότε το οξυγόνο μειώνεται κάτω από τη συνηθισμένη συγκέντρωση (21%), η ατμόσφαιρα τροποποιείται αισθητά και μπορεί να έχει σημαντικότερη θετική επίδραση στη συντηρησιμότητα των προϊόντων. Γι' αυτό και χρησιμοποιείται εκτενώς ανά τον κόσμο για μακρά συντήρηση μήλων και αχλαδιών. Το χαμηλό οξυγόνο ή υψηλό διοξείδιο του άνθρακα εκθέτει σε κίνδυνο τη ζωή των ατόμων που διακινούνται στο χώρο των ψυγείων.

Αερισμός. Η σημασία του αερισμού στα κοινά ψυγεία είναι μεγάλη. Ο αερισμός που επιτυγχάνεται με ειδικούς ανεμιστήρες, εξασφαλίζει κίνηση του αέρα εντός του ψυγείου με τέτοιες ταχύτητες ώστε να επαρκεί για την αφαίρεση της θερμότητας που παράγεται από τους καρπούς με την αναπνοή. Για ορισμένα προϊόντα χρησιμοποιείται εξαερισμός για την ανανέωση του αέρα του ψυγείου με ορισμένες εναλλαγές το 24ωρο, ώστε να απομακρύνονται τα αέρια παράγωγα (αιθυλένιο, ακεταλδεϋδη κ.λ.π.) που έχουν επίδραση στο μεταβολισμό του καρπού. Η εισαγωγή αέρα από τον περιβάλλοντα χώρο του ψυγείου μπορεί να δημιουργεί προβλήματα στη διατήρηση σταθερών συνθηκών θερμοκρασίας και υγρασίας. Συνήθως ο εξαερισμός γίνεται τις νυχτερινές ώρες, όταν η μειωμένη θερμοκρασία συνοδεύεται από υψηλή σχετική υγρασία.

#### 1.1.14.2. Παράγοντες που επηρεάζουν τη συντήρηση

Οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τη ψυχοσυντήρηση των μήλων είναι:

Συγκομιδή. Το στάδιο συλλεκτικής ωρίμανσης και οι χειρισμοί της συγκομιδής έχουν μεγάλη επίδραση στη συντήρηση. Η συγκομιδή στο κατάλληλο στάδιο ωρίμανσης και η προσεκτική συγκομιδή, χωρίς να τραυματίζονται οι καρποί, αποτελούν απαραίτητες προϋποθέσεις για μια καλή και μακροχρόνια συντήρηση. Πρόωρη συγκομιδή έχει σαν αποτέλεσμα τα μήλα να είναι άγευστα ή με μικρή γευστικότητα, ελαφρά άχρωμα, μικρά σε

μέγεθος και με μεγαλύτερη πιθανότητα ανάπτυξης κατά την συντήρηση των μη παρασιτικής φύσεως μετασυλλεκτικών ασθενειών Πικρή Κηλίδωση (Bitter pit) και Scald. Αντίθετα, αν τα μήλα συγκομιστούν πέραν της κανονικής ημερομηνίας τότε είναι μαλακότερα, χάνουν δηλαδή την τραγανότατά τους, αναπτύσσουν την μη παρασιτικής φύσεως ασθένεια Υάλωση (watercore) και έχουν μικρότερη συντηρησιμότητα. Έχει διαπιστωθεί ότι heat shock proteins παίζουν καθοριστικό ρόλο στην μετασυλλεκτική αντοχή των μήλων στις υψηλές ή χαμηλές θερμοκρασίες (Ferguson *et al.*, 1999).

Μετασυλλεκτική μεταχείριση. Οποιαδήποτε κακή μεταχείριση όπως πτώσεις και μωλωπισμοί, καθυστερήσεις, βρώμικες συσκευασίες από το χωράφι έως την είσοδο στην πρόψυξη προκαλούν δραματικές μειώσεις στην αντοχή σε μετασυλλεκτικές απώλειες και μακροχρόνια συντήρηση.

Πρόψυξη. Η αφαίρεση της θερμότητας αγρού με την πρόψυξη είναι απαραίτητη ενέργεια για την εφαρμογή οποιασδήποτε μεθόδου συντήρησης. Καθυστερημένη πρόψυξη προδιαθέτει συνήθως τους καρπούς για περιορισμένη συντήρηση.

Φυτοϋγεία. Η κατάσταση φυτουγείας τόσο των καρπών όσο και των χώρων συντήρησης επηρεάζει τη συντήρηση. Ψεκασμοί των χώρων συντήρησης πριν από το γέμισμα των θαλάμων με κατάλληλα διαλύματα (φορμόλη 2%) ή επικάλυψη των τοιχωμάτων των θαλάμων με μυκητοστατική βαφή περιορίζει πολύ την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών.

Μετασυλλεκτικές συνθήκες χώρου συντήρησης. Μεγάλη επίδραση στη συντήρηση έχουν οι συνθήκες του περιβάλλοντος όπου διατηρούνται οι καρποί και κυρίως, ο έλεγχος της θερμοκρασίας, σχετικής υγρασίας και σύστασης του ατμοσφαιρικού αέρα σε οξυγόνο, διοξείδιο του άνθρακα και αιθυλένιο. Η θερμοκρασία συντήρησης στους ψυκτικούς χώρους μήλων κυμαίνεται μεταξύ  $-0,5^{\circ}\text{C}$  έως και  $5^{\circ}\text{C}$  ανάλογα με την ποικιλία. Για καρπούς της ποικιλίας Starking Delicious, συνιστάται συντήρηση στους  $0^{\circ}\text{C}$  τόσο σε κοινά ψυγεία όσο και σε ψυγεία με CA. Η σχετική υγρασία στους ψυκτικούς χώρους θα πρέπει είναι 95%. Η συντήρηση των μήλων στην Ελλάδα γίνεται κατά κύριο λόγο σε κοινά ψυγεία αλλά και σε ικανοποιητικό βαθμό σε CA.

Καταπονήσεις από το περιβάλλον του ψυκτικού θαλάμου. Στις καταπονήσεις από το περιβάλλον του ψυκτικού χώρου περιλαμβάνονται αλλοιώσεις που οφείλονται σε παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η σύσταση του αέρα σε  $\text{O}_2$  και  $\text{CO}_2$ , η παρουσία άλλων χημικών ουσιών όπως αμμωνίας, αιθυλενίου, DPA κ.α.

Θερμοκρασία. Το σημείο πήξεως στα μήλα που εξαρτάται από την περιεκτικότητα σε σάκχαρα και άλλους παράγοντες, βρίσκεται γύρω στους  $-1,5^{\circ}\text{C}$ . Μετά από ελαφρό πάγωμα

παρατηρούνται αποχρωματισμοί στο φλοιό των καρπών κατά θέσεις. Οι παγωμένοι ιστοί όταν εκτεθούν σε θερμοκρασίες πάνω από 0° C, οι μεσοκυττάριοι χώροι γεμίζουν με χυμούς και τα μήλα μαλακώνουν, γίνονται υδαρή και αργότερα αποκτούν αλευρώδη υφή.

Μειωμένο O<sub>2</sub>. Σε ακραίες περιπτώσεις πολύ μειωμένου οξυγόνου η καταπόνηση τους καρπούς είναι σοβαρή αφού δημιουργούνται μέσα στους ιστούς αναερόβιες συνθήκες που επιφέρουν μη αντιστρεπτές αντιδράσεις στο μεταβολισμό των κυττάρων.

Αυξημένο CO<sub>2</sub>. Η ζημιά από την καταπόνηση της υψηλής συγκέντρωσης του CO<sub>2</sub> εκδηλώνεται στα μήλα με το σύμπτωμα της καστανής καρδιάς. Η "καστανή καρδιά των μήλων (Core Flesh, Brown Core) είναι μια φυσιολογική ασθένεια η οποία έχει παρατηρηθεί σε ορισμένες ποικιλίες μήλων, όπως στην Granny Smith, McIntosh, Cox's Orange Pippin. Εκδηλώνεται με ελαφρά ρόδινο ή καστανωπό χρωματισμό στην περιοχή της σάρκας γύρω από τα σπέρματα που επεκτείνεται με διάχυτη μορφή προς τα έξω. Η ανωμαλία αυτή, προκαλείται εκτός από την αυξημένη συγκέντρωση CO<sub>2</sub>, από χαμηλή θερμοκρασία ή υπερωρίμανση και γηρασμό.

Δράση αιθυλενίου. Το αιθυλένιο ασκεί καθοριστικό ρόλο στη συντήρηση των μήλων επάγοντας την ωρίμανση των καρπών παράλληλα με την κλιμακτηριακή άνοδο της αναπνοής. Το αιθυλένιο παράγεται στα μήλα με αυτοκαταλυτικό τρόπο θέτοντας σε λειτουργία τον μηχανισμό ωρίμανσης των καρπών, ακόμα και όταν βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Η μειωμένη θερμοκρασία συντήρησης επιβραδύνει τη δράση και την παραγωγή του αιθυλενίου, χωρίς όμως να την αναστέλλει τελείως. Ο εξαερισμός του ψυκτικού χώρου περιορίζει τη συσσώρευση και δράση του αιθυλενίου, αλλά παρουσιάζει τεχνικά προβλήματα εφαρμογής στην πράξη (Σφακιωτάκης, 2002).

Ζημιές από αμμωνία. Η έκθεση των καρπών σε αμμωνία προκαλεί μόνιμες βλάβες στους ιστούς οι οποίοι αποκτούν σκούρο χρώμα γύρω από τα φακίδια. Στις κόκκινες ποικιλίες η αντίδραση με την αμμωνία προκαλεί αλλαγή των χρωστικών από κόκκινο σε μπλε μελανό. Τα συμπτώματα σε μήλα της ποικιλίας Golden Delicious εμφανίζονται με πράσινο-λαδί κηλίδες γύρω από τα φακίδια.

Ζημιές από DPA. Αυξημένες συγκεντρώσεις διφαινυλαμίνης είναι δυνατόν να δράσουν τοξικά και να προκαλέσουν ζημιές στους καρπούς. Τα συμπτώματα εμφανίζονται με μαύρες κηλίδες ή αποχρωματισμούς κατά θέσεις του φλοιού και κυρίως στην κοιλότητα του κάλυκα όπου συσσωρεύεται ποσότητα DPA μετά την εφαρμογή στα μήλα (Σφακιωτάκης, 1995).

### 1.1.15. Μεθωρίμανση των φρούτων μετά την αποθήκευση και ζωή στο ράφι

Τα αχλάδια, δαμάσκηνα και τα ροδάκινα δεν ωριμάζουν σε θερμοκρασία κοντά στους 0°C αλλά μετά τη συντήρηση όταν η θερμοκρασία ανέβει ικανοποιητικά. Η βέλτιστη θερμοκρασία και η διάρκεια της ωρίμανσης εξαρτάται από το χρόνο αποθήκευσης στις χαμηλές θερμοκρασίες. Σε πολλές περιπτώσεις για τη σταδιακή ωρίμανση των φρούτων αυξάνεται η θερμοκρασία στους θαλάμους συντήρησης όπως στα αχλάδια ποικ. Passa Crassana που η θερμοκρασία ανεβαίνει από τους 0° C στους 4°C. Στα μήλα στις περισσότερες περιπτώσεις η μεθωρίμανση δεν είναι χρήσιμη αν τα φρούτα συγκομίστηκαν πολύ νωρίς ή συντηρούνται για μακρό χρονικό διάστημα σε χαμηλή θερμοκρασία αλλά ίσως χρειαστεί προσθήκη αιθυλενίου για την γρήγορη ωρίμανσή τους όπως γίνεται στις τομάτες και μπανάνες. Η ζωή στο ράφι μετά τη συντήρηση δεν μπορεί να εκτιμηθεί διότι χαρακτηρίζεται από μεγάλη παραλλακτικότητα που εξαρτάται από το στάδιο ωρίμανσης των φρούτων κατά τη συγκομιδή, συνθήκες αποθήκευσης, μεταφοράς και έκθεσης μετά τη συντήρηση. Σε αυτές τις συνθήκες αναπτύσσονται πολλές φυσιολογικές δυσλειτουργίες. Μερικές από αυτές που είναι συνήθεις σε πολλά φρούτα είναι το Scald και η εσωτερική κατάρρευση στα μήλα, η ελαιοκυττάρωση των εσπεριδοειδών, η ανικανότητα των κουνουπιδιών, σέλινου, πατατών και κρεμμυδιών να ωριμάσουν μετά τη συντήρηση εξαιτίας μη ιδανικής θερμοκρασίας συντήρησης ή συντήρηση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα από αυτό που μπορεί να ανεχτεί το φρούτο ή λαχανικό. Πολλές από τις δυσλειτουργίες που προκαλούνται στα φρούτα δεν είναι άμεσα παρατηρήσιμες στη συντήρηση, ενώ εμφανίζονται εντονότερα κατά τη ζωή στο ράφι. Συνήθως, οι δυσλειτουργίες αυτές έχουν σχέση με μεταβολή ενζυμικών λειτουργιών.

## 1.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

### 1.2.1. Γενικά

Ως υπολείμματα (residues) γεωργικών φαρμάκων ή φυτοπροστατευτικών προϊόντων (Φ.Π.) θεωρούνται ουσίες ή μίγματα ουσιών που βρίσκονται στην τροφή των ανθρώπων ή των ζώων και προέρχονται από τη χρησιμοποίηση Φ.Π. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται και οι ουσίες που είναι προϊόντα διάσπασης, μεταβολισμού (σχετικοί μεταβολίτες) ή χημικής αντίδρασης εφόσον είναι τοξικολογικά σημαντικές (FAO, 1981). Η έννοια των υπολειμμάτων έχει επεκταθεί πλέον της τροφής που δέχεται ο άνθρωπος και στις ουσίες που παραμένουν στο περιβάλλον ή και σε οργανισμούς μη στόχους μετά την εφαρμογή του Φ.Π.

Με την κατανάλωση γεωργικών προϊόντων που περιέχουν υπολείμματα Φ.Π. ο ανθρώπινος οργανισμός δέχεται μικροποσότητες τοξικών ουσιών και οι επιπτώσεις είναι συνάρτηση των τοξικολογικών ιδιοτήτων κάθε Φ.Π. και της συγκέντρωσης του στα τρόφιμα. Για πρακτικούς λόγους έχει καθιερωθεί από τους διεθνείς οργανισμούς ένας όρος που μας δίνει μια εκτίμηση της τοξικότητας για κάθε ουσία. Ο όρος αυτός είναι η **Ημερήσια Αποδεκτή Δόση** (Acceptable Daily Intake- **ADI**), που ορίζεται σαν η ποσότητα της ουσίας σε mg/kg σωματικού βάρους / ημέρα που μπορεί να καταναλώσει ένας άνθρωπος ή ζώο για όλη του τη ζωή του χωρίς βλάβη της υγείας του. Ο καθορισμός της ADI είναι σχετικά δύσκολος και γίνεται αφού εκτιμηθεί η ποσότητα NOEL (No Observable Effect Level) και με τη βοήθεια ενός συντελεστή ασφαλείας. Έτσι, η ADI μπορεί να πάρει τιμές από NOEL/100 μέχρι NOEL/1000, όταν υπάρχουν ιδιαίτεροι λόγοι προβληματισμού για τη τιμή NOEL (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, 1991). Για να προστατεύεται η υγεία των καταναλωτών και να διευκολύνεται το διεθνές εμπόριο, καθιερώθηκε ο όρος **Ανώτατο Αποδεκτό Όριο Υπολειμμάτων** (Maximum Residue Limit, **MRL**), που εκφράζεται σε mg δραστικής ουσίας/kg προϊόντος για κάθε συνδυασμό καλλιέργειας-Φ.Π. Για τον καθορισμό του MRL ενός Φ.Π. σε κάποιο γεωργικό προϊόν λαμβάνεται υπόψη η τιμή ADI, το βάρος του ανθρώπου και το ποσοστό συμμετοχής του προϊόντος στη καθημερινή διαίτα ενός λαού, θεωρώντας ότι ο μέσος όρος ισχύει και για κάθε άτομο.

Το πρώτο σχετικό νομοθέτημα της Ε.Ε. για τα ανώτατα όρια υπολειμμάτων στα φρούτα και τα λαχανικά, ήταν η οδηγία 76/895/ΕΟΚ το 1976. Επιστέγασμα των κοινοτικών πρωτοβουλιών στο τομέα αυτό αποτελεί η 90/642/ΕΟΚ οδηγία του Συμβουλίου, όπως τροποποιήθηκε με τις 93/58/ΕΟΚ και 94/30/ΕΟΚ οδηγίες, με την οποία θεσμοθετείται ο επιστημονικά τεκμηριωμένος καθορισμός για όλες τις δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται



για φυτοπροστασία στη Κοινότητα, και επιβάλλεται η υποχρεωτική αποδοχή τους από τις χώρες-μέλη. Τα όρια αυτά αφορούν κάθε εδάδιμο γεωργικό είδος μεμονωμένα και αναλυτικά, όπως αυτά καθορίζονται από το παράρτημα της οδηγίας. Για τον καθορισμό των νεότερων αυτών ορίων ελήφθησαν υπόψη μόνο επιστημονικά δεδομένα και γενικά τέθηκαν και ακολουθήθηκαν αυστηρές διαδικασίες (Λέντζα-Ρίζου, 1994).

Η Ε.Ε. ζητάει από τα κρατικά εργαστήρια να ελέγχουν στα φυτικά προϊόντα ενώσεις για τις οποίες έχει θεσπίσει MRLs. Η νομοθεσία της Ε.Ε. καλύπτει μέχρι τώρα, όσον αφορά τα MRLs, περίπου 200 και πλέον δραστικές ουσίες, ενώ οι Ευρωπαϊκές χώρες έχουν και εθνικά MRLs για τις περιπτώσεις, που δεν καλύπτονται από τη κοινοτική νομοθεσία. Για την Ελλάδα όπου δεν υπάρχουν εθνικά ή κοινοτικά MRLs γίνονται αποδεκτά τα MRLs των διεθνών οργανισμών FAO/WHO. Επιπλέον, η Ε.Ε. έχει εκδώσει, κατευθυντήριες οδηγίες (guidelines) για τις αναλύσεις φυτικών προϊόντων για υπολείμματα Φ.Π. (Μηλιάδης, 2001).

Οι **αναλύσεις υπολειμμάτων Φ.Π.** αποτελούν μια δύσκολη και εξειδικευμένη κατηγορία χημικής ανάλυσης. Κάτω από την πίεση της κοινής γνώμης για την παρακολούθηση των τοξικολογικών και οικολογικών επιπτώσεων εξαιτίας της χρήσης Φ.Π., αυξήθηκαν οι απαιτήσεις για ένα πιο αυστηρό έλεγχο των φυτικών προϊόντων. Υπάρχει η τάση τα ανώτατα επιτρεπτά όρια να ελαττώνονται μετά από επανεξετάσεις, με αποτέλεσμα να υπάρχει διαρκής απαίτηση για την αύξηση της ευαισθησίας των μεθόδων, με συνέπεια να πολλαπλασιάζονται τα αναλυτικά προβλήματα επιτυχούς προσδιορισμού. Ακόμα πρέπει να επισημανθεί ότι τα επίπεδα των προς προσδιορισμό υπολειμμάτων Φ.Π. σε δείγματα φυτικής προέλευσης είναι χαμηλά, της τάξεως mg/kg ή σε μερικές φορές μg/kg. Πρόκειται δηλαδή για ιχνοανάλυση, εφόσον πρέπει να προσδιοριστούν πολύ μικρές ποσότητες του Φ.Π. Επομένως, η ανάλυση υπολειμμάτων είναι πολύ δύσκολη σε σχέση με τις άλλες κατηγορίες ανάλυσης και απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό που να κατανοεί σε βάθος τη σημασία κάθε σταδίου της εργασίας. Σταθμό στην επιστήμη της ανάλυσης των υπολειμμάτων αποτέλεσε η ανάπτυξη χρωματογραφικών τεχνικών, δηλαδή της αέριας χρωματογραφίας (GC) και της υγρής χρωματογραφίας (LC, HPLC), η χρήση εξειδικευμένων χρωματογραφικών ανιχνευτών, όπως οι ECD, NPD, FPD καθώς και η δυνατότητα σύζευξης των χρωματογραφικών συστημάτων με φασματομετρικούς ανιχνευτές διαφόρων τύπων.

### **1.2.2. Μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων Φ.Π.**

Για την επιλογή μιας αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων λαμβάνονται υπόψη τα παρακάτω:

- ✓ Η διεθνής βιβλιογραφία, δηλαδή οι μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί στο συγκεκριμένο αντικείμενο.
- ✓ Η αξιολόγηση μιας μεθόδου από πολλά συνεργαζόμενα εργαστήρια (collaborative study).
- ✓ Η δυνατότητα που παρέχει η μέθοδος για ταυτόχρονο προσδιορισμό περισσότερων της μιας ουσιών.
- ✓ Η ικανότητα της μεθόδου για προσδιορισμό ουσιών σε συγκεντρώσεις αρκετά μικρότερες από το ανώτατο επιτρεπτό όριο (MRLs).
- ✓ Η ικανότητα προσαρμογής της μεθόδου σε ένα μέσο εργαστήριο ανάλυσης υπολειμμάτων εφοδιασμένο με τα βασικά αναλυτικά όργανα.
- ✓ Ο σκοπός της ανάλυσης, δηλαδή αν η ανάλυση γίνεται για έλεγχο, έρευνα, επιβολή κυρώσεων κ.α., καθώς και οι απαιτήσεις για ταχύτητα ή ακρίβεια.

Οι μέθοδοι προσδιορισμού των υπολειμμάτων Φ.Π. διακρίνονται σε πολυδύναμες (multi residue methods) και εξειδικευμένες (specific methods). Οι **Πολυδύναμες ή πολύ-υπολειμματικές μέθοδοι** επιτρέπουν τον ταυτόχρονο προσδιορισμό πολλών φυτοφαρμάκων (μέχρι και 200-300) και είναι ιδιαίτερα χρήσιμες και δημοφιλείς αφενός για τον προκαταρκτικό έλεγχο (screening) των γεωργικών προϊόντων αλλά και για την προσφερόμενη οικονομία ανθρώπινων και αναλυτικών πόρων, όμως μόνες οι πολυδύναμες μέθοδοι δεν αρκούν για την επισήμανση και τον προσδιορισμό του συνολικού ρυπαντικού φορτίου ενός δείγματος (Λέντζα-Ρίζου, 2000). Εξειδικευμένες ή μόνο-υπολειμματικές μέθοδοι (Specific or single residue methods), είναι αυτές με τις οποίες προσδιορίζεται ένα μόνο Φ.Π. ή και ορισμένες μόνο συγγενείς ουσίες. Για ικανό αριθμό κυκλοφορούντων Φ.Π., απαιτείται η χρήση εξειδικευμένων μεθόδων ανάλυσης για τον προσδιορισμό τους. Οι έλεγχοι και τα πιστοποιητικά ελέγχου υπολειμμάτων Φ.Π., έχουν ισχύ μόνον όσο αφορά τα υπολείμματα που είναι δυνατόν να προσδιοριστούν με τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε.

### 1.2.3. Αξιολόγηση (validation) των μεθόδων προσδιορισμού υπολειμμάτων

Οποιαδήποτε μέθοδος προσδιορισμού υπολειμμάτων, ακόμα και αν χρησιμοποιείται ευρέως, πρέπει να αξιολογείται και να ελέγχεται από τον αναλυτή ή το εργαστήριο που πρόκειται να την χρησιμοποιήσει για πρώτη φορά.

Ο έλεγχος αυτός γίνεται μελετώντας διάφορες αναλυτικές παραμέτρους από τις οποίες οι πλέον βασικές είναι οι παρακάτω:

#### ✓ **Ορθότητα** (accuracy)

Σύμφωνα με τον ΕΛΟΤ, ο όρος accuracy αποδίδεται ορθότητα. Η ορθότητα μιας μεθόδου είναι το ποσοστό προσέγγισης των αποτελεσμάτων που επιτυγχάνονται με αυτή τη μέθοδο

σε διαφορετικά δείγματα σε σχέση με τη πραγματική τιμή. Η διαφορά μεταξύ πειραματικής και πραγματικής τιμής που αντιστοιχεί στην απόλυτη ακρίβεια (ή απόλυτο σφάλμα), μπορεί να οφείλεται σε τυχαίο ή καθορισμένο σφάλμα.

✓ **Ακρίβεια** (precision)

Σύμφωνα με τον ΕΛΟΤ, ο όρος ακρίβεια της μεθόδου είναι η δυνατότητα να επιτυγχάνονται επαναλήψιμα αποτελέσματα από τον ίδιο αναλυτή, κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Για τον έλεγχο της επαναληψιμότητας πρέπει να γίνουν τουλάχιστον 5 ίδιες αναλύσεις. Η επαναληψιμότητα εκτιμάται με την % σχετική τυπική απόκλιση (ΣΤΑ ή RSD ή CV).

✓ **Αναπαραγωγιμότητα** (reproducibility)

Αναπαραγωγιμότητα είναι η ικανότητα της αναπαραγωγής των αποτελεσμάτων από άλλα ανεξάρτητα εργαστήρια. Για τον έλεγχο της αναπαραγωγιμότητας, συνήθως το ίδιο δείγμα διαιρείται σε υποδείγματα και αναλύεται από δύο ή περισσότερα εργαστήρια. Εκτιμάται η % σχετική τυπική απόκλιση των αποτελεσμάτων.

✓ **Εξειδίκευση** (specificity)

Εξειδίκευση είναι η ικανότητα της μεθόδου να επιτρέπει με αξιοπιστία τον προσδιορισμό του μητρικού μορίου και των μεταβολιτών που πρέπει να προσδιορισθούν. Η εξειδίκευση δηλώνει ακόμα τον αριθμό των ουσιών που μπορούν να προσδιοριστούν με τη μέθοδο.

✓ **Εκλεκτικότητα** (selectivity)

Εκλεκτικότητα είναι η ικανότητα μιας αναλυτικής μεθόδου να προσδιορίζει μια ουσία παρουσία άλλων ουσιών.

✓ **Γραμμικότητα του ανιχνευτή.**

Συνήθως, οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται στους προσδιορισμούς υπολειμμάτων Φ.Π. δεν δίνουν ευθύγραμμη απόκριση σε όλο το εύρος των συγκεντρώσεων. Είναι απαραίτητο να προσδιορισθούν ακριβώς τα εύρη των συγκεντρώσεων, στα οποία η απόκριση των ανιχνευτών είναι ανάλογη της πραγματικής συγκέντρωσης στο δείγμα.

✓ **Ευαισθησία** (sensitivity)

Η ευαισθησία δείχνει τη μικρότερη ποσότητα μιας ουσίας που μπορεί να ανιχνευθεί. Όσο μεγαλύτερη είναι η ευαισθησία τόσο μικρότερο είναι το όριο ανίχνευσης. Η ευαισθησία δίνεται συνήθως ως η κλίση της καμπύλης αναφοράς.

✓ **Όριο ανίχνευσης και όριο ποσοτικού προσδιορισμού (Limit Of Determination-LOD, και Limit Of Quantitation-LOQ).**

Οι διάφορες αναλυτικές μέθοδοι επιτρέπουν την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό υπολειμμάτων που υπάρχουν στο δείγμα πάνω από κάποια συγκέντρωση του αναλύτη ( της προς προσδιορισμό δραστικής ουσίας). Αν με τη χρησιμοποιούμενη αναλυτική

μεθοδολογία δεν ανιχνεύεται κάποιο Φ.Π. σε κάποιο δείγμα, αυτό δε σημαίνει ότι το δείγμα δεν περιέχει καθόλου το εν λόγω Φ.Π., αλλά ότι ίσως είναι τέτοια η συγκέντρωσή του Φ.Π. που δεν μπορεί να προσδιοριστεί. Σε αυτή τη περίπτωση μιλάμε για μη ανιχνεύσιμα υπολείμματα Φ.Π.. Η ελάχιστη ποσότητα κάθε Φ.Π. που είναι δυνατόν να ανιχνευθεί με κάθε μέθοδο είναι στοιχείο με πολύ μεγάλη σημασία για την ανίχνευση υπολειμμάτων Φ.Π. και άλλων τοξικών ουσιών. Όριο ανίχνευσης (LOD), είναι η ελάχιστη συγκέντρωση στο δείγμα που μπορεί να ανιχνευθεί ποιοτικά με την εν χρήσει μέθοδο. Πρακτικά θεωρούμε ως όριο ανίχνευσης τη ποσότητα του συστατικού που μας δίνει σήμα διπλάσιο ή τριπλάσιο από το θόρυβο του σήματος του ανιχνευτή.

**Όριο ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ)**, είναι η ελάχιστη συγκέντρωση που μπορεί να προσδιορισθεί ποσοτικά με αξιοπιστία (ακρίβεια και ορθότητα). Ως όριο ποσοτικού προσδιορισμού συνήθως ορίζεται η ποσότητα εκείνη του συστατικού που μας δίνει σήμα δεκαπλάσιο από του θορύβου και προσδιορίζεται με δεδομένη αξιοπιστία.

### **1.2.5. Δειγματοληψία (sampling) και διατήρηση των δειγμάτων**

Η δειγματοληψία έχει σαν στόχο την απόκτηση μιας κατάλληλης αλλά και αντιπροσωπευτικής του όλου ποσότητας του προϊόντος για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των Φ.Π. λαμβάνοντας υπόψη τον ιδιαίτερο σκοπό της ανάλυσης. Οι FAO/WHO έχουν εκδώσει δυο σχετικές οδηγίες. Η μια αφορά τις πειραματικές εφαρμογές Φ.Π. (supervised trials) και τις δειγματοληψίες που γίνονται για μελέτες αποδόμησης και τον καθορισμό της ημερομηνίας της τελευταίας εφαρμογής πριν τη συγκομιδή. Η δεύτερη αφορά τον συνιστάμενο τρόπο δειγματοληψίας σε φορτία του εμπορίου. Σε κάθε περίπτωση η κυρίαρχη ιδιότητα που πρέπει να έχουν τα δείγματα που λαμβάνονται, είναι η αντιπροσωπευτικότητα. Αν και το μέγεθος των φρούτων διαφέρει μεταξύ των ποικιλιών δεν βρέθηκε να επηρεάζει τις μετρήσεις υπολειμμάτων Φ.Π. (Bramlage *et al.*, 1996). Η ορθότητα και η ακρίβεια μιας αναλυτικής μεθόδου επηρεάζεται από τη δειγματοληψία και την προετοιμασία των δειγμάτων. Ακόμα και αν εφαρμόζεται η πιο ακριβής αναλυτική μέθοδος, θα καταλήξει σε λανθασμένα συμπεράσματα, αν η δειγματοληψία δεν έχει διενεργηθεί σωστά. Η δειγματοληψία θα πρέπει να γίνεται από εκπαιδευμένο προσωπικό, σύμφωνα με τις αρχές δειγματοληψίας, τις οδηγίες από τους διεθνείς οργανισμούς (FAO, WHO, E.E.) και τις απαιτήσεις της εφαρμοζόμενης αναλυτικής μεθόδου. Τα δείγματα πρέπει να συσκευάζονται κατάλληλα ώστε να αποφεύγονται αλλοιώσεις, διαρροές (για υγρά μείγματα) και μολύνσεις των προϊόντων, και να οδηγούνται στον εργαστηριακό χώρο όσο το δυνατό πιο γρήγορα. Κάθε δείγμα πρέπει να φέρει σήμανση και να συνοδεύεται από πρωτόκολλο, που θα αναφέρεται στη

φύση και τη προέλευση του δείγματος, την ημερομηνία και τον τόπο της δειγματοληψίας μαζί με πρόσθετες πληροφορίες που πιθανώς θα χρειασθούν κατά την ανάλυση.

Ο βέλτιστος αριθμός των στοιχειωδών δειγμάτων κυμαίνεται μεταξύ δέκα και είκοσι. Στην πράξη ο αριθμός των δέκα στοιχειωδών δειγμάτων ανά δειγματοληψία είναι ικανοποιητικός. Για τον προσδιορισμό του μέσου επιπέδου των υπολειμμάτων ενός φορτίου, η ανάλυση τριών επαναλήψεων εργαστηριακών δειγμάτων φαίνεται να είναι επαρκής.

Το **ολικό δείγμα** (bulk sample) δημιουργείται από την ενοποίηση και ανάμιξη των αρχικών ή στοιχειωδών δειγμάτων (primary samples). Το ολικό δείγμα ή το αντιπροσωπευτικό μέρος αυτού θα συγκροτήσει το **τελικό δείγμα** (Final Sample). Το τελικό δείγμα που φτάνει στο εργαστήριο συνήθως υποδιαιρείται σε μικρότερα δείγματα. Ένα από αυτά είναι το **εργαστηριακό δείγμα** (Laboratory Sample) που συνήθως χωρίζεται σε δυο μέρη, το ένα από αυτά φυλάγεται ως μάρτυρας (αντιδείγμα) ενώ το άλλο υποβάλλεται σε κατεργασία για την ανάλυσή του. Ο ελάχιστος αριθμός των 5 τεμαχίων του προϊόντος στο εργαστηριακό δείγμα μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητικός τόσο από θεωρητικής όσο και από πρακτικής άποψης. Όσον αφορά τη μείωση από ολικό σε εργαστηριακό δείγμα, αυτή μπορεί να γίνει με πολλούς τρόπους, όπως είναι η μέθοδος των τεταρτημορίων ή με μηχανικό σύστημα.

Όσον αφορά τη δειγματοληψία για τον έλεγχο υπολειμμάτων Φ.Π. από φορτία γεωργικών προϊόντων ο ελάχιστος αριθμός των αρχικών δειγμάτων καθορίζεται από το μέγεθος του φορτίου (Lot) ή από τον αριθμό των εμπορευματοκιβωτίων. Χονδρικά, για ποσότητες φορτίων πάνω από 500kg, ο ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που απαιτείται κυμαίνεται από 10-15. Για φορτία κάτω των 500kg απαιτούνται 3-5 στοιχειώδη δείγματα. Ο ελάχιστος αριθμός των 5 τεμαχίων του προϊόντος στο εργαστηριακό δείγμα μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητικός τόσο από θεωρητικής όσο και από πρακτικής άποψης. Ποσότητα 1 kg μήλων, θεωρείται η ελάχιστη ικανή να αποτελέσει το εργαστηριακό δείγμα.

Σύμφωνα με την Σουηδική μέθοδο ανάλυσης των υπολειμμάτων σε μήλα θα πρέπει να λαμβάνονται τρία τουλάχιστον δείγματα των  $2 \pm 1$  kg από το αρχικό δείγμα. Σε αρχικό δείγμα 2.000 kg παίρνονται 10-15 αναλυτικά δείγματα που το καθένα θα πρέπει να έχει βάρος τουλάχιστον 1 kg και να περιέχει τουλάχιστον  $10 \pm 2$  μονάδες του φυτικού υλικού που θα αναλυθεί για την ανίχνευση υπολειμμάτων. Επειδή, στα μεγάλα εμπορευματοκιβώτια περιέχονται μήλα από πολλούς παραγωγούς συνήθως οι ουσίες που ανιχνεύονται μετά από δειγματοληψία είναι κάτω από τα MRLs, αν και μπορεί σημειακά να περιέχεται και φυτικό υλικό με αρκετά υψηλή υπολειμματικότητα σε Φ.Π. (Andersson, 2000)

Σε έρευνες υπολειμματικότητας Φ.Π. σε φρούτα με χρήση πειραματικών τεμαχίων (Supervised trials) συνιστάται το ελάχιστο μέγεθος δείγματος από κάθε πειραματικό τεμάχιο να περιέχει 24 καρπούς από διαφορετικές θέσεις του δέντρου από τουλάχιστον 4 διαφορετικά δέντρα (FAO, 1986). Προσοχή πρέπει να δίνεται στα δείγματα του μάρτυρα (δείγματα από τεμάχια όπου δεν έγινε επέμβαση με το Φ.Π.) τα οποία λαμβάνονται πριν από τα άλλα δείγματα ώστε να αποφεύγεται η επιμόλυνση τους από τα εργαλεία ή τα χέρια. Οι γενικοί κανόνες δειγματοληψίας που ισχύουν τόσο για τα κυρίως δείγματα όσο και για το μάρτυρα, είναι α) να επιλέγονται απολύτως υγιή φυτά ή μέρη αυτών και κανονικής ανάπτυξης, β) να μην απομακρύνονται τα επιφανειακά κατάλοιπα των Φ.Π. κατά τη λήψη ή συσκευασία των δειγμάτων, γ) να λαμβάνεται επαρκής ποσότητα για όλες τις πιθανές επαναλήψεις και δ) να αποφεύγεται η επιμόλυνση των δειγμάτων κατά τη λήψη και μεταφορά-αποστολή.

Για τη διατήρηση (συντήρηση) του δείγματος στην αρχική του κατάσταση, πρέπει να ληφθούν ειδικά μέτρα ώστε να αποτραπούν μολύνσεις, απώλειες, διασπάσεις κ.λ.π. Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται στις αλλοιώσεις που μπορούν να προκαλέσουν η θερμοκρασία, το δοχείο φύλαξης, η ατμόσφαιρα και το φως. Συνήθειες τεχνικές για τη διατήρηση του δείγματος είναι: α) Επιλογή κατάλληλου δοχείου αποθήκευσης, β) Ψύξη του δείγματος, γ) προσθήκη χημικών σταθεροποιητών, π.χ. αντιοξειδωτικών. Κατά την αποθήκευση στην κατάψυξη (-24° C) των δειγμάτων μήλων, χυμών, ξηρού και υγρού μηλοπολτού τα υπολείμματα DPA δεν μεταβάλλονται σημαντικά για διάστημα 5-7 μηνών (Anderson, 2000).

### **1.2.7. Αναλυτική διαδικασία**

Από τη στιγμή που φθάνει το δείγμα στο εργαστήριο και μέχρι τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων, ακολουθείται μια διαδικασία που περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

- 1) Προετοιμασία αναλυτικού δείγματος
- 2) Εκχύλιση
- 3) Καθαρισμός και Συμπύκνωση
- 4) Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός

#### **1.2.7.1. Προετοιμασία των αναλυτικών δειγμάτων**

Ο σκοπός της προετοιμασίας του αναλυτικού δείγματος είναι η λήψη μιας πλήρως αντιπροσωπευτικής μερίδας του εργαστηριακού δείγματος ή ένα συγκεκριμένο μέρος αυτού ανάλογα με το σκοπό της ανάλυσης. Σε ειδική οδηγία της Ε.Ε. ορίζεται το μέρος του γεωργικού προϊόντος στο οποίο αναφέρονται τα MRLs, και επομένως το μέρος στο οποίο πρέπει να γίνει η ανάλυση. Στις περισσότερες περιπτώσεις, τα MRLs αναφέρονται σε

ολόκληρα προϊόντα όπως αυτά κυκλοφορούν στο εμπόριο π.χ. ολόκληρα μήλα. Το εργαστηριακό δείγμα αλέθεται και ομογενοποιείται με εργαστηριακούς ομογενοποιητές, με τη χρήση κοινών ηλεκτρικών 'blenders' οικιακής χρήσεως ή απλή ανάμιξη, ανάλογα με το φυτικό προϊόν. Από το ομογενοποιημένο δείγμα παίρνουμε μια μικρή ποσότητα που προορίζεται για ανάλυση. Αυτό είναι το αναλυτικό δείγμα. Στις παλαιότερες μεθόδους το αναλυτικό δείγμα ήταν της τάξεως των 100-250 g, ενώ σήμερα με την αύξηση της ευαισθησίας των μεθόδων, και την τάση για περιορισμό του όγκου των χρησιμοποιούμενων διαλυτών, το αναλυτικό δείγμα είναι της τάξεως των 15-50 g (Λέντζα-Ρίζου, 2000). Για παράδειγμα, στην περίπτωση δείγματος μήλων, γίνεται επιλογή κάποιων καρπών από το εργαστηριακό δείγμα, και στη συνέχεια αλέθονται τα δύο αντιδιαμετρικά τεταρτημόρια του κάθε καρπού. Ακολουθεί ομογενοποίηση του αλεσμένου δείγματος και λήψη του αναλυτικού δείγματος. Αν η ανάλυση των δειγμάτων δεν γίνει άμεσα πρέπει να αποθηκευτούν σε ψύξη ή κατάψυξη (-20° C) όπου η αποικοδόμηση των Φ.Π. θεωρείται ότι πραγματοποιείται με εξαιρετικά χαμηλό ρυθμό.

#### 1.2.7.2. Εκχύλιση (extraction)

Η εκχύλιση είναι η διαδικασία με την οποία τα Φ.Π. διαχωρίζονται από τους φυτικούς ιστούς με κατάλληλα εκχυλιστικά διαλύματα. Η επιλογή των εκχυλιστικών μέσων είναι καθοριστικής σημασίας για την επιτυχία μιας ανάλυσης. Επιδίωξη είναι το μέσο εκχύλισης να διαθέτει μεγάλη εκχυλιστική ικανότητα, ώστε να μπορεί να αποδεσμεύσει τα μόρια των Φ.Π. από τα σύμπλοκα των ιστών, παράλληλα όμως να είναι αρκετά εκλεκτικό ώστε να αποφεύγεται η εκχύλιση ανεπιθύμητων ουσιών από το υπό μελέτη υπόστρωμα, ώστε το εκχύλισμα να είναι όσο το δυνατό πιο καθαρό. (Υπόστρωμα είναι το προς ανάλυση προϊόν).

Οι περισσότερες φυτικές ουσίες είναι πολικές, με εξαίρεση τους κηρούς και τα έλαια. Οι παλαιότερες πολυδύναμες μέθοδοι χρησιμοποιούσαν μείγματα διαλυτών διαφορετικής πολικότητας, ώστε πολικές και μη πολικές ουσίες να εκχυλίζονται ταυτόχρονα. Συνέπεια της χρήσης τέτοιων μιγμάτων ήταν η ταυτόχρονη συνεκχύλιση φυτικών ιστών και η δημιουργία γαλακτωμάτων. Σήμερα υπάρχει η τάση για χρήση ενός μόνο διαλύτη.

Χρησιμοποιούνται διαλύτες ειδικής ποιότητας, όπως διαλύτες με προδιαγραφές καθαρότητας pesti-grade ή HPLC-grade ή κοινοί διαλύτες διπλοαπεσταγμένοι σε γυαλί. Οι πλέον χρησιμοποιούμενοι για εκχύλιση διαλύτες είναι η ακετόνη, το διχλωρομεθάνιο, πετρελαϊκός αιθέρας, ο οξικός αιθυλεστέρας, η μεθανόλη και το ακετονιτρίλιο. Το ακετονιτρίλιο δίνει καθαρότερα εκχυλίσματα, είναι όμως περισσότερο τοξικό και εξατμίζεται δυσκολότερα από την ακετόνη. Η ακετόνη είναι περισσότερο πτητική, λιγότερο τοξική και σχετικά φθηνή έχει όμως μεγάλη συνεκχυλιστική ικανότητα. Ο οξικός αιθυλεστέρας είναι

κατάλληλος για την εκχύλιση μη πολικών και μέσης πολικότητας Φ.Π. και δίνει καθαρότερα εκχυλίσματα από την ακετόνη. Τα κριτήρια επιλογής ενός διαλύτη εκχύλισης είναι: Η έλλειψη αντίδρασης μεταξύ του διαλύτη και των Φ.Π., η πολικότητα του διαλύτη προς αυτή του Φ.Π., η διαλυτότητα των Φ.Π. στους διάφορους διαλύτες, η τοξικότητα του διαλύτη, η πτητικότητα του διαλύτη, η καθαρότητα του διαλύτη και το κόστος του διαλύτη.

#### 1.2.7.3. Καθαρισμός του εκχυλίσματος (Clean up)

Η διαδικασία καθαρισμού είναι το πιο σημαντικό στάδιο στην ανάλυση υπολειμμάτων, αφού το εκχύλισμα που παραλαμβάνουμε από το προηγούμενο στάδιο περιέχει εκτός από την απειροελάχιστη ποσότητα Φ.Π. και πολλά συνεκχυλίσματα (Coextractives) τα οποία προέρχονται από το φυτικό υπόστρωμα. Η συγκέντρωσή τους είναι  $10^5$  ή και μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή του Φ.Π. (Μηλιάδης, 1989). Τέτοιες ουσίες μπορεί να είναι αμίνες, φαινόλες, οργανικά οξέα, σάκχαρα, φυτικά λίπη και έλαια, χλωροφύλλη κ.τ.λ. Για να επιτευχθεί ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων των Φ.Π. θα πρέπει να απαλλαγούμε από όσον δυνατόν μεγαλύτερο αριθμό ανεπιθύμητων ουσιών. Αυτός είναι ο σκοπός της φάσης του καθαρισμού.

Ο καθαρισμός γίνεται με διάφορες τεχνικές οι πιο κοινές από τις οποίες είναι η κατανομή μεταξύ δυο υγρών (εκχύλιση υγρού-υγρού, Liquid-liquid partitioning), η Χρωματογραφία προσρόφησης (adsorption chromatography), η Χρωματογραφία γέλης ή χρωματογραφία μοριακού διαχωρισμού (Gel Permeation Chromatography ή Size exclusion chromatography) και η Εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction, SPE).

#### 1.2.7.4. Συμπύκνωση του εκχυλίσματος (concentration)

Με σκοπό να αυξηθεί η ευαισθησία της ανάλυσης, το καθαρό εκχύλισμα συμπυκνώνεται σε μικρό όγκο (1-10 ml). Η συμπύκνωση γίνεται είτε σε περιστροφικό εξατμιστήρα υπό κενό (rotary evaporator), είτε με ρεύμα καθαρού αζώτου, προκειμένου για μικρούς όγκους πτητικών διαλυτών. Στη περίπτωση που μετά τη συμπύκνωση ακολουθεί αλλαγή διαλύτη, η συμπύκνωση γίνεται μέχρι ξηρού και έπειτα προστίθεται ο νέος διαλύτης.

#### 1.2.7.5. Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός (determination)

Από τη δεκαετία του 1970 και μετά η μεθοδολογία προσδιορισμού υπολειμμάτων Φ.Π. γνώρισε αλματώδη πρόοδο, που βασίζεται κυρίως στη χρήση εξειδικευμένων τεχνικών. Οι τεχνικές αυτές είναι κυρίως η GC, HPLC, και η συζευγμένη αέρια ή υγρή χρωματογραφία με ανιχνευτή φασματομετρίας μάζας (GC-MS ή LC-MS).



## 1.2.8. Χρωματογραφικές τεχνικές

### 1.2.8.1. Τεχνική της αέριας χρωματογραφίας (GC)

Με την τεχνική της αεριοχρωματογραφίας, μικρή ποσότητα (1-5μl) από το εκχύλισμα εγχύεται στην κορυφή θερμαινόμενης ειδικής στήλης χρωματογραφίας τοποθετημένης σε κλίβανο. Το εκχύλισμα μεταπίπτει σε αέρια φάση. Ένα αδρανές αέριο (συνήθως άζωτο, ήλιο, ή αργό) κινείται μέσα στη στήλη και παρασύρει τους ατμούς του δείγματος. Ο χρόνος παραμονής κάθε ουσίας στη στήλη (χρόνος κατακράτησης-Retention time,  $t_R$ ), είναι συνάρτηση των ιδιοτήτων της και θεωρείται κριτήριο για τον ποιοτικό προσδιορισμό.

Το μέγεθος του σήματος που καταγράφεται από κατάλληλα όργανα στην έξοδο της στήλης είναι το κριτήριο για τον ποσοτικό προσδιορισμό. Το σήμα καταγράφεται υπό μορφή κορυφής. Μετρούμενο το ύψος της κορυφής και η επιφάνεια της χρησιμοποιούνται για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ουσίας που αντιστοιχεί στην κάθε χρωματογραφική κορυφή. Η GC χρησιμοποιείται κυρίως για Φ.Π. που έχουν ικανοποιητική πτητικότητα και θερμική σταθερότητα. Μόρια που θερμοδιασπώνται δεν μπορούν να προσδιοριστούν με GC, παρά μόνο μετά από την παραγωγοποίησή τους σε άλλα πτητικά και σταθερά.

Τα βασικά μέρη ενός αεριοχρωματογραφικού συστήματος είναι.

- ✓ Ο **Εκχυτής** ή Εισαγωγέας, είναι το εξάρτημα μέσα στο οποίο γίνεται η έγχυση του προς ανάλυση διαλύματος. Συνήθως είναι δυο τύπων: splitless ή on column.
- ✓ Η **χρωματογραφική στήλη**. Σήμερα χρησιμοποιούνται ευρέως οι τριχοειδείς στήλες, διαμέτρου 0,1-0,6 mm και μήκους 15-50 m. Η πολικότητα των στηλών είναι καθοριστική για την ανάλυση. Μια στήλη πολική συγκρατεί για μεγαλύτερο χρόνο τις πολικές ουσίες, οι οποίες, ως εκ τούτου έχουν μεγαλύτερο χρόνο κατακράτησης σε αυτές τις συνθήκες. Η χρησιμοποίηση στηλών διαφορετικής πολικότητας συνιστάται σαν η πιο απλή αρκετά αξιόπιστη μέθοδος ταυτοποίησης-επιβεβαίωσης των αποτελεσμάτων. Η θερμοστάτηση της στήλης η οποία είναι τοποθετημένη μέσα σε κλίβανο (**φούρνο**), επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τη διαδικασία διαχωρισμού. Η θερμοκρασία της στήλης ελέγχεται με μεγάλη ακρίβεια καθ' όλη τη διάρκεια της χρωματογραφικής ανάλυσης. Η στήλη είτε διατηρείται σε σταθερή θερμοκρασία (ισόθερμη χρωματογραφία), είτε μεταβάλλεται με καθορισμένο πρόγραμμα (θερμοπρογραμματιζόμενη χρωματογραφία).
- ✓ Ο **ανιχνευτής**, είναι το εξάρτημα εκείνο που πληροφορεί για το πότε μια ουσία εξέρχεται από τη χρωματογραφική στήλη και για το πόση είναι η απόκριση στην ποσότητα της. Οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται κυρίως για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων Φ.Π. είναι α) ο ανιχνευτής αζώτου-φωσφόρου (Nitrogen-Phosphorus, NPD) που είναι εξειδικευμένος για ουσίες που περιέχουν στο μόριο τους άζωτο ή φωσφόρο και χρησιμοποιείται ιδιαίτερα

στον προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών Φ.Π. , β) ο ανιχνευτής φωτομετρίας φλόγας (Flame-Photometric Detector, FPD), που χρησιμοποιώντας κατάλληλο φίλτρο φωσφόρου ή θείου προσδιορίζει ουσίες που περιέχουν στο μόριο τους φώσφορο ή θείο και γ) ο ανιχνευτής δέσμησης ηλεκτρονίων (Electron Capture Detector, ECD), ο οποίος είναι πολύ ευαίσθητος ανιχνευτής για πολλές ενώσεις (ιδιαίτερα για τις οργανοαλογονομένες) και για αυτό τα εκχυλίσματα που θα προσδιοριστούν με αυτόν πρέπει να είναι ιδιαίτερα καθαρά.

- ✓ Το **καταγραφικό** είναι ένα σύστημα επεξεργασίας του σήματος απόκρισης του ανιχνευτή και καταγράφει υπό μορφή κορυφής το σήμα. Πλέον το χρωματογραφικό σήμα καταγράφεται μέσω συστήματος H/Y , αποθηκεύεται και ακολουθεί η επεξεργασία του σήματος με το κατάλληλο software.

#### 1.2.8.2. Τεχνική της υγρής χρωματογραφίας ( HPLC)

Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται γενικά για φυτοφάρμακα που δεν μπορούν να προσδιοριστούν με GC λόγω θερμικής αστάθειας, χαμηλής πτητικότητας ή/και μεγάλης πολικότητας. Η τεχνική της Υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) έχει αρκετά κοινά σημεία με την GC, όμως, διαφέρει στο ότι η ουσία παραμένει στην ίδια κατάσταση που είχε κατά την έγχυση και στο ότι η κινητή φάση είναι υγρή (διαλύτης ή μίγμα διαλυτών και νερού και ρυθμιστικών διαλυμάτων).

Διακρίνονται δυο μορφές της τεχνικής της υγρής χρωματογραφίας, η χρωματογραφία κανονικής φάσης (Normal Phase, NP) και η αντίστροφης φάσης (Reverse Phase, RP)

Κριτήριο της μιας ή της άλλης επιλογής, είναι η σχετική πολικότητα μεταξύ της σταθερής φάσης (του υλικού πλήρωσης της στήλης) και της κινητής φάσης. Στην έξοδο της στήλης είναι συνδεδεμένος ο ανιχνευτής. Χρησιμοποιείται κυρίως ο ανιχνευτής απορρόφησης ορατού υπεριώδους (UV/VIS) σταθερού ή μεταβλητού μήκους κύματος, ο οποίος μειονεκτεί σε σχέση με τους ανιχνευτές της GC στο ότι είναι μη εκλεκτικός και όχι αρκετά ευαίσθητος. Μια σύγχρονη βελτιωμένη μορφή του, ο ο ανιχνευτής υπεριώδους με φωτοδιόδους UV-Diode Array Detector (UV-DAD), είναι περισσότερο εκλεκτικός, μικρής όμως ευαισθησίας.

#### 1.2.8.3. Συζευγμένη Φασματογραφία μάζας (Mass Spectrometry, MS)

Η τεχνική αυτή αρχικά προτάθηκε σαν μέθοδος ταυτοποίησης-επιβεβαίωσης των ευρημάτων που λαμβάνονται από την GC και τελευταία και από την HPLC. Τελευταία, όμως άρχισε να χρησιμοποιείται και σαν ανεξάρτητος χρωματογραφικός ανιχνευτής για ποσοτικό προσδιορισμό. Τα συστήματα GC-MS και τα πλέον σύγχρονα συστήματα LC-MS είναι από τις πιο επιτυχημένες συνδυαστικές τεχνικές ανάλυσης. Με τη τεχνική αυτή, τα οργανικά μόρια

εξερχόμενα από τη χρωματογραφική στήλη οδηγούνται σε ένα χώρο όπου ιονίζονται, είτε με βομβαρδισμό με ηλεκτρόνια είτε χημικά, με συνέπεια την αποδόμηση τους και το σχηματισμό μοριακών ιόντων. Τα μοριακά ιόντα μετατρέπονται περαιτέρω σε μικρότερα ιοντικά θραύσματα που διαχωρίζονται ακολούθως σε ένα μαγνητικό πεδίο και καταγράφονται ποιοτικά και ποσοτικά. Ο διαχωρισμός των ιόντων βασίζεται στη σχέση μάζας-ηλεκτρικού φορτίου, και άρα στη μάζα των θραυσμάτων της ουσίας. Η όλη διαδικασία οδηγεί στη καταγραφή του φάσματος μάζας (Mass Spectrum) που θεωρείται μοναδική για το κάθε μόριο.

### 1.2.9. Ποσοτική ανάλυση

Η ποσοτική ανάλυση του χρωματογραφικού σήματος γίνεται συνήθως με μια από τις παρακάτω μεθόδους:

1. Με εξωτερικά πρότυπα (External standard analysis). Ο προσδιορισμός μπορεί να γίνει με τη χρήση προτύπων διαλυμάτων με γνωστές τιμές συγκέντρωσης, που περιέχουν αυτή του ενέσιμου δείγματος που αναλύεται.
2. Με εσωτερικά πρότυπα (internal standard analysis). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη προσθήκη γνωστής ποσότητας πρότυπης ουσίας στο υπό ανάλυση δείγμα. Ορισμένη ποσότητα προτύπου προστίθεται σε συνθετικά μείγματα που περιέχουν την προς ανάλυση ουσία, σε διάφορες συγκεντρώσεις. Τα μείγματα αυτά χρωματογραφούνται και σχεδιάζεται η καμπύλη βαθμονόμησης, μεταξύ της ποσότητας της ουσίας και του λόγου των κορυφών.

Η ταύτιση των χρόνων κατακράτησης δύο ουσιών δεν εξασφαλίζει και την χημική τους ταύτιση, γιατί αρκετές ενώσεις μπορεί να παρουσιάζουν ίδιους χρόνους κατακράτησης σε συγκεκριμένες χρωματογραφικές συνθήκες. Έτσι η ταυτοποίηση μιας ουσίας απαιτεί επιπλέον στοιχεία. Αυτό επιτυγχάνεται με διάφορους τρόπους:

- α) Χρησιμοποίηση διαφορετικής χρωματογραφικής μεθόδου (διαφορετικός ανιχνευτής, διαφορετικές χρωματογραφικές συνθήκες). Παρόλα αυτά η χρήση της MS αποτελεί το καλύτερο μέσο ταυτοποίησης μιας χημικής ένωσης.
- β) Προσθήκη προτύπου ουσίας αναφοράς στο δείγμα. Μια ποσότητα προτύπου ουσίας, από αυτή που υποψιαζόμαστε ότι περιέχει το δείγμα, προστίθεται σε αυτό σε τέτοια αναλογία, ώστε να διπλασιάζεται η ποσότητα της στο δείγμα. Στη συνέχεια το νέο δείγμα εγχύεται στο χρωματογράφο. Εάν η υπόθεση είναι σωστή θα πρέπει η αρχική ύποπτη κορυφή του δείγματος να μεγαλώσει χωρίς να αλλάζει το σχήμα της.

Για την αποφυγή σφαλμάτων, παράλληλα με την ανάλυση του κυρίως δείγματος, αναλύονται και α) ένα τυφλό δείγμα αντιδραστηρίων (reagent blank) που περιέχει μόνο τους διαλύτες και τα αντιδραστήρια και β) ένας μάρτυρας (control sample), δηλαδή δείγμα που διαπιστωμένα δεν περιέχει τη δραστική ουσία που εξετάζουμε.

#### **1.2.10. Γενικές αρχές για τη μείωση της χρήσης και ανίχνευσης υπολειμμάτων Φ.Π. σε προϊόντα φυτικής προέλευσης**

Γενικά οι παραγωγοί θα πρέπει να καλλιεργούν σύμφωνα με τις αρχές και τους κανόνες της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιεργειών (ICM). Με τον τρόπο αυτό της διαχείρισης των καλλιεργειών οι παραγωγοί συμβάλουν στην διατήρηση και αειφορικότητα του αγροτικού περιβάλλοντος, ενώ παράλληλα παράγουν ασφαλή και οικονομικά προϊόντα για τον καταναλωτή. Το παραπάνω σύστημα βασίζεται στην Καλή Αγρονομική Πρακτική (Good Agronomy Practice) και στην καλή γνώση της βιολογίας και οικολογίας των παρασιτοειδών και αντιμετώπισή τους με φυσικά και χημικά μέσα μόνο όταν απαιτείται.

Για τη μείωση της χρήσης παρασιτοκτόνων στην καλλιέργεια μηλιάς θα πρέπει: να γίνεται επιλογή της κατάλληλης ποικιλίας με αντοχή σε εχθρούς και ασθένειες, να έχει καλή προσαρμοστικότητα για την κάθε περιοχή φύτευσης, διατήρηση καλής υγιεινής στον οπωρώνα με κατάλληλο κλάδεμα και απομάκρυνση με καταστροφή των προσβεβλημένων κλάδων και δέντρων. Ενθάρρυνση της ανάπτυξης φυσικών εχθρών ή εισαγωγή τους τεχνικά. Έγκαιρη εφαρμογή των κατάλληλων Φ.Π. με την μικρότερη υπολειμματικότητα πριν την εξάπλωση των παρασίτων, ενώ θα πρέπει να χρησιμοποιείται η καλύτερη μέθοδος εφαρμογής των Φ.Π. για την μεγιστοποίηση της αποτελεσματικότητάς τους και την μείωση της ποσότητας του Φ.Π. που χάνεται εκτός στόχου π.χ. ψεκασμός υπέρμικρου όγκου (ULV).

### 1.3. ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟ ΕΓΚΑΥΜΑ (Scald)

#### 1.3.1. Αίτια του Scald

Το Scald προκαλείται από την οξείδωση ενός σεκουιτερπενίου της *a*-farnesene που περιέχεται σε ποσοστό πάνω από 15% στο στρώμα των φυσικών κηρών και στους ιστούς της φλούδας στις ευαίσθητες στο Scald ποικιλίες μήλων. Τα κυριότερα προϊόντα οξείδωσης της *a*-farnesene είναι τα συζευγμένα τριένια (CTs) που αποτελούνται κύρια από συζευγμένες τριενόλες (conjugated trienols, CTols) ισομερή (9E και 9Z) της 2,6,10-trimethyldodeca-2,7,9,11-tetraen-6-ol. Τελευταία έχει εντοπιστεί ακόμα μια ουσία παράγωγο της οξείδωσης, η 6-methyl-5-hepten-2-one (MHO) (Jemric *et al.*, 2006; Rudell *et al.*, 2006). Τα παράγωγα από την οξείδωση της *a*-farnesene σε CTs, όπως τα Farnesyl hydroperoxide, trienol, endoperoxide, dehydronerolidol και cumyl hydroperoxide, όταν εφαρμοστούν εξωτερικά σε δόσεις nM στην φλούδα των μήλων δίνουν συμπτώματα παρόμοια με το Scald (Matich *et al.*, 1998; Rowan *et al.*, 2001).

Μελέτες με ραδιοϊσότοπα και με αναστολέα σύνθεσης της 3-hydroxy-3 methylglutaryl-Coenzyme A reductase έχουν δείξει ότι η *a*-farnesene συντίθεται σχεδόν αποκλειστικά από το βιοσυνθετικό μονοπάτι του μεβαλονικού οξέως (mevalonic acid) παρά από το μονοπάτι της chloroplastic deoxyxylulose phosphate. Το τελικό συνθετικό ένζυμο είναι η *a*-farnesene συνθετάση που μετατρέπει την διφωσφορική φαρνεσίλη (farnesyl diphosphate, FDP) σε *a*-farnesene. Τα προϊόντα της *a*-farnesene συνθετάσης που εκφράζονται από το γονίδιο AFS1 διαφέρουν σημαντικά ανάμεσα στις ανθεκτικές και της ευαίσθητες στο Scald ποικιλίες μήλων. Αν και η διάταξη των αμινοξέων είναι ίδια κατά 99%, ωστόσο τα παράγωγα έχουν διαφορετική δραστηριότητα και κινητικότητα. Η σχετικά υψηλή περιεκτικότητα των ευαίσθητων ποικιλιών σε CTols μπορεί να οφείλεται στη γρήγορη εξάντληση των αντιοξειδωτικών ουσιών που βρίσκονται στην φλούδα (τα ανώριμα φρούτα έχουν λιγότερα αντιοξειδωτικά) ή στην πολύ μικρή δραστηριότητα της περοξειδάσης (Pechous *et al.*, 2005).

Η ένταση του Scald αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης CTs, των ολικών γλυκολιπιδίων όπως επίσης και με τη μείωση του λινολενικού οξέως (18:3) και των μη κορεσμένων γλυκολιπιδίων. Στην ανάπτυξη του Scald η μεμβράνη των χλωροπλαστών, που είναι πλούσια σε γλυκολιπίδια, είναι πιο επιρρεπής στην καταστροφή πιθανότατα λόγω οξείδωσης των CTs. Τα CTs προκαλούν διατάραξη της ισορροπίας στις κυτταρικές μεμβράνες οπότε επιτρέπεται η μίξη της οξειδάσης των πολυφαινολών με φαινολικά συστατικά που οδηγούν στο καφέτιασμα. Υπάρχουν αναφορές που αποδίδουν το καφέτιασμα που αναπτύσσεται με το Scald στον πολυμερισμό των απλών φαινολών και φλαβονοειδών. Ο Chen

*et al.* (1993) αναφέρει ότι το καφέτιασμα της φλούδας των μήλων κατά την ανάπτυξη του Scald προκαλείται από την οξειδωτική δράση της πολυφαινολοξειδάσης (polyphenoloxidase, PPO). Έχει παρατηρηθεί ότι σε περιοχές των μήλων με πικρή κηλίδωση (bitter pit) σπάνια αναπτύσσεται Scald (Abdallah *et al.*, 1997). Σε προχωρημένο στάδιο το καφέτιασμα λόγω του Scald επεκτείνεται σε λίγα χιλιοστά μέσα στη σάρκα του καρπού, συνήθως όμως εντοπίζεται στα πρώτα 5 mm της επιδερμίδας. Αν η ένταση του Scald είναι μικρή, οι προσβεβλημένες περιοχές είναι ελαφρά αποχρωματισμένες με καφετί τόνο με κίτρινο ή πράσινο υπόχρωμα. Οι καρποί φαίνονται σαν να έχουν κυλιστεί ή να έχουν ακουμπήσει σε μια καυτή μεταλλική πλάκα. Η επιφάνεια των μήλων που προσβλήθηκε πιθανόν να είναι ρυτιδιασμένη λόγω της απώλειας υγρασίας από την απώλεια νερού του προσβεβλημένου ιστού – νεκρωμένων κυττάρων (Emongor *et al.*, 1994).

Η διάγνωση του Scald είναι σχετικά εύκολη αλλά μπορεί να παρομοιαστεί με εγκαύματα από υψηλή και χαμηλή συγκέντρωση CO<sub>2</sub> και O<sub>2</sub>, αντίστοιχα, με την μετασυλλεκτική κηλίδωση των μήλων της ποικ. Jonathan (Jonathan spot), το καφέτιασμα του ποδίσκου της ποικ. 'McIntosh', ηλιοέγκαυμα, έγκαυμα από υψηλή συγκέντρωση DPA και αμμωνίας (Emongor *et al.*, 1994). Το ποσοστό προσβολής μπορεί να φτάσει το 30-40% των αποθηκευμένων καρπών. Το Scald εμφανίζεται συνήθως μετά τη συντήρηση και την έξοδο των καρπών από το ψυγείο, παρατηρείται όμως και κατά τη συντήρηση, ειδικά στους πρώιμα συγκομισμένους καρπούς. Οι ποικιλίες Starking Delicious και Granny Smith είναι ευπαθείς όταν συντηρούνται για μεγάλο χρονικό διάστημα σε χαμηλή θερμοκρασία στο ψυγείο. Το Scald επηρεάζει κύρια τα υποδερμικά κύτταρα της φλούδας και μειώνει την εμπορική αξία των μήλων και άλλων φρούτων (DeLong *et al.*, 2004). Τα επιδερμικά και υποδερμικά κύτταρα των μήλων περιέχουν το 80-90% της ολικής αντιοξειδωτικής δράσης (Ju και Bramlage, 1999).

Η ένταση και η σοβαρότητα του Scald εξαρτάται από την περιεκτικότητα των μήλων σε α-τοκοφερόλη, ασκορβικό οξύ, φλαβονόλες (flavonols), ουσίες των αμινομάδων, φαινολομάδων και θειομάδων στη φλούδα, που λειτουργούν σαν αντιοξειδωτικά (Emongor *et al.*, 1994). Η εξωτερική εφαρμογή ασκορβικού οξέως μειώνει την ένταση του Scald. Η περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες έχει αρνητική συσχέτιση με την περιεκτικότητα σε CTs και την ένταση του Scald (Barden και Bramlage, 1994). Η συγκέντρωση της χλωροφύλλης στα μήλα σχετίζεται με την υψηλότερη ένταση Scald μέσω της αύξησης των ελευθέρων ριζών, είτε μέσω της μείωσης των ενεργών ουσιών που δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες στις κυτταρικές μεμβράνες, ενώ με το φθορισμό της και τη μέτρηση της παραμέτρου μπορεί να εκτιμηθεί η ένταση του Scald και η έναρξη παραγωγής CTs πριν από την εμφάνιση συμπτωμάτων (DeEll *et al.*, 1996). Τα μήλα που συντηρούνται στο ψυγείο μετά το Δεκέμβριο, όταν εκτεθούν σε

θερμοκρασία δωματίου για 12 ή 24 ώρες (ζωή στο ράφι), μπορεί να αρχίσουν να εμφανίζουν Scald. Η ένταση του Scald εξαρτάται από την ποικιλία, την εποχή και τις περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης των μήλων πριν τη συγκομιδή, καλλιεργητικές πρακτικές και μετασυλλεκτικές μεταχειρίσεις. Ευαίσθητες στο Scald θεωρούνται οι ποικιλίες Ben Davis, Cortland, Delicious, Granny Smith, Rhode Island Greening, Rome Beauty, Stayman, Winesap και York Imperial. Σχετικά ανθεκτικές στο Scald είναι οι ποικιλίες Braeburn, Fuji, Gala, Golden Delicious, Jonathan, McIntosh, Northern Spy, Pink Lady και Spartan.

### 1.3.2. Συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη του Scald

Χρώμα. Κόκκινα μήλα είναι πιο ανθεκτικά στο Scald από τα πράσινα λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς του σε ανθοκυάνες, αλλά και στον ίδιο τον καρπό οι πράσινες περιοχές είναι πιο επιρρεπείς στο Scald από τις έγχρωμες.

Θέση του μήλου. Μήλα από το κέντρο της κόμης των δέντρων είναι πιο ευαίσθητα στο Scald σε σχέση με αυτά της περιφέρειας. Η φλούδα των μήλων που εκτίθεται απευθείας στο φως περιέχει λιγότερες απλές φαινόλες, περισσότερες ανθοκυάνες και αντιοξειδωτικά και γενικότερα αναπτύσσει λιγότερο Scald σε σχέση με τη σκιαζόμενη πλευρά του μήλου (Ju *et al.*, 1996).

Μέγεθος. Τα μεγάλα μήλα έχουν μεγαλύτερη τάση να αναπτύσσουν Scald σε σχέση με τα μικρά ίδιας ωρίμανσης (Emongor *et al.*, 1994 ; Kupferman, 2001).

Συγκομιδή. Μήλα που συγκομίζονται ανώριμα είναι πιο επιρρεπή στο Scald σε σχέση με τα ώριμα ή υπερώριμα μήλα. Τα πιο ώριμα μήλα, όμως, δεν συντηρούνται για μεγάλο χρονικό διάστημα στο ψυγείο. Τα χρονολογικά μεγαλύτερα φρούτα, δηλαδή αυτά που σχηματίστηκαν σε άνθη που γονιμοποιήθηκαν πρώιμα είναι τα ωριμότερα κατά την συγκομιδή, έχουν τη μεγαλύτερη πιθανότητα να πάθουν εσωτερική κατάρρευση λόγω χαμηλών θερμοκρασιών συντήρησης (low-temperature breakdown) και τη μικρότερη πιθανότητα να αναπτύξουν Scald (Blanpied και Little, 1991).

Καιρός. Μήλα που αναπτύσσονται υπό θερμό καιρό είναι πιο επιρρεπή στο Scald σε σχέση με αυτά υπό χαμηλές θερμοκρασίες. Η έκθεση των μήλων σε υψηλές θερμοκρασίες πριν τη συγκομιδή μεταβάλλει τη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ουσιών, τη σύσταση της φλούδας σε λίπη και τη σύνθεση των κυτταρικών μεμβρανών. Η παραμονή των μήλων σε περιβάλλον με πολλές ώρες κάτω από 10°C λίγο πριν τη συγκομιδή με διαβροχή των δέντρων με νερό μειώνει σημαντικά την ένταση του Scald μετασυλλεκτικά. Τα μήλα για να μην εμφανίσουν Scald μετασυλλεκτικά θα πρέπει να δεχθούν θερμοκρασίες κάτω από 10° C για τουλάχιστον 190 ώρες πριν τη συγκομιδή. Σε πείραμα των Thomai *et al.* (1998)

χρησιμοποιήθηκαν μήλα ποικ. Granny Smith τα οποία μεταχειρίστηκαν με νερό σε μορφή νέφους (mist) για τη διατήρηση της θερμοκρασίας τους κάτω από 10° C για ορισμένες ώρες πριν τη συγκομιδή. Τα μήλα αποθηκεύτηκαν στους 0° C και 7 ημέρες στους 20° C (ζωή στο ράφι). Η εφαρμογή του νερού δεν επηρέασε την ποιότητα των μήλων. Μήλα που διατηρήθηκαν κάτω από 10° C για πάνω από 120h πριν από τη συγκομιδή δεν ανέπτυξαν Scald. Όσο αυξάνονταν ο χρόνος που τα μήλα ήταν κάτω από τους 10°C πριν τη συγκομιδή, τόσο αυξάνονταν η περιεκτικότητά τους σε λίπη, κηρούς, λιπαρά οξέα και ολικά αντιοξειδωτικά στη φλούδα, ΔΣΣ, IEC και η παράμετρος b\* του χρώματος (τα μήλα γίνονταν πιο κίτρινα), μειώνονταν το άμυλο, η ολική οξύτητα και η σκληρότητα της σάρκας. Μήλα που αναπτύσσονται σε υψηλότερο υψόμετρο (δροσερότερες θερμοκρασίες) είναι πιο ανθεκτικά στο Scald (Diamantidis *et al.*, 2002).

Νερό. Η υδατική καταπόνηση από την έλλειψη νερού κοντά στη συγκομιδή είναι από τους σημαντικότερους παράγοντες εμφάνισης Scald. Φαίνεται ότι το ριζικό σύστημα είναι επίσης ένας καθοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη του Scald. Μήλα που αναπτύχθηκαν σε υποκείμενο M26 εμφάνισαν μικρότερη ένταση Scald σε σχέση με μήλα που αναπτύχθηκαν αυτόριζα και σε MM 111, πιθανόν διότι μήλα από το M26 ωριμάζουν γρηγορότερα από τα άλλα υποκείμενα (Emongor *et al.*, 1994).

Λίπανση. Οι συγκεντρώσεις των στοιχείων ασβέστιο, κάλιο και μαγνήσιο παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση του Scald. Μήλα με μικρή περιεκτικότητα σε ασβέστιο εμφανίζουν μεγαλύτερης έντασης Scald από αυτά με κανονική περιεκτικότητα. Μετασυλλεκτική εφαρμογή CaCl<sub>2</sub> σε επίπεδο 0,25 M μείωσε σημαντικά το Scald. Η προσυλλεκτική εφαρμογή με ψεκάσμο φωσφόρου μειώνει την περιεκτικότητα και το σχηματισμό a-farnesene στα έλαια και τους κηρούς των μήλων οπότε και το Scald. Υψηλή συγκέντρωση καλίου σχετίζεται με την αυξημένη ένταση Scald. Υψηλή νιτρική λίπανση ή εφαρμογή κοντά στη συγκομιδή μειώνει το χρωματισμό, την ποιότητα και το χρόνο της μετασυλλεκτικής ζωής των μήλων. Με την υψηλή νιτρική λίπανση αυξάνεται η ένταση του Scald και επιδρά στη μειωμένη απορρόφηση ασβεστίου. Ο χαλκός και το κοβάλτιο αυξάνουν την ένταση του Scald (Emongor *et al.*, 1994).

Συντήρηση. Παρατεταμένη συντήρηση σε θερμοκρασία κοντά στους 0°C ή υπερβολική συγκέντρωση CO<sub>2</sub> στο ψυκτικό θάλαμο (CA) επιτρέπουν τη γρηγορότερη εμφάνιση του Scald.

### 1.3.3. Μέτρα πρόληψης και ελέγχου του Scald

1. Συγκομιδή των καρπών στο κατάλληλο στάδιο ωρίμανσης, καλλιέργεια ποικιλιών ή κλώνων με αντοχή στο Scald, κατάλληλο κλάδεμα για καλό φωτισμό όλης της κόμης,



περιοδικός έλεγχος των μήλων στη συντήρηση για Scald και κατάλληλη προώθηση στην αγορά (Chu, 1993). Για ποικιλίες που είναι ευπαθείς στο Scald εφαρμόζεται πιο όψιμη συγκομιδή εφόσον δεν υποβαθμίζονται τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του καρπού και δεν έχει προχωρήσει η ωρίμανση δηλαδή διατηρείται μειωμένη η IEC.

**2.** Εφαρμογή φυσικών αντιοξειδωτικών ουσιών και DPA. Σε πειράματα που έχουν γίνει η α-τοκοφερόλη και φαινολικοί εστέρες λιπαρών οξέων όπως η p-coumaryl αλκοόλη και άλλα αντιοξειδωτικά με απορρόφηση στην περιοχή των 200 nm εμποδίζουν την ανάπτυξη Scald στα μήλα.

**3.** Συντήρηση σε κατάλληλα ψυγεία με εξαερισμό για την απομάκρυνση των πτητικών ουσιών όπως το αιθυλένιο και η a-farnesene. Οι Matich *et al.* (1998) αναφέρουν ότι ο συνεχής εξαερισμός του θαλάμου συντήρησης με καθαρό αέρα θερμοκρασίας 1°C σε μήλα ποικ. Granny Smith κατόρθωσε να μηδενίσει την ένταση του Scald και ιδιαίτερα να μειώσει τη συγκέντρωση της a-farnesene στο φλοιό 13 φορές σε σχέση με το μάρτυρα (ενώ μείωσε και τη συγκέντρωση αιθυλενίου) τις πρώτες 5 εβδομάδες συντήρησης.

**4.** Απομάκρυνση του αιθυλενίου. Στους θαλάμους συντήρησης όταν χρησιμοποιούνται παγίδες αιθυλενίου ο χρόνος συντήρησης των οπωροκηπευτικών αυξάνει. Το αιθυλένιο είναι ορμόνη γήρανσης και προκαλεί ωρίμανση στα κλιμακτηριακά φρούτα και λαχανικά όταν είναι σε συγκέντρωση πάνω από 0,1 μL L<sup>-1</sup> αέρα. Από την εφαρμογή προπυλενίου (ανάλογης δράσης αλλά μικρότερης έντασης με το αιθυλένιο) διαπιστώθηκε ότι το αιθυλένιο παίζει σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό της a-farnesene, αλλά τα μεταβολικά μονοπάτια για το σχηματισμό της ουσίας είναι ανεξάρτητα από την επίδραση της DPA. Η IEC και ο σχηματισμός της a-farnesene εξαρτάται από τη θερμοκρασία και είναι ανεξάρτητος από τις ποικιλίες αλλά η ποικιλία είναι αυτή που καθορίζει την ποσότητα της a-farnesene που παράγεται, οπότε η ευαισθησία στο Scald εξαρτάται από την ποικιλία (Golding *et al.*, 2001). Το αιθυλένιο μπορεί να αφαιρεθεί από ένα θάλαμο συντήρησης με εξαερισμό, χρήση ειδικών καταλυτών ενεργού άνθρακα ή υπερμαγγανικού καλίου σε ειδικά φίλτρα, με χρήση UV ακτινοβολίας ή όζοντος. Η σοβαρότητα της επίδρασης του αιθυλενίου στους καρπούς εξαρτάται από τη συγκέντρωσή του, τη θερμοκρασία στους θαλάμους συντήρησης και από τη φύση του προϊόντος. Ο ψεκασμός των μήλων με αιθυλένιο αυξάνει την περιεκτικότητα των μήλων σε a-farnesene-CTs και καρτενοειδή (Barden και Bramlage, 1994).

**5.** Θερμοκρασία συντήρησης. Οι Watkins *et al.* (2004) παρατήρησαν ότι με την αποθήκευση των μήλων σε θερμοκρασία 2,2° C η ένταση του Scald μειώθηκε 9% σε σχέση με τα μήλα που αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 0,5° C. Η σκληρότητα των μήλων δεν επηρεάστηκε από κανένα παράγοντα. Η περιεκτικότητα του χυμού των μήλων σε ΔΣΣ ήταν

μικρότερη σε θερμοκρασία 2,8° C σε σχέση με τους 0,5° C, όπως και η οξύτητα του χυμού ήταν μικρότερη σε μήλα που παραμείνανε στους 20° C για 7 ημέρες παρά στους 1° C. Το ίδιο παρατηρήθηκε και για το IEC.

**6.** Συντήρηση σε CA και κυρίως με ULO. Η αρχική πολύ μικρή συγκέντρωση O<sub>2</sub> στους θαλάμους συντήρησης με CA μπορεί να αυξάνει την παραγωγή αιθανόλης που λειτουργεί ανταγωνιστικά σε σχέση με την a-farnesene και τα CTs. Η αποθήκευση των μήλων σε συνθήκες ILOS (Initial Low Oxygen Stress) με 0,25% O<sub>2</sub> για 4 εβδομάδες και μετά αποθήκευση σε CA με 1,5% O<sub>2</sub> έδωσε πλήρη έλεγχο του Scald (Wang και Dilley, 2000). Το ILOS ακολουθούμενο από αποθήκευση σε CA μπορεί να μηδενίσει το Scald πιθανόν μέσω της αύξησης της παραγωγής αιθανόλης λόγω stress (Zanella, 2003). Ο τρόπος αυτός αντιμετώπισης του Scald μπορεί να αντικαταστήσει τη χρήση DPA. Ο συνδυασμός ILOS και ULO μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη συντήρηση των μήλων για μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς τη χρήση χημικών (Ekman *et al.*, 2005). Η εφαρμογή ULO είναι πιο αποτελεσματική στον έλεγχο του Scald σε σχέση με την DPA. Οι παραπάνω μεταχειρίσεις (ULO+DPA) αντιμετώπισης του Scald έχουν συνεργηστική δράση και μπορούν να μειώσουν την παραγωγή και οξείδωση της a-farnesene κατά 9 φορές μετά από 28 εβδομάδες συντήρησης των μήλων (Whitaker, 2000). Από πείραμα που έγινε σε μήλα ποικιλίας Granny Smith και Red Delicious ως προς τη μέθοδο συντήρησης, προέκυψε ότι: καρποί και των δύο ποικιλιών, αποθηκευμένοι σε συνθήκες ULO (1%+1%) εμφάνισαν πολύ λίγο ή καθόλου Scald διατηρώντας παράλληλα καλύτερη συνοχή στη σάρκα, καλύτερο χρώμα, και υψηλότερη οξύτητα σε σύγκριση με καρπούς διατηρημένους σε CA, που εμφάνισαν Scald, ενώ είχαν κατά την έξοδο από το ψυγείο υψηλότερη συγκέντρωση ΔΣΣ (Manseka και Vasilakakis, 1994).

**7.** Η αποθήκευση των μήλων σε θάλαμο με υποβαρική πίεση 5 kPa μπόρεσε και μείωσε την ένταση του Scald, πιθανόν λόγω απομάκρυνσης κάποιου από τα πτητικά συστατικά που συντελούν στην ανάπτυξη του Scald (Wang και Dilley, 2000b).

**8.** Στις εναλλακτικές μεθόδους αντιμετώπισης των μετασυλλεκτικών δυσλειτουργιών και ασθενειών πειραματικά χρησιμοποιήθηκε γ-ακτινοβολία. Η ακτινοβόληση των μήλων αύξησε την απώλεια βάρους που εξαρτάται από το στάδιο ωρίμανσης και την ποικιλία των μήλων, μείωσε τις προσβολές από το μύκητα *Aspergillus niger* και το Scald στην ποικ. Golden Delicious. Μετά την εφαρμογή τα μήλα μαλάκωσαν, το χρώμα από πράσινο μετατράπηκε σε κίτρινο και μειώθηκε το pH του χυμού. Η μέθοδος δεν θεωρείται ότι μπορεί να έχει εμπορική εφαρμογή, αν και αυξάνει τη διάρκεια συντήρησης των μήλων και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αντιμετώπιση μερικών παθογόνων (Al-Bachir, 1999).

Αποθήκευση των καρπών αρχικά στους 4° C επί 20-60 ημέρες και κατόπιν αποθήκευση στους 0° C περιορίζει την εμφάνιση του Scald ή, κατά άλλους ερευνητές, (Pirreti *et al.*, 1994) προαποθήκευση στους 20° C για 10 ημέρες πριν τη συντήρηση στους 0° C μείωσε την εμφάνιση Scald σε μήλα Granny Smith. Άλλη έρευνα σε μήλα της ίδιας ποικιλίας έδειξε ότι καρποί που αποθηκεύτηκαν στους 5° C για 200 ημέρες ή στους 5° C και 0° C εναλλάξ ανά 20ήμερα και για συνολική διάρκεια 60 ημερών, δεν παρουσίασαν συμπτώματα Scald (Vasilakakis *et al.*, 1995).

Ο Ju *et al.* (2000) δοκίμασε διάφορα φυτικά έλαια και λίπη για τον περιορισμό και τον έλεγχο του Scald. Τα έλαια ήταν από σόγια, καλαμπόκι, ελαιόλαδο, φιστίκι, λινέλαιο και βαμβακέλαιο. Η εφαρμογή ελαίων μπορεί να μειώσει την ένταση του Scald όταν αυτά εφαρμόζονται σε συγκεντρώσεις πάνω από 9% των καθαρών λιπών (mono-, di- και tri-acylglycerols) και φωσφολιπιδίων και είναι το ίδιο αποτελεσματικά με την DPA (2.000 ppm). Μήλα που μεταχειρίστηκαν με φυτικά έλαια και λίπη παρέμειναν πιο πράσινα και έδειχναν πιο φρέσκα, πράγμα που δηλώνει ότι τα έλαια και τα λίπη παρεμποδίζουν την οξειδωση της χλωροφύλλης. Λόγω του χαμηλού κόστους των λιπών και ελαίων, ο εύκολος τρόπος εφαρμογής και η φυσική τους προέλευση, τους δίνει την δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά της DPA. Οι Scott *et al.* (1995) αναφέρουν ότι η χρήση φυτικών ελαίων μειώνει την ένταση του Scald χωρίς να την περιορίζει σε εμπορικά αποδεκτά επίπεδα, οπότε η μέθοδος δεν μπορεί να βρει εμπορική εφαρμογή.

#### 1.3.4. Αντιμετώπιση του Scald με χημικές ουσίες

Η αντιμετώπιση του Scald με χημικά μέσα γίνεται με εφαρμογή αντιοξειδωτικών ουσιών αμέσως μετά τη συγκομιδή ή με ψεκασμό των δέντρων λίγο πριν τη συγκομιδή. Η δράση των αντιοξειδωτικών που εμπλέκονται στην προστασία από Scald των μήλων σχετίζεται με την ικανότητά τους να μειώνουν την αυτοοξειδωση της a-farnesene σε CTs χωρίς να επηρεάζουν την συγκέντρωση της a-farnesene στη φλούδα (Bauchot και John, 1996). Γι' αυτό το σκοπό έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς διάφορες χημικές ουσίες περισσότερο πειραματικά παρά στη γεωργική πράξη. Τέτοιες ουσίες που έχουν χρησιμοποιηθεί εναλλακτικά προς τη DPA και το ethoxyquin, είναι: γιβεριλλίνη GA<sub>3</sub> σε προσυλλεκτικούς ψεκασμούς και μετασυλλεκτικές εμβαπτίσεις σε ασκορβικό οξύ (Vasilakakis *et al.*, 1995). Οι Vasilakakis και Thomai (Δ.Α.) αναφέρουν ότι επέμβαση με 500 - 2000 ppm GA μετασυλλεκτικά και έπειτα αποθήκευση στους 20° C για 4 ημέρες και ακολούθως στους 0° C για την υπόλοιπη περίοδο συντήρησης μείωσε σημαντικά το Scald (15%), χρήση ατμών αιθανόλης (Νάνος κ.ά., 2001 ; Scott *et al.*, 1995b) με 0,25 ml αιθανόλης ανά φρούτο μπόρεσε και έλεγξε αποτελεσματικά το Scald. Το

Semperfresh (επενδυτικό- εστερικής βάσης σουκρόζη με εδώδιμα αντιοξειδωτικά) μείωσε μερικά μόνο το Scald και όχι σε εμπορικά επίπεδα (Bauchot *et al.*, 1995). Η εφαρμογή εμποδιστών βιοσύνθεσης αιθυλενίου όπως το aminoethoxyvinylglycine και εμποδιστών της δράσης του αιθυλενίου όπως το diazocyclopentadiene και το 1-methylcyclopropene (1-MCP) μειώνουν σημαντικά την ένταση του Scald στα μήλα (Rudell *et al.*, 2006).

### 1.3.5. Ποικιλίες και ευαισθησία στο Scald

Red Delicious. Το Scald μπορεί να είναι ένα σοβαρό πρόβλημα αν οι καρποί συλλεγούν πολύ νωρίς. Συνήθως, για την αντιμετώπιση του Scald γίνεται εφαρμογή έως 2000 ppm DPA ή τα μήλα τοποθετούνται σε θαλάμους CA με 1,2% O<sub>2</sub> και <2% CO<sub>2</sub>. Αν το CO<sub>2</sub> υπερβεί το 3% τα μήλα προωριμάζουν και δημιουργούνται κοιλότητες στην επιφάνειά τους.

Empire. Η ποικιλία είναι ανθεκτικότερη στο Scald σε σχέση με τα Delicious. Για την αποφυγή εμφάνισης Scald γίνεται εφαρμογή 1000 ppm DPA. Σε θάλαμο CA η περιεκτικότητα σε O<sub>2</sub> θα πρέπει να είναι 2-2,5% και σε CO<sub>2</sub> 1,5-2%.

Fuji. Γίνεται εφαρμογή 1000 ppm DPA, ενώ όταν πρόκειται να αποθηκευτούν σε θάλαμο CA, η περιεκτικότητα σε O<sub>2</sub> θα πρέπει να είναι 4% και σε CO<sub>2</sub> 0,5%.

Gala. Είναι ανθεκτική στο Scald και δεν χρειάζεται επέμβαση με DPA. Αν αποθηκευτούν σε θάλαμο CA τότε η συγκέντρωση O<sub>2</sub> θα πρέπει να είναι 1,2% και CO<sub>2</sub> 2%.

Golden Delicious. Είναι ανθεκτική στο Scald. Προβλήματα μπορεί να δημιουργηθούν λόγω αφυδάτωσης και ρυτιδώματος της επιδερμίδας των μήλων λόγω απώλειας υγρασίας. Πλαστικές σακούλες πολυαιθυλενίου χρησιμοποιούνται για να συγκρατήσουν υψηλά τη Σ.Υ. στα μήλα αλλά μειώνουν το ρυθμό πτώσης της θερμοκρασίας στη συντήρηση των μήλων, οπότε θα πρέπει να τοποθετούνται ή κλείνονται αφού έχει απομακρυνθεί η θερμοκρασία αγρού στα μήλα. Κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης σε CA είναι O<sub>2</sub> 1,1% και CO<sub>2</sub> 2%.

Granny Smith. Η ποικιλία των μήλων είναι πολύ ευαίσθητη στο Scald και απαιτεί περίπου 2200 ppm DPA. Κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης σε CA είναι O<sub>2</sub> 1% και CO<sub>2</sub> 1%.

Idared. Χρειάζεται 1500 ppm DPA για την αποφυγή ανάπτυξης Scald. Είναι επιρρεπής στην μετασυλλεκτική, μη παρασιτικής φύσεως ασθένεια Jonathan spot, μιας και είναι υβρίδιο της ποικιλίας αυτής. Συνήθως η ασθένεια παρατηρείται σε κοινούς θαλάμους συντήρησης και όχι σε CA. Κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης σε CA είναι O<sub>2</sub> 2-3% και CO<sub>2</sub> 2-3%.

McIntosh. Χρειάζεται 1500 ppm DPA για την αποφυγή ανάπτυξης Scald. Κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης σε CA είναι O<sub>2</sub> 2-3% και CO<sub>2</sub> 2-3%. Συνεχής χρήση συγκέντρωσης 5% CO<sub>2</sub> μπορεί να προκαλέσει εγκαύματα στην επιδερμίδα σε ημιώριμα μήλα. Για τον λόγω

αυτό θα πρέπει να διατηρούνται σε συγκέντρωση 2-3% CO<sub>2</sub> τον πρώτο μήνα και να αυξηθεί στο 5% τους επόμενους. Τα μήλα της ποικιλίας θα είναι πιο σκληρά αν συντηρηθούν σε θερμοκρασία κάτω από 2°C αλλά μπορεί να εμφανιστούν πολλές δυσλειτουργίες.

Northern Spy. Είναι ανθεκτική στο Scald. Κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης σε CA είναι O<sub>2</sub> 2-3% και CO<sub>2</sub> 8% ή 2-3% όταν πρόκειται να αποθηκευτούν στους 3°C ή στους -0,5°C, αντίστοιχα. Στους 0°C η σκληρότητα της σάρκας διατηρείται περισσότερο χρόνο.

Rome Beauty. Χρειάζεται 2000 ppm DPA για την αποφυγή ανάπτυξης Scald. Κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης σε CA είναι O<sub>2</sub> 2-3% και CO<sub>2</sub> 2-3%.

Stayman. Χρειάζεται 2000 ppm DPA για την αποφυγή ανάπτυξης Scald. Κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης σε CA είναι O<sub>2</sub> 2-3% και CO<sub>2</sub> 2-3%.

York Imperial. Δεν απαιτείται αντιμετώπιση του Scald επειδή η ποικιλία προωθείται άμεσα στην αγορά. Κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης σε CA είναι O<sub>2</sub> 1-2% και CO<sub>2</sub> 0,5% στους 0°C.

## 1.4. ΔΙΦΑΙΝΥΛΑΜΙΝΗ (DPA)

### 1.4.1. DPA

Η DPA είναι μια ουσία που στην Ευρώπη θεωρείται ως η τρίτη πιο ρυπογόνος (Drzyzga, 2003). Η DPA και τα παράγωγά της χρησιμοποιούνται σαν σταθεροποιητές στα εκρηκτικά που περιέχουν νιτροκυτταρίνη και στα στερεά καύσιμα των πυραύλων, στα ελαστικά αλλά και στη γεωργία μετασυλλεκτικά σε προϊόντα όπως τα μήλα και τα αχλάδια. Ο λόγος που η DPA έχει τόσο σταθεροποιητική δράση οφείλεται στα παράγωγα mono-, di- και trinitro-DPA. Άλλες χρήσεις: η DPA χρησιμοποιείται σε πολλά καλλυντικά, στην ανίχνευση οξειδωτικών αντιδράσεων, στη φαρμακοβιομηχανία κ.τ.λ. Τα προϊόντα της DPA χρησιμοποιούνται για την παρασκευή χρωμάτων και χημικών για φωτογραφίες. Το 2-carboxy-DPA χρησιμοποιείται ως μη εξειδικευμένος παρεμποδιστής λειτουργίας της αντλίας K στα κύτταρα. Πολλές οικοτοξικολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η DPA είναι εξαιρετικά επικίνδυνη σε υδάτινα περιβάλλοντα, σε βακτήρια και ζώα. Πολλά από τα παράγωγα της DPA θεωρούνται μεταλλαξιγόνα και καρκινογόνα. Μπορούν να προκαλέσουν αιματολογικές και ηπατολογικές τοξικές αντιδράσεις. Στην δεκαετία του 1980 η ετήσια παγκόσμια παραγωγή DPA ήταν 40.000 τόνοι (~ 4.000 tons παράγονταν στην Γερμανία) με αυξανόμενη συνεχώς τάση.

### 1.4.2. Χαρακτηριστικά και φυσικοχημικές Ιδιότητες DPA

Χημικό όνομα : N-phenylbenzenamine, N-Phenylaniline

Μοριακός τύπος:  $C_{12}H_{11}N$

Μοριακό Βάρος: 169,22

$K_{ow} = 3860$ ,  $\log K_{ow} = 3,6$  στους  $25^{\circ}C$

Τάση ατμού: 1 mm Hg στους  $108,3^{\circ}C$ .

Σημείο ανάφλεξης:  $153^{\circ}C$

Διαλυτότητα στο νερό: Πολύ ελαφρώς διαλύσιμο (καθαρότητα 99,4%) 0,039 mg/ml, στο acetonitrile στους  $25^{\circ}C$  860 mg/ml, στη methanol στους  $25^{\circ}C$  474 mg/ml, στην octanol στους  $25^{\circ}C$  230 mg/ml, στο hexane στους  $25^{\circ}C$  57 mg/ml

Υδρόλυση σε αποστειρωμένο νερό με χρόνο ημιζωής στους  $25^{\circ}C$  και pH: 5, 320 ημέρες, με pH 7: 350 ημέρες και με pH 9: 360 ημέρες.

Φωτόλυση: σε ρυθμιστικό διάλυμα νερού με pH: 7 ο χρόνος ημιζωής είναι 4,4 ώρες με την χρήση λάμπας τύπου xenon arc lamp  $157 W m^{-2}$  στα 330-800 nm

Αερόβια διάσπαση στα έδαφος. Σε πειράματα σε πηλώδες έδαφος με σύσταση (45% άμμος, 36% πηλός, 19% άργιλος, 0,6% οργανική ουσία με pH 7,3) και φόρτιση με 10 mg/kg κάτω από αερόβιες συνθήκες στους  $25^{\circ}C$  στο σκοτάδι, με σχετική υγρασία το 75% της υδατοχωρητικότητάς του και παραμονή για 10 ημέρες είχαν ανάκτηση 91,4-103% δηλαδή η

DPA στο έδαφος είναι ιδιαίτερα σταθερή. Η αντικατάσταση του Η από την –NH με μέταλλα του εδάφους (metallization) ήταν εξαιρετικά αργή.

### 1.4.3. Μεταβολισμός και συσσώρευση της DPA στον άνθρωπο και τα ζώα

Η DPA μπορεί να εισέλθει στον ανθρώπινο οργανισμό από το στόμα, την αναπνοή και το δέρμα όπου προκαλούνται δερματοπάθειες. Όταν οι άνθρωποι καταναλώσουν αλκοολικά διαλύματα τότε είναι πολύ πιθανόν να σχηματιστεί έκζεμα, υπέρταση, ταχυκαρδία, κύστη στους νεφρούς, αύξηση του βάρους στα εσωτερικά όργανα και βλάβη στο συκώτι, το σπλίνα και τα νεφρά. Μετά την είσοδο της DPA στα θερμόαιμα μεταβολίζεται σε παράγωγα της hydroxy-DPA από την glucuronidase τα οποία απομακρύνονται με τα ούρα και περιττώματα. Αναφέρεται ότι η 4A-DPA έχει ιδιαίτερη συνδετική ικανότητα να προκαλεί σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες του ιστού του ήπατος και ιδιαίτερα αυτές που περιέχουν ασπαρτικό και γλουταμικό οξύ. Επίσης, η παρουσία της DPA σε υδάτινα περιβάλλοντα περιορίζει την ανάπτυξη των βακτηρίων *Rhodopseudomonas sphaeroides*, *Photobacterium phosphoreum*, *Rhodobacter capsulatus* με EC<sub>50</sub> μόλις 4,75 mg L<sup>-1</sup>. Σε συνδυασμό με διαλυτότητα της στο νερό χαρακτηρίζεται πολύ τοξική ουσία για τους υδάτινους οργανισμούς. Τα προϊόντα διάσπασης της DPA και των παραγώγων της είναι κύρια ανιλίνη και τελικά CO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub> και H<sub>2</sub>O. Όλη η ποσότητα της DPA που δόθηκε σε ποντικούς σε πειράματα επιπτώσεων σε έμβιους οργανισμούς μεταβολίστηκε και αποβλήθηκε κυρίως με τα ούρα (ποσοστό 0,14-0,28% παρέμειναν στους ιστούς και τα όργανα μετά από 168 ώρες από την τελευταία δόση). Δώδεκα μεταβολίτες της DPA ανιχνεύτηκαν και το 81-93% των ουσιών αυτών αποβλήθηκαν με τα περιττώματα. Οι κύριοι μεταβολίτες στους ποντικούς για την DPA ήταν οι: 4,4'-dihydroxydiphenylamine (4,4'-di-OH-DPA), 4-hydroxydiphenylamine (4-OH-DPA), O,N-diglucuronide, indophenol, 3-hydroxy-diphenylamine (3-OH-DPA), 2-hydroxydiphenylamine (2-OH-DPA). Σε κατσίκες που ταΐστηκαν με DPA, η ουσία αποβλήθηκε εκτός από τα ούρα, με τα κόπρανα αλλά και με το γάλα, ενώ οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα ζωικά όργανα βρέθηκαν στο συκώτι και τους νεφρούς και πολύ λιγότερο στο λίπος και κρέας. Η DPA μεταφέρεται και στα αυγά με συγκέντρωση στην λέκιθο κάτω από 0,01 mg/kg. Είναι τοξική στα ψάρια και στα θαλάσσια ασπόνδυλα και θεωρείται μη τοξική για τα πτηνά.

### 1.4.4. Μεταβολισμός της DPA σε φυτικούς ιστούς

Σε πειράματα στα μήλα παρατηρήθηκε ότι οι ουσία έχει αμελητέα πτητικότητα μετά την εφαρμογή της διότι δεν ανιχνεύτηκαν πτητικοί μεταβολίτες σε φίλτρα εξαερισμού σε θαλάμους συντήρησης μήλων. Το μεγαλύτερο ποσοστό των υπολειμμάτων της DPA απορροφάται από τη

φλούδα των μήλων σε διάστημα 2 ημερών, ενώ η συγκέντρωση στη σάρκα έχει αυξητική τάση φτάνοντας το 32% των υπολειμμάτων μετά από 40 εβδομάδες συντήρησης στο ψυγείο. Κάτω από την επίδραση του ψύχους η αρχική DPA μεταβολίζεται σε μεγάλο αριθμό υδροξυλιωμένων προϊόντων συμπεριλαμβανομένων των: 4-OHDPA καθώς και ένωση της ουσίας αυτής με γλυκοσίδια και σε μικρότερες ποσότητες 2-OHDPA, 3-OHDPA, 2,4-dihydroxy-diphenylamine (2,4-diOHDPA), NO-DPA, 4NO<sub>2</sub>DPA, 2-O<sub>2</sub>DPA, 4-MeODPA, 4-NO<sub>2</sub>DPA. Οι υδροξυλιωμένοι μεταβολίτες συνδέονται με γλυκόζη και ολιγοσακχαρίτες αλλά η DPA είναι το κύριο συστατικό στα υπολείμματα που βρίσκονται στα μήλα (Rudell *et al.*, 2005; Rudell *et al.*, 2006). Η 4-OHDPA είναι το ίδιο αποτελεσματική στην αντιμετώπιση του Scald με την DPA. Το NODPA ελέγχει το Scald αλλά όχι τόσο αποτελεσματικά όσο η DPA (Rudell *et al.*, 2005). Μετά από 40 εβδομάδες συντήρησης η αμιγώς καθαρή περιεκτικότητα σε DPA ήταν το 41% των υπολειμμάτων της DPA, οι συνδεδεμένες μορφές με μεγαλομόρια το 37% και οι OH-diphenylamines το 8%. Η DPA προστατεύει από το Scald διαμέσω της αντιοξειδωτικής της δράσης. Σταματάει την παραγωγή ελεύθερων ριζών με τη συμμετοχή του υδρογόνου από την αμινομάδα αλλά μπορεί να αντιδράσει και το αρυλο- άκρο της με -OH, NO<sub>2</sub>, και να σχηματίσει ορθο- και παρα- υδρόξυλ- ή νίτρο- σύμπλοκα, ιδιαίτερα δε με την αντίδραση με NO σχηματίζεται N-nitrosodiphenylamine (NODPA).

Ο μεταβολισμός της DPA στα βιολογικά συστήματα, όπως στα μήλα, κατά κύριο λόγο περιλαμβάνει την C-υδροξυλίωση του ενός ή και των 2 δακτυλίων στην ορθό- ή παρά- και σπανιότερα στην μετά- θέση (Rudell *et al.*, 2005). Τρία είναι τα πιθανά μονοπάτια μεταβολισμού της DPA στα μήλα. Το πρώτο κύριο μονοπάτι παρουσιάζεται σαν κυκλική ή δακτυλοειδής υδροξυλίωση σε τρεις διαφορετικές θέσεις που ονομάζονται 2,3,4 με διαδοχικές συζεύξεις με γλυκόζη, ολιγοσακχαρίτες και άλλα βιομόρια. Το δεύτερο κύριο μονοπάτι προτείνεται να είναι η διυδροξυλίωση σε κάποιο άλλο δακτύλιο της monohydroxydiphenylamine. Τελικά, το τρίτο μονοπάτι που προτείνεται σαν περαιτέρω σύνδεση της dihydroxydiphenylamine με γλυκόζη σε ένα ή και τα δύο υδροξυλικά της άκρα και έπειτα περαιτέρω σύνθεση με βιομόρια (Kim-Kang *et al.*, 1998).

#### 1.4.5. Άλλες ιδιότητες της DPA

Αν και η DPA αρχικά είχε μυκητοκτόνες ιδιότητες σήμερα κάτι τέτοιο δεν ισχύει. Η DPA δεν μπορεί να ελέγξει τους μικροοργανισμούς που προκαλούν μετασυσπλεκτικές σήψεις όπως το *P. expansum* (Errampalli, 2006). Το καφέτιασμα των μήλων από την εσωτερική κατάρρευση (internal browning) μπορεί να μειωθεί με την χρήση DPA (Wang *et al.*, 2000). Ο μεταβολισμός των μήλων επηρεάζεται σημαντικά από την παρουσία της DPA: μειώνεται η



αναπνοή και η IEC, καθυστερεί η ωρίμανση και ο γηρασμός των καρπών και μειώνεται η δραστηριότητα της lipoxygenase και polyphenol oxidase. Σε μήλα που μεταχειρίστηκαν με DPA παρατηρήθηκε αυξημένη σύνθεση CTs όταν το επίπεδο της  $\alpha$ -farnesene έφτασε τα 40 mg g<sup>-1</sup> (Whitaker, 2000). Η εφαρμογή της DPA είχε παρεμποδιστική δράση στην IEC στους 1°C για 6 μήνες, ενώ όταν τα μήλα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για 5 ημέρες η παραγωγή αιθυλενίου ήταν μεγαλύτερη από τα μήλα του μάρτυρα (Gong και Tian, 1998).

#### 1.4.6. Συμπεριφορά & υπολειμματική δράση της DPA

Πριν από την ευρεία χρήση της χρωματογραφίας οι σύνθετες μέθοδοι ανίχνευσης των υπολειμμάτων ήταν η φασματοφωτομετρική, η βολταμετρία και η αμπερομετρία. Αργότερα η DPA άρχισε να ανιχνεύεται χρωματομετρικά με όλες τις χρωματογραφικές τεχνικές (TLC, HPLC, GC και GC/MS). Για την ανίχνευση της DPA φασματοφωτομετρικά χρησιμοποιούσαν κατάλληλα αντιδραστήρια που ενώνονταν με την ουσία, όπως το μπλε προϊόν που παράγονταν από την αντίδραση της DPA με το vanadium pentoxide σε sulphuric acid και η diazotized 2,4-dinitroaniline (Luke και Cossens, 1980). Η ανίχνευση της DPA γίνεται κύρια με χρωματογραφικές τεχνικές με συχνότερα την χρήση της GC, ενώ έχουν χρησιμοποιηθεί και GC/MS και HPLC με ανιχνευτή φθορισμού, ηλεκτροχημικά ή με MS. Όσο μεγαλύτερη είναι η ευαισθησία και η διαχωριστική ικανότητα της ανιχνευτικής τεχνικής τόσο μειώνεται η μεταχείριση του δείγματος και ο καθαρισμός του. Την μεγαλύτερη ευαισθησία και εκλεκτικότητα την έχει το σύστημα της HPLC / MS (Garcia-Reyes *et al.*, 2005). Η DPA για να ανιχνευθεί σε σύστημα GC με ανιχνευτή ECD θα πρέπει πρώτα να παραγωγοποιηθεί (Saad *et al.*, 2004). Για την εκχύλιση της DPA πολλοί ερευνητές χρησιμοποιούσαν μόνο την φλούδα σε πάχος 1-4 mm μιας και σύμφωνα με μελέτες το 90% των υπολειμμάτων βρίσκεται εκεί, ενώ άλλοι ολόκληρο το μήλο (Allen και Hall, 1980). Η περιεκτικότητα της σάρκας των μήλων (βάθος μεγαλύτερο από 4 mm) σε DPA είναι μικρότερη από 0,1 mg kg<sup>-1</sup> (Luke και Cossens, 1980).

Για να εμποδιστεί η ανάπτυξη Scald στο φλοιό των μήλων, βρέθηκε ότι απαιτείται ελάχιστη συγκέντρωση DPA 0,2 μg cm<sup>-2</sup> στο φλοιό των καρπών (Huelin, 1968). Η συγκέντρωση της DPA στα μήλα και τα επίπεδα των υπολειμμάτων κατά την περίοδο της αποθήκευσης βρέθηκε ότι εξαρτώνται από τη μορφή του σκευάσματος που χρησιμοποιείται, από τις εφαρμοζόμενες δόσεις, από τη μέθοδο εφαρμογής (εμβάπτιση, ψεκάσμος, υποκαπνισμός), από τη θερμοκρασία του διαλύματος εφαρμογής και των καρπών, την ποικιλία μήλων και τις συνθήκες αποθήκευσης. Η ταυτόχρονη εφαρμογή DPA και 1-MCP μειώνει το ρυθμό υποβάθμισης των υπολειμμάτων της DPA κατά 25% σε σχέση με τα μήλα που

μεταχειρίστηκαν μόνο με DPA (Apollo Arquiza *et al.*, 2005). Ο DeEll *et al.* (2005) αναφέρει ότι συνδυασμός DPA και 1-MCP κάνει τα μήλα πιο σκληρά και προστατεύει από τη δράση της υψηλής συγκέντρωσης σε CO<sub>2</sub> (injury) στους θαλάμους συντήρησης με CA.

Εφαρμογή DPA σε μήλα Granny Smith με τη μέθοδο του thermofogging έδειξε μεγαλύτερη συγκέντρωση αρχικών υπολειμμάτων σε σχέση με εφαρμογές που έγιναν με εμβάπτιση ή ψεκάσμο. Όμως μετά από 1-2 μήνες αποθήκευσης η συγκέντρωση των υπολειμμάτων ήταν μικρότερη από 3 ppm (Charon *et al.*, 1987). Η DPA είχε πιο μακρά υπολειμματική δράση σε μήλα Red Delicious από ότι σε μήλα Granny Smith, Jonathan ή Rome Beauty όταν εφαρμόστηκε σε μήλα όλων των παραπάνω ποικιλιών με εμβάπτιση, στον ίδιο χρόνο και την ίδια συγκέντρωση (Lee *et al.*, 1984).

Η συμπεριφορά και κατανομή της DPA μελετήθηκαν σε μήλα ποικ. Stayman Red με εφαρμογή fogging και με τη βοήθεια ειδικής διάταξης. Η αντιμετώπιση του Scald ήταν αποτελεσματική, χρησιμοποιήθηκε όμως μεγαλύτερη ποσότητα DPA και προσδιορίστηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις υπολειμμάτων μετά από 5 μήνες αποθήκευσης συγκριτικά με τα αποτελέσματα εφαρμογής DPA στα ίδια μήλα, με εμβάπτιση (Bertolini *et al.*, 1995). Στα πλαίσια ενός προγράμματος ελέγχου των υπολειμμάτων στα τρόφιμα από το Υπουργείο Υγείας της Ισπανίας το 1995, ελήφθησαν 100 δείγματα φρούτων (μήλων και αχλαδιών) από 10 διαφορετικά supermarkets από τον Ιανουάριο έως τον Ιούνιο. Κατά την ανάλυση ανιχνεύθηκαν υπολείμματα DPA, σε 14 και 20 δείγματα μήλων και αχλαδιών, αντίστοιχα. Μόνο σε 2 και 3 δείγματα μήλων και αχλαδιών, αντίστοιχα, η συγκέντρωση της DPA ξεπέρασε το 50% του αντίστοιχου MRL (Ισπανικά MRL: 3mg kg<sup>-1</sup> για τα μήλα και αχλάδια.) (Garrido *et al.*, 1998). Στο U.K. πάνω από το 10% των μήλων που έγινε ανάλυση για την ανίχνευση υπολειμμάτων το 2004 περιείχαν τις ουσίες chlorpyrifos, carbendazim, captan και DPA για τα μήλα που προέρχονται από τη χώρα, ενώ για τα εισαγόμενα ήταν οι ουσίες: DPA, thiabendazole, captan, carbaryl, azinphos-methyl και διθειοκαρβαμιδικά (Pennell, 2006).

#### **1.4.7. Ανασκόπηση αναλυτικών μεθόδων (τεχνικών), για τη διερεύνηση και προσδιορισμό υπολειμμάτων της DPA**

Οι Luke και Cossens (1980) περιέγραψαν την παρακάτω μέθοδο ανίχνευσης DPA: Εκχύλιση. Οι φλούδες των μήλων (πρώτα 2-4 mm) τεμαχίζονται και 25g από αυτές προστίθεται σε ομογενοποιητή με 100 ml ακετονιτριλίου για 2 min. Το εκχύλισμα φιλτράρεται σε χωνί Buchner με φίλτρο από υαλοβάμβακα. Το φίλτρο μετά την διήθηση ξεπλένεται με 50 ml ακετονιτριλίου. Το εκχύλισμα από το ακετονιτρίλιο (περίπου 125 ml) μεταφέρεται σε διαχωριστικό χωνί και προστίθενται 600 ml διαλύματος 2% θεικού νατρίου και ακολουθεί

κατανομή σε διαίθυλ-αιθέρα. Ακολουθεί συμπύκνωση σε περιστροφικό εξατμιστήρα, οξίνιση, παραλαβή με πετρελαϊκό αιθέρα και ανάλυση σε σύστημα GC. Οι ανακτήσεις με την παραπάνω τεχνική εκχύλισης και καθαρισμού είναι από 84-91%.

Οι Allen και Hall (1980) χρησιμοποίησαν δυο τεχνικές προσδιορισμού της DPA. Η μία περιλάμβανε εκχύλιση με συσκευή Soxhlet και σχηματισμό fluorobutyl παραγώγων για ανίχνευση σε GC με ανιχνευτή ECD και η δεύτερη μέθοδος με εκχύλιση και απευθείας έκχυση σε GC με ανιχνευτή NPD.

Οι Johnson *et al.* (1997), διερεύνησαν την υπολειμματική δράση της DPA σε μήλα ποικιλιών Red Delicious και Granny Smith εφαρμόζοντας την αναλυτική μέθοδο που περιγράφεται παρακάτω: Ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων της DPA έγινε σε δείγματα ολόκληρων καρπών, σε δείγματα χυμού αλλά και σε δείγματα μούστου από τα μήλα. Τα δείγματα (25g) εκχυλίστηκαν με ακετόνη σε ομογενοποιητή και ακολούθησε φιλτράρισμα. Το εκχύλισμα αναμίχθηκε με νερό και ακολούθησε κατανομή σε εξάνιο. Μετά τη λήψη του εκχυλίσματος (σε εξάνιο) έγινε αλλαγή διαλύτη σε διχλωρομεθάνιο, παραγωγοποίηση της DPA με τριφθορο-ακετικό ανυδρίτη και ανάλυση σε σύστημα GC/MS. Το ποσοτικό όριο προσδιορισμού ήταν 0,08 ppm για τους ολόκληρους καρπούς, το χυμό και νωπό μούστο, και 0,4 ppm για τον ξηρό μούστο. Ο μέσος όρος των ανακτήσεων κυμάνθηκε από 75,2% (ξηρός μούστος – Red Delicious) έως 94% (ολόκληροι καρποί-Granny Smith).

Μια απλή και σύντομη αναλυτική μέθοδος εφαρμόστηκε από τους Yu *et al.*, (1996) για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων κάποιων χημικών μορίων μεταξύ των οποίων και της DPA. Η ανάλυση έγινε σε δείγματα μήλων πορτοκαλιών, σπανακιού και κονσερβοποιημένων ροδάκινων. Η διαδικασία της εκχύλισης βασίστηκε πάνω στην CDFA (California Department of Food and Agriculture) πολυυπολειμματική μέθοδο. Η εκχύλιση των δειγμάτων (50g) έγινε με 100 ml ακετονιτρίλιο και μετά από συμπύκνωση έγινε αλλαγή διαλύτη σε ακετόνη (1ml). Η ανάλυση έγινε σε σύστημα GC/MS, με τριχοειδή στήλη τύπου: HP-5. Το όριο ανίχνευσης για τη DPA ήταν 8 ppb, και οι ανακτήσεις σε 5 επίπεδα φορτίσεων για όλα τα προϊόντα, κυμάνθηκαν από 70% έως 129% με RSDs από 0,8 - 22%.

Για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων της DPA σε μήλα και αχλάδια οι Garrido *et al.* (1998) εφάρμοσαν μια απλή, ταχεία και οικονομική μέθοδο. Η εκχύλιση της DPA από τα δείγματα (10g) έγινε με ακετόνη (20 ml), ακολούθησε καθαρισμός με κατανομή μεταξύ δυο υγρών και εκχύλιση με εξάνιο (30 ml). Η ανάλυση έγινε σε GC με ανιχνευτή NPD και η μέθοδος αξιολογήθηκε με φορτίσεις σε 4 επίπεδα συγκεντρώσεων. Το όριο ανίχνευσης της προτεινόμενης μεθόδου ήταν 0,005 ppm, και το όριο ποσοτικού προσδιορισμού 0,01 ppm. Οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν μεταξύ 80% και 100%. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε για την

ανάλυση 100 δειγμάτων μήλων και αχλαδιών στα πλαίσια προγράμματος ελέγχου των υπολειμμάτων στα τρόφιμα από το υπουργείο υγείας της Ισπανίας το 1995.

Ο Garciaa-Reyes *et al.* (2005) ανέπτυξαν ένα σύστημα απευθείας έκχυσης με την χρήση φασματοσκοπίας φθορισμού με στερεή επιφάνεια από C18 silica gel για την ανίχνευση της DPA σε μήλα και αχλάδια. με LOD  $0,06 \text{ mgKg}^{-1}$  και ανάκτηση από 78-104%. Ο Saad *et al.* (2004) χρησιμοποίησαν τον οξικό αιθυλεστέρα (EA) για να εκχυλίσουν την DPA από τα μήλα και σύστημα RP-HPLC με ανιχνευτή φθορισμού για την ποσοτικοποίηση και με κινητή φάση MeOH:H<sub>2</sub>O (70:30 v/v). Ο Rudell *et al.* (2005b) χρησιμοποίησαν σύστημα HPLC (αντίστροφης φάσης) με ανιχνευτή UV-VIS, APCI (atmospheric pressure chemical ionization detection) και MS. Με τους παραπάνω ανιχνευτές μπορούν να ποσοτικοποιηθούν υδροξυλιωμένα, νιτρικά, νιτρώδη και μεθυξυλιωμένα παράγωγα της DPA.

#### 1.4.8. Ανίχνευση Υπολειμμάτων DPA σε αμεταχειρίστα μήλα

Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι η DPA ή ουσία που μοιάζει με DPA μπορεί να περιέχεται στα μήλα σαν φυσικό συστατικό σε μικροποσότητες. DPA ανιχνεύτηκε σε μήλα που δεν είχαν μεταχειριστεί με την ουσία μετά από 7-8 μήνες παραμονής στο ψυγείο στους 0°C σε συγκέντρωση  $0,10 (0,03-0,13) \mu\text{g g}^{-1}$ , ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι στον θάλαμο υπήρχαν μόνο αμεταχειρίστα με DPA μήλα. Τα υπολείμματα αυτά της DPA στα μήλα αποδόθηκαν σε ποσότητες DPA που είχαν εμποτιστεί στα τοιχώματα του θαλάμου συντήρησης, στο πάτωμα, στο σύστημα ψύξης, στον αέρα και στα καφάσια. Μετά από μετρήσεις η περιεκτικότητα σε DPA στον αέρα ενός ψυκτικού θαλάμου που αποθηκεύονται μήλα που δεν έχουν μεταχειριστεί με DPA είναι 15 φορές μικρότερη σε σχέση με αυτόν που έχουν αποθηκευτεί μήλα με DPA από προηγούμενες περιόδους συντήρησης (Bramlage *et al.*, 1996). Σε ανάλυση με GC/MS η DPA ή ουσία που έμοιαζε με DPA ανιχνεύτηκε σε μήλα που προέρχονταν από οργανική γεωργία, αλλά η συγκέντρωσή της στα μήλα αυτά ήταν μικρότερη από  $0,01 (0,002-0,007) \mu\text{g g}^{-1}$ , ενώ και οι συγκεντρώσεις της DPA δεν διέφεραν σημαντικά στα διάφορα στάδια ωρίμανσης πριν την συγκομιδή. Εξάλλου, σύμφωνα με αναφορές, DPA υπάρχει φυσιολογικά σε ποσότητα πάνω από 1% σε κρεμμύδια και πράσινο τσάι και μάλιστα στην DPA αποδίδεται η αντι-υπεργλυκαιμική (anithyperglycemic) δραστηριότητα των εκχυλισμάτων από αυτά τα φυτικά προϊόντα. Μετά από μετρήσεις σε μήλα και αχλάδια έχει διαπιστωθεί η περιεκτικότητά τους σε ουσία που μοιάζει με DPA οπότε δεν μπορούν να θεσμοθετηθούν μηδενικά όρια ανοχής για την ανίχνευση των υπολειμμάτων της ουσίας αυτής για τα προϊόντα της οργανικής γεωργίας (Bramlage *et al.*, 1996).

### 1.4.9. Σκευάσματα και τρόποι εφαρμογής DPA

Η DPA κυκλοφορεί στην ελληνική αγορά με το σκεύασμα: No Scald DPA 31,8 EC με 31,8% περιεκτικότητα σε δραστική ουσία, Xedamide 20 EC με περιεκτικότητα 20% σε δραστική ουσία, σε μορφή σκευάσματος υποκαπνισμού Fruitfog-DPA σε μεταλλικό κουτί των 600 g με περιεκτικότητα 25% σε DPA. Οι μορφές που μπορεί να βρεθεί στο εμπόριο η DPA για χρήση στα οπωροκηπευτικά είναι βρέξιμη σκόνη, συμπυκνωμένο υγρό/διάλυμα, υγρό γαλακτοποιήσιμο και έτοιμο για χρήση υγρό.

Η εφαρμογή της DPA γίνεται συνήθως αμέσως μετά τη συγκομιδή με ψεκασμό (Spray), εμβάπτιση (Dip), διαβροχή (Drench) ή υποκαπνισμό (Fogging). Χρησιμοποιούνται διαλύματα DPA συγκέντρωσης 500-2000 ppm και εν συνεχεία οι καρποί οδηγούνται στους θαλάμους συντήρησης. Η εφαρμογή DPA είναι αναποτελεσματική αν καθυστερήσει για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά τη συγκομιδή. Η συγκέντρωση της DPA σε μήλα που έχουν περάσει από Drencher είναι μεγαλύτερη στο πάνω τμήμα του μήλου από τον ισημερινό προς τον ποδίσκο, ενώ το κάτω μέρος έχει λιγότερη. Η χρήση fogging έχει σαν αποτέλεσμα την πιο ομοιόμορφη κατανομή της ουσίας στην επιφάνεια των μήλων. Η έκλυση με Drencher και το fogging της DPA είναι εξίσου αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση του Scald. Η χρήση fogging δεν είναι πάντα απόλυτα αποτελεσματική στην προστασία των φρούτων από ασθένειες, διότι δεν διαχέεται ομοιόμορφα στον ψυχρό αέρα και ανάμεσα στα φρούτα (Bertolini *et al.*, 1995).

Η χρήση Drencher για την εφαρμογή της DPA είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρέως. Μετά από συνεχείς χρήσεις του υγρού έκλυσης με τα Drenchers της DPA η συγκέντρωση της δραστικής ουσίας μπορεί να μειωθεί μέχρι και 30% κάνοντας την εφαρμογή αναποτελεσματική. Όσο πιο υψηλή είναι η θερμοκρασία στην οποία εμβαπτίζονται τα μήλα με DPA τόσο αυξάνεται η συγκέντρωση της DPA στην φλούδα. Μερικά μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής μπορεί να είναι η αυξημένη μυκητολογική παρουσία λόγω αύξησης της υγρασίας στην επιφάνεια των μήλων και ανάπτυξης επιφυτικών προσβολών, βρωμιά και σκόνη στο εφαρμοζόμενο διάλυμα από το ταυτόχρονο πλύσιμο των μήλων που μπορεί να μειώσει την αποτελεσματικότητα της επέμβασης. Το διάλυμα μετά από μερικές εφαρμογές θα πρέπει να αντικατασταθεί με νέο. Συνήθως το υδατικό διάλυμα με σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε DPA και μολυντές απορρίπτεται στο περιβάλλον δημιουργώντας περιβαλλοντική ρύπανση (Moggia *et al.*, 2003).

#### 1.4.9.1. Υποκαπνισμός (Fogging)

Στις περισσότερες περιπτώσεις στα οπωροκηπευτικά η εφαρμογή των μυκητοκτόνων και των αντιοξειδωτικών γίνεται με ψεκασμό και εμβάπτιση. Οι μέθοδοι αυτοί απαιτούν μεγάλη χρήση Φ.Π. που στις περισσότερες περιπτώσεις δεν είναι απαραίτητη. Δημιουργούνται

προβλήματα υπολειμματικότητας και απόθεσης των απόνερων. Το fogging μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε καρπούς που είναι ευαίσθητοι στο νερό λόγω ανάπτυξης μυκητολογικών προσβολών. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε φορτηγά χωρίς ιδιαίτερο εξοπλισμό και απαιτήσεις αλλά και στη γραμμή παραγωγής (Ekman *et al.*, 2005). Στα σιτηρά για την αντιμετώπιση των εντόμων η εφαρμογή των εντομοκτόνων γίνεται με υποκαπνισμό (fogging) όποτε αυτό κρίνεται απαραίτητο με βάση τις συλλήψεις στις εντομοπαγίδες. Κάτι παρόμοιο αρχίζει και εφαρμόζεται και στα οπωροκηπευτικά. Τα σταγονίδια που σχηματίζονται με το fogging είναι μικρότερα από 1μm και έχουν καλύτερη διεισδυτική ικανότητα για τη μεταφορά της δραστικής ουσίας. Η δραστική ουσία διαχέεται και εισχωρεί σε όλα τα σημεία του θαλάμου που γίνεται το fogging, αλλά η τάση είναι η υψηλότερη συγκέντρωση να παρατηρείται στα φρούτα που είναι κοντά στην οροφή του θαλάμου μιας και λόγω της πτητικότητας της DPA έχει την τάση να συμπυκνώνεται στα σημεία αυτά. Σύμφωνα με τελευταίες έρευνες πάνω από το 25% της εφαρμογής DPA στην Ευρώπη γίνεται με την τεχνική του fogging και η τάση είναι αυξητική. Τα πλεονεκτήματα των τεχνολογιών αυτών είναι η χρήση πολύ μικρών ποσοτήτων χημικών, τα οποία αεριοποιούνται, οπότε δεν υπάρχουν υγρά απόβλητα. Αυτή η τεχνική επιτρέπει τη χρήση χημικών, όπως η DPA και τα μυκητοκτόνα, απευθείας στους χώρους αποθήκευσης ακόμα και αν τα φρούτα έχουν ψυχθεί. Η δεύτερη εφαρμογή DPA στα μήλα είναι σε πολλές περιπτώσεις απαραίτητη μετά από μερικούς μήνες αποθήκευσης. Λόγω του μεγάλου όγκου των μήλων που χωράνε σε κάθε ψυκτικό θάλαμο θα ήταν ουτοπικό μια δεύτερη μεταχείριση με DPA από τα Drenchers. Με την τεχνική του fogging η εφαρμογή της DPA γίνεται εύκολα και ταυτόχρονα σε όλα τα μήλα του ψυκτικού θαλάμου. Για μήλα που είναι ευαίσθητα στο Scald και αναμένεται να παραμείνουν στην συντήρηση για μεγάλο χρονικό διάστημα (πάνω από 5 μήνες) μπορεί να γίνει δεύτερη εφαρμογή με DPA μέσω της τεχνικής αυτής με καταλληλότερη περίοδο τους 2-3 μήνες από την αποθήκευση στους ψυκτικούς θαλάμους (Moggia και Yuri, 2003).

#### **1.4.10. Δυσμενείς επιδράσεις της DPA**

Η DPA πήρε άδεια κυκλοφορίας σαν Φ.Π. στις Η.Π.Α. το 1947. Η πρώτη συστηματική μελέτη της επίδρασης της DPA στην υγεία των έμβιων οργανισμών έγινε το 1969, ενώ ακολούθησαν και άλλες το 1976, 1979, 1984 και τελευταία το 1998. Μετά από πειράματα σε ζώα το ADI καθορίστηκε στα 0-0,08 mg kg<sup>-1</sup> ζώντος βάρους. Έχει αποδειχτεί ότι η DPA είναι ελαφρώς τοξική όταν εισέρχεται στον οργανισμό από το στόμα, το δέρμα και την αναπνοή και έχει καταταχθεί την τρίτη θέση τοξικότητας σε κατάταξη των 4 κατηγοριών. Για την ουσία αυτή δεν έχει ακόμα προσδιοριστεί το NOEL (No Observed Effect Level) αλλά ούτε το LOEF

(Lowest Observed Effect Level). Όσο αφορά τη καρκινογένεση κατατάσσεται σαν «πιθανώς μη καρκινογόνο» με τάση να θεωρηθεί καρκινογόνο. Η άμεση επαφή με τα μάτια και το δέρμα δημιουργεί ερεθισμό. Η χρόνια έκθεση μπορεί να δημιουργήσει αναπαραγωγικά προβλήματα και δυσμενή επίδραση στο έμβρυο, νεφρούς, κύστη και συκώτι. Η πόση αλκοόλης σε συνδυασμό με την έκθεση σε DPA μπορεί να αυξήσει την πιθανότητα σοβαρής βλάβης στο συκώτι.

Το MRL για την διφαινυλαμίνη στα μήλα στις Η.Π.Α. είναι 10 mg/kg, ενώ είναι 0,50 mg/kg για τον χυμό των μήλων, 0,01 mg/kg για το γάλα, το κρέας, το λίπος και τα υποπροϊόντα του κρέατος (συμπεριλαμβανομένου και του συκωτιού) και 30 mg/kg για τον υγρό μηλοπολτό (wet apple pomace). Για την Ευρώπη και μερικές άλλες ανεπτυγμένες χώρες το MRL για την DPA στα μήλα είναι 5 ppm.

Σύμφωνα με το NIOSH η μέγιστη καθημερινή έκθεση σε DPA για εργασία 10h είναι 10 mg/m<sup>3</sup>, ενώ σύμφωνα με το ACGIH το όριο παραμένει το ίδιο αλλά η έκθεση μπορεί να είναι μέχρι 8 h. Τα παραπάνω όρια θεωρούνται αξιόπιστα μόνο όταν η DPA εισέρχεται στον ανθρώπινο οργανισμό διαμέσω της αναπνοής. Αν υπάρχει και επαφή μέσω δέρματος τότε η συγκέντρωση στον οργανισμό πολλαπλασιάζεται και ο κίνδυνος δυσμενών επιδράσεων λόγω υπερέκθεσης αυξάνεται δραματικά.

#### **1.4.11. Τρόποι μείωσης της έκθεσης σε DPA στους χώρους εργασίας**

Οι χώροι που γίνεται εφαρμογή της DPA θα πρέπει να είναι απομονωμένοι και κλειστοί με ξεχωριστό σύστημα αερισμού για την απομάκρυνση των χημικών ουσιών, αλλιώς οι εργαζόμενοι θα πρέπει να χρησιμοποιούν αντιασφυξιογόνες μάσκες με ειδικά φίλτρα ενεργού άνθρακα και κατάλληλη ένδυση. Στους χώρους εργασίας θα πρέπει να είναι αναρτημένες πινακίδες με τις δυσμενείς επιπτώσεις της έκθεσης στην DPA πέρα από το επιμορφωτικό πρόγραμμα για θέματα υγείας και ασφάλειας των εργαζομένων που είναι υποχρεωμένη κάθε επιχείρηση να τηρεί. Στα πλαίσια της καλής εργατικής τεχνικής (GWP) θα πρέπει να ακολουθούνται οι παρακάτω κανόνες:

1. Οι εργαζόμενοι που έχουν έρθει τα ρούχα τους σε επαφή με DPA θα πρέπει να αλλάζουν αμέσως φορώντας καθαρά ρούχα.
2. Τα ρούχα εργασίας δεν θα πρέπει να μεταφέρονται σπίτι διότι τα μέλη της οικογένειας μπορεί να εκτεθούν.
3. Τα ρούχα εργασίας θα πρέπει να πλένονται από ειδικά καθαριστήρια που έχουν ενημερωθεί για τις δυσμενείς ιδιότητες της DPA.

4. Σε κάθε περίπτωση στους χώρους εργασίας που είναι σε άμεση επαφή με την DPA θα πρέπει να υπάρχει άφθονο και καθαρό νερό για το ξέπλυμα των ματιών στην περίπτωση που καταστεί ανάγκη, ενώ στην περίπτωση που υπάρχει κίνδυνος άμεσης επαφής με το δέρμα θα πρέπει να υπάρχουν ειδικά λουτρά για ντους.
5. Δεν επιτρέπεται το φαγητό, το κάπνισμα και η πόση στα μέρη που υπάρχει DPA όπως στις αποθήκες, κατά τη διάρκεια εφαρμογής της DPA ή όπου αποθηκεύονται οι συσκευασίες.
6. Για την προστασία του δέρματος θα πρέπει να χρησιμοποιούνται γάντια και κατάλληλη ένδυση. Σε περίπτωση επαφής με τα ρούχα ή το δέρμα τα ρούχα θα πρέπει να αφαιρούνται άμεσα και το δέρμα να πλένεται καλά με σαπούνι και νερό τουλάχιστον 3 φορές.
7. Για την προστασία των ματιών θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ειδικά γυαλιά και της αναπνοής ειδική μάσκα με φίλτρο αέρα. Σε περίπτωση επαφής της DPA με τα μάτια θα πρέπει άμεσα να ξεπλυθούν για τουλάχιστον 15 min με άφθονο καθαρό νερό με πολύ καλό καθαρισμό των βλεφαρίδων.
8. Η DPA είναι εύφλεκτη αλλά δεν αναφλέγεται εύκολα και για αυτό θα πρέπει να υπάρχουν τα κατάλληλα μέτρα πυροπροστασίας. Κατά την καύση παράγονται επικίνδυνα οξείδια του αζώτου.
9. Η DPA δεν θα πρέπει να έρχεται σε επαφή με εξαχλωρομεθάνιο και τριχλωρομεθάνιο διότι δημιουργείται εκρηκτικό μείγμα. Δεν είναι συμβατή με οξειδωτικούς παράγοντες όπως υπερχλωρίδια, περοξειδία, υπερμαγγανικό κάλιο, χλωρίδια, νιτρίτες, χλωρίνη, βρώμιο και φθόριο, ισχυρά οξέα, όπως το υδροχλώριο, το θειικό και το νιτρικό.
10. Τα δοχεία με την DPA θα πρέπει να είναι ερμητικά κλειστά, να αποθηκεύονται σε ψυχρό χώρο μακριά από το φως. Πηγές ανάφλεξης όπως το κάπνισμα και οι φλόγες απαγορεύονται όπου υπάρχει DPA διότι υπάρχει κίνδυνος πυρκαγιάς ή έκρηξης.



## 1.5. ΧΡΗΣΗ ΘΕΡΜΟΥ ΝΕΡΟΥ ΣΤΙΣ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ

### 1.5.1. Γενικά

Η θέρμανση των φρούτων και των λαχανικών είναι μια τεχνική που εφαρμόζεται για πάνω από 70 χρόνια. Η πρώτη επιστημονική αναφορά ήταν από τον Baker το 1932 που περιέγραψε την επίδραση της θερμότητας στην επιβίωση των αυγών σε Δίπτερα στα εσπεριδοειδή. Τα τελευταία χρόνια με την ευαισθητοποίηση του καταναλωτικού κοινού στην χρήση Φ.Π, την τάση μείωσης της χρήσης χημικών, τη στροφή προς την οργανική γεωργία που δεν επιτρέπει την χρήση Φ.Π. ή την απόσυρση μερικών Φ.Π. η εφαρμογή θερμότητας σε προϊόντα φυτικής προέλευσης αποτελεί μια υποσχόμενη μέθοδο, που μπορεί να ελέγξει πολλά φυτοπαράσιτα και μη παρασιτικής φύσεως ασθένειες μετασυλλεκτικά όταν αυτές αναπτύσσονται στην επιφάνεια ή λίγα mm κάτω από τη φλούδα των φρούτων και λαχανικών (Lurie, 1998; Lurie και Klein, 2000; Fallik *et al.*, 2001). Η θερμότητα που πρέπει να εφαρμοστεί και ο αποτελεσματικότερος τρόπος της μεταχείρισης εξαρτώνται από την ευαισθησία του φυτικού είδους και τον εχθρό στόχο. Στις περισσότερες περιπτώσεις η θερμοκρασία εφαρμογής για την αντιμετώπιση ενός εντόμου είναι διαφορετική από αυτή που πρέπει να εφαρμοστεί για την αντιμετώπιση ενός μύκητα. Η καλύτερη και αποτελεσματικότερη θερμοκρασία μεταχείρισης των φρούτων και η διάρκεια της μεταχείρισης αυτής θα πρέπει να μελετάται σε κάθε ποικιλία και είδος διότι η ευαισθησία στο επιφανειακό έγκαυμα λόγω έκθεσης σε υψηλή θερμότητα διαφέρει. Σε πολλές περιπτώσεις η μεταχείριση των φρούτων και λαχανικών με θερμότητα πριν την αποθήκευση σε ψυγεία έχει ευεργετικές επιδράσεις στην ποιότητα των προϊόντων, όπως είναι η μείωση του ρυθμού ωρίμανσης για τους κλιμακτηριακούς καρπούς, η αύξηση της περιεκτικότητας σε ΔΣΣ, η μείωση της οξύτητας και η προστασία από μετασυλλεκτικές δυσλειτουργίες (όπως είναι το Scald στα μήλα και το Chilling Injury στα υποτροπικά φρούτα και λαχανικά). Η μεταχείριση με θερμότητα των φρούτων και λαχανικών δεν είναι απαραίτητο να γίνεται με υψηλές σχετικά θερμοκρασίες, με ειδικά μηχανικά ή άλλα μέσα. Παραμονή των φρούτων και λαχανικών για μερικές μέρες σε θερμοκρασία 5-12°C ή 16-25°C θεωρείται περίοδος σκληραγώγησης και προσαρμογής που θα προστατέψουν τα φυτικά προϊόντα κατά την αποθήκευση από ασθένειες ή δυσλειτουργίες (πατάτες, κρεμμύδια, καρότα, εσπεριδοειδή).

Η χρήση Φ.Π. είναι ο πιο κοινός και αποτελεσματικός τρόπος αντιμετώπισης των μετασυλλεκτικών ασθενειών. Στις περιπτώσεις όμως όπου απαιτείται συγκομιδή σε μικρά χρονικά διαστήματα (ανά ημέρα ή διήμερο), όπως στις φράουλες, απαιτείται ο περιορισμός της

χρήσης Φ.Π. Ιδιαίτεροι λόγοι, όπως είναι οι κίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον από τη συνεχή χρήση χημικών αλλά και η εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών στα ΦΠ., οδηγούν στην ανάγκη ελέγχου των φυτοπαρασίτων με εναλλακτικές μεθόδους (Karabulut *et al.*, 2004). Όταν χρησιμοποιείται θερμότητα, αυτή μπορεί να εφαρμοστεί μέσω κάποιου προθερμασμένου υγρού (συνήθως νερό) ή με θερμό αέρα ή ατμό. Η αποτελεσματικότερη μέθοδος μεταφοράς θερμότητας είναι με εμβάπτιση σε θερμό νερό, ενώ η χρήση θερμού αέρα μπορεί να γίνει συμπληρωματικά σε φορτηγά μεταφοράς ή σε ήδη πληρωμένους χώρους συντήρησης (Lurie, 1998). Η εφαρμογή θερμού αέρα διαρκεί μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σε σχέση με την εμβάπτιση σε θερμό νερό, συνήθως μέρες, διότι η θερμοχωρητικότητα του αέρα είναι μικρή και οι απαιτήσεις σε θερμότητα μεγάλες για αυτού του είδους τις μεταχειρίσεις. Η εφαρμογή θερμού νερού διαρκεί πολύ λίγο 30 sec-90 min και εξαρτάται από τη θερμότητα που πρέπει να μεταφερθεί και το μέγεθος των μεταχειριζόμενων φρούτων και λαχανικών. Ακόμα, η χρήση θερμού νερού (HWT) μπορεί να θεωρηθεί πιο φιλική προς το περιβάλλον σε σχέση με την HAT και τη χρήση ατμού διότι το χρησιμοποιούμενο νερό μπορεί να ανακυκλωθεί.

Υπάρχει μια χρονική υστέρηση στη διάχυση της θερμότητας στη σάρκα των μήλων και των άλλων φρούτων και λαχανικών. Σε θερμοκρασία στόχο 49° C στην επιφάνεια των μήλων μετριέται θερμοκρασία 44-45° C στην σάρκα (Jones και Waddell, 1996). Η χρήση θερμού νερού μπορεί να προκαλέσει πιο εύκολα εγκαύματα στους ευαίσθητους στη θερμότητα καρπούς σε σχέση με το θερμό αέρα. Οι Lafuente και Zacarias (2006) αναφέρουν ότι η προθέρμανση των καρπών στους 40° C πριν την εφαρμογή υψηλότερης θερμότητας προστατεύει από H.I., διότι ενεργοποιείται η α-αμυλάση και φωσφορυλάση, ενώ προσθήκη CaCl<sub>2</sub> στο θερμό νερό αυξάνει την αποτελεσματικότητα της τεχνικής ενάντια στο Scald (Jemric *et al.*, 2006). Γενικότερα, έχει αποδειχθεί ότι η χρήση θερμότητας για την αντιμετώπιση παρασίτων και μη παρασιτικών ασθενειών ευνοεί την ποιότητα των φρούτων και λαχανικών. Ειδικότερα, στα μήλα διατηρεί τη σκληρότητα των καρπών, στο μπρόκολο μειώνει την κιτρινάδα αλλά μειώνονται και οι δυσμενείς επιδράσεις από τη μεταχείριση με ακτινοβολήση των φρούτων και λαχανικών που χρησιμοποιείται για την επιφανειακή απολύμανσή τους. Η μεταχείριση με θερμότητα δεν επηρέασε την αντιοξειδωτική ικανότητα και την περιεκτικότητα των μήλων σε φαινολικά (Spadaro *et al.*, 2004). Σε ότι αφορά τα παθογόνα, η θέρμανση μειώνει τη μολυσματική δύναμη των σπορίων των μυκήτων και βακτηρίων αλλά αυξάνει και την αντοχή στη συντήρηση στους εχθρούς με τη μείωση του ρυθμού του μεταβολισμού των μήλων και της ωριμότητάς τους. Τα σπόρια των μυκήτων και οι προσβολές αυτών κατά τη συγκομιδή περιορίζονται στην επιφάνεια των καρπών ή στα πρώτα επιφανειακά στρώματα της φλούδας οπότε το θερμό νερό μπορεί να τα απομακρύνει ή να καταστρέψει την αποικία

(Spadaro *et al.*, 2004). Ειδικότερα για τα μήλα που μεταχειρίζονται με DPA για την αντιμετώπιση του Scald, η θέρμανση των μήλων σε θερμοκρασία νερού πάνω από 46°C μπορεί να ελέγξει την ασθένεια με ποικίλη αποτελεσματικότητα που εξαρτάται από την ποικιλία, τη θερμοκρασία του νερού που γίνεται η εμβάπτιση και το χρόνο βύθισης. Η δράση της θερμότητας στην αντιμετώπιση του Scald στα μήλα έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει τη σύνθεση της πολυφαινολοξειδάσης (polyphenoloxidase, PPO) με σημαντική μείωση του ρυθμού σύνθεσης πρωτεϊνών (Chen *et al.*, 1993). Σύμφωνα με πειραματικά αποτελέσματα των Smith και Lay-Yee (2000), όταν θερμαίνονται τα μήλα, η περιεκτικότητα σε οξυγόνο στο εσωτερικό μειώνεται και αυξάνεται το CO<sub>2</sub>. Η μείωση του O<sub>2</sub> συντελεί στον περιορισμό του ρυθμού των οξειδωτικών αντιδράσεων, άρα και του Scald. Οι Fallik *et al.* (2001) παρατήρησαν ότι εφαρμογή θερμού νερού μείωσε το ρυθμό ωρίμανσης των μήλων διότι μειώθηκε η αναπνοή, η IEC και η αλλαγή του χρωματισμού από πράσινο σε κίτρινο στην ποικ. Golden Delicious, τα φρούτα ζάρωσαν, αλλά η ποιότητα των καρπών διατηρήθηκε. Ο αποπρασινισμός με τη χρήση θερμότητας οφείλεται στην αυξημένη δράση του ενζύμου χλωροφυλλική οξειδάση (Lurie, 1998).

Με τη θέρμανση των μηλών το Scald πιθανότατα μειώνεται διαμέσου 1) μειωμένης παραγωγής a-farnesene 2) παρεμπόδιση της οξείδωσης της a-farnesene και των συνοδευτικών ουσιών 3) αύξηση της άμυνας των φυτικών ιστών στις καταστροφικές επιδράσεις της a-farnesene και των προϊόντων που παράγονται από την οξείδωσή της. Η έκθεση των φρούτων σε υψηλή θερμοκρασία ενθαρρύνει και αυξάνει το σχηματισμό και τη δράση των heat shock proteins (HSPs). Οι HSPs εικάζεται ότι λειτουργούν σαν συνοδευτικά μόρια που μπορούν να ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων όταν αυτά καταπονούνται από τη θερμότητα, το σχηματισμό ολιγομερών, τη μετακίνηση διαμέσω των μεμβρανών και τη διάχυση μέσω της αποδόμησης και απομάκρυνσης ακατάλληλων ή βλαβερών πρωτεϊνών. Σε μήλα που μεταχειρίστηκαν με θερμότητα παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες ποσότητες φωσφολιπιδίων και ακόρεστων λιπαρών οξέων στις κυτταρικές μεμβράνες σε σχέση με αμεταχειρίστη φρούτα (Lurie, 1998). Σε πολλές περιπτώσεις οι HSPs προστατεύουν από την τοξική δράση πολλών εξωγενών πολυπεπτιδίων που έχουν την τάση να συσσωρεύονται διασπώντας τα, ενώ προστατεύουν άλλες πρωτεΐνες διατηρώντας τη συνεκτικότητα των κυττάρων οπότε αποφεύγεται το καφέτιασμα από το chilling injury (Erkan *et al.*, 2005; Pavoncello *et al.*, 2001).

### 1.5.2. Επίδραση θέρμανσης στη φυσιολογία των καρπών

Τα μήλα που θερμαίνονται συχνά μαλακώνουν πιο αργά σε σχέση με τα αμεταχειρίστη μήλα (Spadaro *et al.*, 2004). Η αυξημένη σκληρότητα των μήλων που μεταχειρίστηκαν με

θερμό νερό μπορεί να ερμηνευτεί λόγω του επανακρυσταλλισμού ή του λιώσιματος του στρώματος των κηρών που δημιουργεί ένα αεροστεγές και συμπαγές στρώμα που καλύπτει τα κατεστραμμένα τμήματα του φλοιού των μήλων. Εναλλακτικά, η θέρμανση των μήλων οδηγεί στην αυξημένη σύνθεση κηρών που επικαλύπτουν τα κατεστραμμένα τμήματα του φλοιού και τα προστατεύει από οξείδωση. Πέρα από τη συμβολή των κηρών, έχει παρατηρηθεί ότι αναστέλλεται η σύνθεση κυτταροϋδρολυτικών ενζύμων και μειώνεται η παραγωγή αιθυλενίου. Η θέρμανση οδηγεί σε ένα επιταχυνόμενο αποπρασινισμό των μήλων.

### 1.5.3. Παραδείγματα εφαρμογής θερμού νερού - αποτελεσματικότητα

Μήλα ποικ. Golden Delicious που εμβαπτίστηκαν σε θερμό νερό 55° C για 15 s και βουρτσίστηκαν μείωσαν την πιθανότητα προσβολής από *Penicillium expansum* μετά από έκθεση για 10 ημέρες σε θερμοκρασία 20° C. Εγκαύματα στη φλούδα των μήλων της ποικιλίας παρατηρηθήκαν σε θερμοκρασία 60° C και 65° C για 15 s (Fallik *et al.*, 2001). Πορτοκάλια ποικ. Valencia που μεταχειρίστηκαν με θερμό νερό 53°C για 3 min προστατεύτηκαν από το Chilling Injury μετά από παραμονή για 6 μήνες στους 4° C (Erkan *et al.*, 2005). Σε πείραμα με μήλα ποικ. Granny Smith με HWT σε θερμοκρασίες 42, 44, 46, 48°C για 3 min παρατηρήθηκε ότι: η ωρίμανση των φρούτων ήταν καθοριστικός παράγοντας στην ανάπτυξη, την ένταση του Scald και της ευαισθησίας στην επίδραση της θερμότητας. Η αποτελεσματικότερη θέρμανση ήταν αυτή των 48° C, ενώ στους 50° C για 1 min και 55° C για 30 s ήταν αποτελεσματική κατά του Scald με μεγάλο κίνδυνο εγκαύματος (Jemric *et al.*, 2006).

### 1.5.4. Άλλες τεχνικές με θερμότητα

Η περιοδική θέρμανση-ψύξη των μήλων στην συντήρηση έχει παρατηρηθεί ότι συντελεί στη μείωση του Scald (Delong *et al.*, 2004). Οι Alwan *et al.* (1999) αναφέρουν ότι η περιοδική θέρμανση των μήλων για 24h στους 20° C κάθε εβδομάδα και για 16 εβδομάδες μείωσε το Scald 85%. Η αρχική παραμονή των μήλων για 60 ημέρες στους 5° C και έπειτα εναλλαγή στους -0,5° C και 0° C ανά 20 ημέρες για περίοδο 60 ημερών σε μήλα μείωσε σημαντικά την ένταση του Scald (30%) με πιθανότερο αίτιο την αύξηση του επιπέδου των αντιοξειδωτικών (Vasilakakis και Thomai, Δ.Α.). Η ενδιάμεση και περιοδική θέρμανση εικάζεται ότι επιτρέπει στον καρπό να απομακρύνει τα τοξικά συστατικά που συνδέονται με το Scald ή να παρεμποδίσει την παραγωγή τους. Αν και ο μηχανισμός της αποτοξικοποίησης δεν είναι γνωστός, αυτός μπορεί να συμβαίνει διαμέσω μεταβολικών διεργασιών ή με εξαιρεισμό των ουσιών αυτών, με αύξηση της περατότητας των ιστών της φλούδας σε αέρια και τη μείωση του

πάχους της, στην αύξηση της συγκέντρωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων και των αντιοξειδωτικών συστατικών των φρούτων.

#### **1.5.5. Συνδυασμένη χρήση θερμότητας και φυτοπροστατευτικών προϊόντων.**

Οι καταναλωτές απαιτούν φυτικά προϊόντα με λίγα ή χωρίς χημικά υπολείμματα Φ.Π., ενώ παράλληλα αυξάνονται τα είδη των παρασίτων που είναι ανθεκτικά στις συνιστώμενες δόσεις Φ.Π. Από την άλλη η έγκριση και η χρήση νέων Φ.Π. γίνεται ολοένα και αυστηρότερη λόγω δυσμενών επιδράσεων των Φ.Π. στην υγεία του καταναλωτή και το περιβάλλον. Για τους παραπάνω λόγους θα πρέπει να εφαρμοστούν πιο φιλικές προς το περιβάλλον και τον καταναλωτή μέθοδοι αντιμετώπισης των φυτοπροστατευτικών προβλημάτων, οπότε θα αυξηθεί και η εμπιστοσύνη του καταναλωτή για την κατανάλωση και χρήση φυτικών προϊόντων. Πολλές εναλλακτικές μέθοδοι αντιμετώπισης των παρασιτοειδών στα φυτικά προϊόντα φαίνονται υποσχέσιμες αλλά καμία δεν είναι τόσο αποτελεσματική όσο η χρήση Φ.Π.. Οπότε θα πρέπει να υπάρξει ο απαραίτητος συνδυασμός ώστε να αυξηθεί η αποτελεσματικότητα των μεταχειρίσεων.

Η χρήση θερμότητας είναι μια υποσχόμενη και αποτελεσματική μέθοδος αντιμετώπισης πολλών φυτοπροστατευτικών προβλημάτων αλλά η χρήση της περιορίζεται από την ευαισθησία των καρπών στο Η.Ι.. Έρευνες έχουν δείξει ότι η διάχυση και η διεισδυτική ικανότητα των οργανικών χημικών ουσιών σε φύλλα και φρούτα αυξάνεται δραματικά με την αύξηση της θερμοκρασίας στο διάλυμα εφαρμογής και η αποτελεσματικότητα θα είναι μεγαλύτερη στις υψηλές θερμοκρασίες (Conway *et al.*, 2004). Η αύξηση της αποτελεσματικότητας της εφαρμογής HWT με Φ.Π. μπορεί να οφείλεται στην καλύτερη διανομή και διεισδυτικότητα στα φρούτα των δραστικών ουσιών λόγω της αυξημένης τους ικανότητας να μετακινούνται ταχύτερα από το επιδερμικό στρώμα των κηρών (Schirra *et al.*, 1997). Έχει βρεθεί ότι υψηλότερη θερμοκρασία στο διάλυμα εμβάπτισης αυξάνει τη συγκέντρωση υπολειμμάτων DPA. Όταν η θερμοκρασία καρπών κυμάνθηκε από 13° C μέχρι 22° C δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στις συγκεντρώσεις υπολειμμάτων, τα υπολείμματα όμως βρέθηκαν σε μικρότερη συγκέντρωση όταν η θερμοκρασία των εμβαπτιζόμενων καρπών ήταν 4° C (Lee *et al.*, 1984).

Ο συνδυασμός θερμότητας με ΦΠ α) αυξάνει την αποτελεσματικότητα της δραστικής ουσίας β) μειώνει τις ποσότητες των χημικών ουσιών που χρησιμοποιούνται σε σχέση με την εμπορική εφαρμογή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος γ) επιτυγχάνεται θετική συνεργηστική δράση αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα της μεταχείρισης δ) Η χρήση θερμότητας αυξάνει την αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών ενζυμικών συστημάτων και την αντοχή στο

κρύο (Lurie, 1998; Schirra *et al.*, 2002). Αλλά η χρήση των Φ.Π. συνήθως δεν μπορεί να αντικατασταθεί πλήρως από εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων αντιμετώπισης των φυτοπροστατευτικών προβλημάτων (D'Aquino *et al.*, 2006).

#### **1.5.6. Παραδείγματα συνδυασμού μεταχειρίσεων με θερμό νερό και φυτοπροστατευτικών προϊόντων.**

Οι Cabras *et al.* (1999) χρησιμοποίησαν θερμό υδατικό διάλυμα imazalil και thiabendazole με μειωμένες δόσεις κατά 4 φορές για τον έλεγχο των μετασυλλεκτικών μυκητολογικών ασθενειών των εσπεριδοειδών. Σε έλεγχο επιπέδου υπολείμμάτων που έγινε μετά την εφαρμογή διαπίστωσαν ότι η συγκέντρωση του imazalil και thiabendazole ήταν 8 και 2,5 φορές, αντίστοιχα, υψηλότερη σε σχέση με διάλυμα της κανονικής συγκέντρωσης των ουσιών σε θερμοκρασία 20° C. Η χρήση 100 mg L<sup>-1</sup> pyrimethanil σε πορτοκάλια με θερμό νερό παρατηρήθηκε αύξηση στα υπολείμματα 13-19 φορές σε σχέση με τα υπολείμματα που είχε η δόση των 400 mg L<sup>-1</sup> της ίδιας ουσίας σε θερμοκρασία 20°C, ενώ και οι 2 μεταχειρίσεις ήταν εξίσου αποτελεσματικές στην αντιμετώπιση των μετασυλλεκτικών ασθενειών (D'Aquino *et al.*, 2006). Η εξωτερική εμφάνιση των φραγκόσυκων [*Opuntia ficus-indica* MiLLer (L.)] ήταν καλύτερη στα φρούτα που μεταχειρίστηκαν με θερμό νερό με μειωμένη δόση thiabendazole στους 52°C για 1 min (Pavoncello *et al.*, 2001).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

# ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η εργασία οργανώθηκε σε δύο ξεχωριστά πειράματα από τα οποία το πρώτο πραγματοποιήθηκε με μήλα ποικιλίας Starking Delicious Ζαγοράς Πηλίου στις εγκαταστάσεις του Αγροτικού Συνεταιρισμού Ζαγοράς και το δεύτερο με μήλα ποικιλίας Granny Smith Αγιάς Λαρίσης στις εγκαταστάσεις των Ψυγείων Παπαστεργίου Α.Ε. στην Αγιά.

Η μετασυλλεκτική μεταχείριση των μήλων στα πλαίσια των δύο πειραματικών περιελάμβανε μεταχειρίσεις μήλων, (που είχαν συλλεγεί και περάσει από διαλογητήριο την προηγούμενη μέρα),

- με διαβροχή με διάλυμα διφαινυλαμίνης στο drencher (Drencher-DPA),
- με εμβάπτιση σε θερμό νερό (Hot Water Treatment, HWT)
- με εμβάπτιση σε θερμό νερό που περιείχε διφαινυλαμίνη σε συγκέντρωση ίση με το 1/3 αυτής του διαλύματος διαβροχής του drencher (HWT1/3DPA)
- με καμία επεξεργασία (μάρτυρας) και
- με υποκαπνισμό στους θαλάμους συντήρησης με διφαινυλαμίνη (Fogging-DPA), μόνο για το πείραμα που πραγματοποιήθηκε στα ψυγεία της Ζαγοράς.

Σε κάθε μεταχείριση χρησιμοποιήθηκαν 520-530 μήλα. Μετά το τέλος της εφαρμογής των μετασυλλεκτικών μεταχειρίσεων του πειράματος, τα μήλα όλων των μεταχειρίσεων τοποθετήθηκαν σε ψυγεία με συμβατική ψύξη στους  $0\pm 1^{\circ}\text{C}$  με σχετική υγρασία θαλάμου 90-95%, εκτός από τα μήλα της μεταχείρισης Fogging-DPA που παρέμειναν στο θάλαμο που έγινε η αντίστοιχη μεταχείριση. Οι μεταχειρίσεις των πειραματικών πραγματοποιήθηκαν στις 9/10/2006 στις εγκαταστάσεις του Αγροτικού Συνεταιρισμού Ζαγοράς και στις 1/11/06 στην Αγιά Λαρίσης.

Τα υπολείμματα και η ποιότητα των μήλων κάθε μεταχείρισης εκτιμήθηκαν περιοδικά για διάστημα περίπου πέντε μηνών.

### 2.2. ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ

Μεταχείριση Μάρτυρας. Τα μήλα χωρίς καμία επεξεργασία τοποθετήθηκαν στο ψυγείο.

Μεταχείριση HWT. Τα μήλα εμβαπτίστηκαν σε θερμό νερό θερμοκρασίας  $48^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  για 3 min σε υδατόλουτρο.

Μεταχείριση Drencher-DPA. Στον Αγροτικό Συνεταιρισμό της Ζαγοράς χρησιμοποιήθηκε το σκεύασμα NO SCALD DPA 31,8 EC της ΑΛΦΑ ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΕΦΟΔΙΑ Α.Ε.Β.Ε σε δόση 4,5 L σκευάσματος σε 1000 L νερό που αντιστοιχεί σε συγκέντρωση 1431 mg δ.ο. / L. Τα μήλα στο drencher διαβρέχτηκαν για 30 sec (Εικ. 2.1).

Στα Drenchers των ψυγείων Παπαστεργίου Α.Ε. χρησιμοποιήθηκε το σκεύασμα Xedamine 20 EC της PREPAC Α.Ε.Β.Ε σε δόση 10 L σκευάσματος σε 1000 L νερό που αντιστοιχεί σε συγκέντρωση 2000 mg δ.ο / L. Ο χρόνος διαβροχής ήταν 30 sec (Εικ. 2.2).



**Εικόνα 2.1.** Σκευάσματα DPA FruitFog και NO SCALD DPA που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό στη Ζαγορά.

Μεταχείριση HWT1/3DPA. Τα μήλα εμβαπτίστηκαν σε θερμό υδατικό διάλυμα ( $48^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) που περιείχε το ανάλογο σκεύασμα διφαινυλαμίνης στο 1/3 της δόσης που χρησιμοποιείται στο Drencher (477 mg DPA / L για τα μήλα Starking Delicious Ζαγοράς και 667 mg DPA / L για τα μήλα Granny Smith Αγιάς). Ο χρόνος εμβάπτισης και στις δύο περιπτώσεις ήταν 3 min.

Μεταχείριση Fogging-DPA. Ο υποκαπνισμός των θαλάμων με διφαινυλαμίνη έγινε με καπνογόνα των 600 g τύπου FruitFog-DPA με περιεκτικότητα 25% σε DPA της FOMESA, Espania σε θάλαμο χωρητικότητας 50 τόνων (τοποθετήθηκαν 6 καπνογόνα, οπότε στο θάλαμο απελευθερώθηκαν 900g DPA).





**Εικόνα 2.2.** Παλέτα με μήλα που περνά από Drencher στην Αγιά.

### 2.3. Δειγματοληψία

Οι ημερομηνίες δειγματοληψίας, οι αντίστοιχες ημέρες που παρέμειναν τα μήλα στην ψυχοσυντήρηση, οι αντίστοιχες ημέρες δηλαδή από την έναρξη του πειράματος (επεξεργασία των μήλων με εφαρμογή των μεταχειρίσεων) καθώς και οι έλεγχοι που έγιναν φαίνονται στον παρακάτω πίνακα ( Πίν. 2.1).

Αμέσως μετά την εφαρμογή των μεταχειρίσεων (0 HAE) αλλά και σε κάθε δειγματοληψία κατά την έξοδο από τα ψυγεία επιλέγονταν τυχαία 24 καρποί (4 επαναλήψεις των 6 καρπών) από κάθε μεταχείριση για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων με ιδιαίτερη προσοχή για να μην υπάρξουν επιμολύνσεις μεταξύ των μήλων των διαφόρων μεταχειρίσεων και τοποθετούνταν σε σακούλα με τα διακριτικά της κάθε μεταχείρισης.

Για τον έλεγχο της ποιότητας των μήλων των μεταχειρίσεων και των δυο ποικιλιών επιλέγονταν τυχαία 25 καρποί από τις κλούβες της κάθε μεταχείρισης, ενώ για την εκτίμηση της έντασης του Scald εξετάζονταν 100 καρποί από κάθε μεταχείριση και στις δυο ποικιλίες μήλων.

### 2.4. Έλεγχος ποιότητας μήλων

Ο έλεγχος της ποιότητας των μήλων πραγματοποιούνταν άμεσα μετά τη δειγματοληψία από τα ψυγεία όταν τα μήλα των μεταχειρίσεων είχαν αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου. Για τις μετρήσεις ποιότητας τα μήλα κάθε δειγματοληψίας χωρίζονταν σε 5 επαναλήψεις των 5 μήλων ανά μεταχείριση. Σε κάθε επανάληψη εξετάστηκαν: το χρώμα φλοιού, η σκληρότητα

σάρκας, η περιεκτικότητα του χυμού σε διαλυτά στερεά συστατικά, η ενεργός οξύτητα (pH) και η ολική οξύτητα αυτού. Το κάθε μήλο της επανάληψης κόβονταν σε 4 κομμάτια και το ένα από αυτά χρησιμοποιούνταν για χυμοποίηση. Η χυμοποίηση των μήλων έγινε σε αποχυωτή τύπου Mullinex.

**Πίνακας 2.1.** Συγκεντρωτικός πίνακας με τις ημερομηνίες των μετρήσεων και εκτιμήσεων που πραγματοποιήθηκαν στα μήλα των δύο πειραματικών (Ζαγοράς και Αγιάς). **SL**, ζωή στο ράφι, δηλ. παραμονή σε θερμοκρασία και υγρασία δωματίου.

Περιοχή	Ημερομηνία	Ημέρες στην ψυχοσυντήρηση	Προσδιορισμός Υπολειμμάτων DPA	Έλεγχος ποιότητας μήλων	Εκτίμηση έντασης Scald
Ζαγορά	9/10/06	0	✓	✓	
Ζαγορά	30/10/06	20	✓		
Ζαγορά	20/11/06	40	✓	✓	
Ζαγορά	11/12/06	60	✓	✓	✓
Ζαγορά	15/12/06	60+4dSL	✓	✓	✓
Ζαγορά	10/1/07	90	✓	✓	✓
Ζαγορά	14/1/07	90+4dSL	✓	✓	✓
Ζαγορά	6/3/07	145	✓	✓	✓
Ζαγορά	10/3/07	145+4dSL	✓	✓	✓
Αγιά	1/11/06	0	✓	✓	
Αγιά	21/11/06	20	✓	✓	
Αγιά	12/12/06	40	✓	✓	
Αγιά	2/1/07	60	✓	✓	
Αγιά	23/1/07	80	✓	✓	✓
Αγιά	27/1/07	80+4dSL	✓	✓	✓
Αγιά	2/3/07	120	✓	✓	
Αγιά	17/4/07	165	✓	✓	✓
Αγιά	21/4/07	165+4dSL	✓	✓	✓

#### 2.4.1. Μέτρηση χρώματος

Το χρώμα του φλοιού μετρήθηκε με χρωματόμετρο Hunter Lab (XE Plus Model 45/0-L, Hunder, VA) μετά από βαθμονόμησή του με άσπρη και μαύρη πλάκα. Ελήφθησαν δύο μετρήσεις γύρω από τον ισημερινό κάθε καρπού και καταγράφηκε ο μέσος όρος από κάθε επανάληψη (10 τιμές). Από τις παραμέτρους L\*, a\*, b\* που καταγράφηκαν οι a\* και b\*

χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των χρωματικών παραμέτρων  $C^*$  και  $h^\circ$  (McGuire, 1992).

Το  $L$ , έχει κλίμακα από το 0-100, όπου με  $L=0$  είναι το μαύρο και  $L=100$  το άσπρο. Όσο πιο μεγάλο είναι το  $L^*$  τόσο πιο φωτεινού χρώματος είναι ο καρπός (λιγότερο κόκκινος ή πράσινος). Τα  $a^*$  και  $b^*$  είναι συνισταμένες που τοποθετούν το χρώμα σε ένα νοητό οριζόντιο άξονα κάθετο στο  $L^*$ . Το άχρωμο ορίζεται από τις συντεταγμένες (0, 0) για το  $a^*$  και το  $b^*$ , αντίστοιχα. Όταν το  $a^*$  είναι θετικό, όσο υψηλότερη τιμή λαμβάνει τόσο πιο κόκκινος είναι ο καρπός, ενώ όταν είναι αρνητικό, όσο χαμηλότερη είναι η τιμή του τόσο πιο πράσινος. Όταν το  $b^*$  είναι θετικό όσο υψηλότερη είναι η τιμή του τόσο πιο κίτρινος είναι ο καρπός, ενώ όταν είναι αρνητικό όσο χαμηλότερη τιμή λαμβάνει τόσο πιο μπλε χρώματος είναι ο καρπός. Το μετρήσιμο χρώμα  $C$  δίνεται από τον τύπο  $C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ . Γενικά όσο υψηλότερες τιμές παίρνει το  $C$  τόσο πιο καθαρό χρώμα (απομακρύνεται από το γκρι) έχει ο καρπός. Το  $h^\circ$  είναι η απόχρωση (*hue*) που δίνεται από παραλλαγές της σχέσης  $\text{atan}(b^*/a^*)$ , όπου  $h^\circ=0^\circ$  εκφράζει το κόκκινο,  $h^\circ=90^\circ$  εκφράζει το κίτρινο,  $h^\circ=180^\circ$  εκφράζει το πράσινο και  $h^\circ=270^\circ$  εκφράζει το μπλε. Σε συνδυασμό το  $C$  και το  $h^\circ$  δίνουν το ακριβές, πραγματικό χρώμα, ιδιαίτερα για έγχρωμους καρπούς όπως τα κόκκινα μήλα.

#### 2.4.2. Σκληρότητα σάρκας

Η σκληρότητα της σάρκας μετρήθηκε με πιεσόμετρο τύπου Magness-Taylor που αποτελείται από ένα δυναμόμετρο που φέρει έμβολο σε σχήμα κυλίνδρου με διάμετρο 11mm.

#### 2.4.3. ΔΣΣ

Τα σάκχαρα αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των ΔΣΣ στο χυμό του καρπού. Για τη μέτρηση των ΔΣΣ χρησιμοποιήθηκε φορητό σακχαροδιαθλασίμετρο τύπου Atago.

#### 2.4.4. Ενεργός οξύτητα

Η ενεργός οξύτητα (pH) μετρήθηκε στο χυμό των καρπών με πεχάμετρο Hanna Hi 9024.

#### 2.4.5. Ολική οξύτητα

Η ολική οξύτητα μετρήθηκε με τιτλοδότηση 10 ml χυμού αραιωμένου σε ισόποση ποσότητα νερού με διάλυμα 0,1N NaOH και εξουδετέρωσης των οξέων μέχρι pH=8,2. Η ολική οξύτητα εκφράστηκε σε περιεκτικότητα (%) σε μηλικό οξύ.

#### 2.4.6. Δείκτης ωρίμανσης

Ο δείκτης ωρίμανσης των μήλων υπολογίστηκε από το λόγο της περιεκτικότητας σε ΔΣΣ προς την ολική οξύτητα του χυμού. Ο δείκτης ωρίμανσης αναφέρεται σε πολλά συγγράμματα και ως γευστικότητα.

### 2.4.7. Ένταση Scald

Κατά την εκτίμηση του Scald ακολουθήθηκε η παρακάτω κλίμακα: 0, δεν εμφανίστηκε Scald, 1, 0-25% της επιφάνειας του καρπού ήταν καφέ, 2, 25-50 % της επιφάνειας του καρπού ήταν καφέ, 3, 50-75 % της επιφάνειας του καρπού ήταν καφέ και 4, >75 % της επιφάνειας του καρπού ήταν καφέ. Επίσης υπολογίστηκαν το % των καρπών με Scald και το % καρπών με ένταση Scald άνω του 1, δηλ. με έντονο καφέτισμα (Εικ. 2.3).

**Εικόνα. 2.3.** Κλίμακα 0-4 του Scald για μήλα Granny Smith.



### 2.4.8. Άλλες παρατηρήσεις

Παράλληλα μελετήθηκαν το ποσοστό των καρπών που είχε έγκαυμα λόγω της εμβάπτισης των μήλων σε HWT καθώς και το ποσοστό των καρπών με «Πικρή Κηλίδωση»

## 2.5 Έλεγχος υπολειμμάτων DPA στα μήλα

### 2.5.1. Χημικές ουσίες (διαλύτες και αναλυτικά πρότυπα)

Κυκλοεξάνιο και ακετόνη τύπου *Pesticide residue analysis*

Διφαινυλαμίνη ( DPA), αναλυτικό πρότυπο καθαρότητας 99,7%

Μητρικό πρότυπο διάλυμα διφαινυλαμίνης (DPA) σε ακετόνη συγκέντρωσης 1050 µg/ml.

Διάλυμα εργασίας DPA σε ακετόνη συγκέντρωσης 50 µg/ml, το οποίο παρασκευάστηκε από το μητρικό πρότυπο διάλυμα με κατάλληλη αραιώση.

Πρότυπα διαλύματα βαθμονόμησης: Από το διάλυμα εργασίας παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα DPA συγκεντρώσεων 0,1 - 0,2 - 0,5 – 1 – 2, -4, -5 και 8 µg/ml σε κυκλοεξάνιο και σε εκχύλισμα υποστρώματος μήλων που προέρχονταν από δείγματα μάρτυρα, τα οποία αναλύθηκαν εις διπλούν για να ελεγχθεί η απουσία παρεμποδίσεων στην υπό μελέτη ουσία.

### 2.5.2 Προετοιμασία των δειγμάτων για εκτίμηση υπολειμμάτων

Από τα μήλα κάθε επανάληψης προέκυπταν δύο αναλυτικά δείγματα, ένα που αντιστοιχούσε στον συνολικό ιστό του μήλου και ένα που αντιστοιχούσε σε καθαρισμένα (αποφλοιωμένα) μήλα. Κάθε μήλο κόβονταν σε 4 τεταρτημόρια, τα 2 αντιδιαμετρικά τεταρτημόρια ξεφλουδίζονταν σε πάχος 1 mm, ενώ τα άλλα 2 παρέμειναν ανέπαφα. Αφού ολοκληρώνονταν η διαδικασία της κοπής και ξεφλούδισματος των μήλων κάθε επανάληψης, το κάθε δείγμα ξεχωριστά, ομογενοποιούνταν σε οικιακό ομογενοποιητή (blender). Μέρος του ομογενοποιημένου δείγματος (100-150g) μεταφέρονταν σε καθαρό αεροστεγώς σφραγιζόμενο σακουλάκι και αποτελούσε το αναλυτικό δείγμα, ενώ στο σακουλάκι αναγράφονταν η μεταχείριση, επανάληψη, ημερομηνία, περιοχή δειγματοληψίας, αριθμός δειγματοληψίας και ένας κωδικός ασφαλείας σε περίπτωση αλλοίωσης κάποιου από τα παραπάνω στοιχεία.

### 2.5.3. Εκχύλιση

Ποσότητα 10g ομογενοποιημένου ιστού μήλων ζυγίστηκε σε σωλήνα φυγοκέντρησης και εκχυλίστηκε με 10 ml κυκλοεξάνιο για 30 sec με ομογενοποιητή Ultra Turrax στις 8.000 στροφές / λεπτό. Το μίγμα φυγοκεντρήθηκε στις 4000 rpm για 5 min και μέρος από το υπερκείμενο εκχύλισμα οδηγήθηκε σε φιαλίδια χρωματογραφίας για να εγχυθεί στο χρωματογραφικό σύστημα.

### 2.5.4. Χρωματογραφική ανάλυση

Για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων διφαινυλαμίνης στον ιστό των μήλων χρησιμοποιήθηκε σύστημα αεριοχρωματογράφου τύπου Hewlett-Packard 6890 (Εικ. 2.5) εφοδιασμένου με ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου (NPD), αυτόματο εισαγωγέα (autosampler,) και τριχοειδή χρωματογραφική στήλη (30m x 0,25mm x 0,25μm) τύπου EC-5 με επικάλυψη 5% dimethyl και 95% dimethyl siloxane ως σταθερή φάση. Η καταγραφή και επεξεργασία του χρωματογραφικού σήματος έγινε σε H/Y με το πρόγραμμα Chem Station της Hewlett-Packard. Οι συνθήκες λειτουργίας του αεριοχρωματογράφου ήταν:

- ❖ Εισαγωγέας τύπου split-splitless, σε κατάσταση pulsed splitless (40 psi για 1,1 min)
- ❖ Θερμοκρασία εισαγωγέα 240°C
- ❖ Όγκος εκχυόμενου δείγματος 2 μL
- ❖ Φέρον αέριο Ήλιο (He) με ροή 1 ml/min.
- ❖ Θερμοκρασιακό πρόγραμμα χρωματογραφικού φούρνου :

Αρχική θερμοκρασία 70° C για 2 min, άνοδος με ρυθμό 12° C/min, μέχρι τους 220°C, άνοδος με ρυθμό 6° C/min μέχρι τους 250° C, άνοδος με ρυθμό 20° C/min μέχρι τους 280°C και διατήρηση στους 280°C για 10 min (συνολικός χρόνος ανάλυσης 36,5 min)

- ❖ Ανιχνευτής αζώτου-φωσφόρου (NPD) σε θερμοκρασία 320° C
- ❖ Αέρια ανιχνευτή: Αέρας 60 ml/min, Υδρογόνο (H<sub>2</sub>) 3 ml/min και Άζωτο (N<sub>2</sub>) για make up 5 ml/min.



**Εικόνα 2.5.** Χρωματογραφικό σύστημα GC

## 2.6. Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πακέτο SPSS (SPSS 12.0, Chicago, IL). Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη μέθοδο ανάλυσης της παραλλακτικότητας (ANOVA). Η κατηγοριοποίηση ανάλογα με τη σημαντικότητα έγινε με το στατιστικό test ομοιογένειας του Duncan<sub>0.05</sub> και με την Ελάχιστη Σημαντική Διαφορά (LSD). Συνήθως το ανεκτό πειραματικό σφάλμα, στα γεωργικά πειράματα είναι μέχρι 5% δηλαδή ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το 95% ( $p < 0.05$ ) εκτός των περιπτώσεων που αναφέρονται διαφορετικά επίπεδα σημαντικότητας.

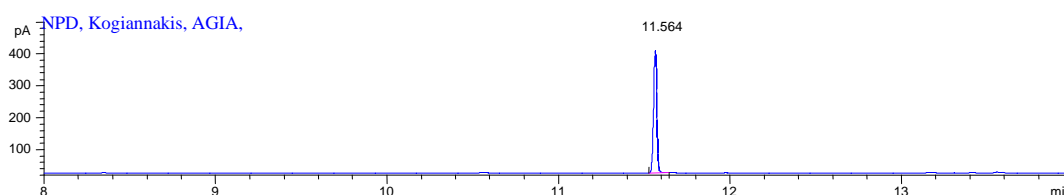
Στους πίνακες παρουσιάζονται και οι στατιστικές διαφορές εκφραζόμενες με NS, \*, \*\*, \*\*\*. Το NS δηλώνει ότι η παράμετρος αυτή του πειράματος στη συγκεκριμένη περίπτωση δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις παρατηρήσεις. Το \* συμβολίζει ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές για πιθανότητα σφάλματος μέχρι 5%, τα \*\* για πιθανότητα σφάλματος 1% και τα \*\*\* για πιθανότητα σφάλματος 1‰.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 3.1. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΦΑΙΝΥΛΑΜΙΝΗΣ

Η αναλυτική μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων διφαινυλαμίνης στα μήλα αξιολογήθηκε ως προς την ακρίβεια, την ορθότητά της αλλά και ως προς την εκλεκτικότητα, τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού και τα όρια ανίχνευσης της διφαινυλαμίνης στα μήλα. Η ταυτοποίηση της διφαινυλαμίνης (DPA) στα χρωματογραφήματα των εκχυλισμάτων των δειγμάτων μήλων όπως προέκυψαν από την ανάλυση στο αεροχρωματογραφικό σύστημα GC-NPD έγινε με βάση το χρόνο κατακράτησής της. Ο χρόνος κατακράτησης της DPA με τις εφαρμοζόμενες χρωματογραφικές συνθήκες είναι 11,56 min όπως φαίνεται στο παρακάτω χρωματογράφημα (Χρωμ. 3.1).



**Χρωμ. 3.1.** Χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος DPA σε σύστημα GC-NPD.

Η επαναληψιμότητα του χρόνου κατακράτησης για εκχύσεις προτύπων διαλυμάτων στη διάρκεια μιας εβδομάδας βρέθηκε να έχει σχετική τυπική απόκλιση  $< 0,28\%$ .

Τα δείγματα του μάρτυρα, όπως ήταν αναμενόμενο, δεν εμφάνισαν κορυφές στους χρόνους κατακράτησης της κορυφής της διφαινυλαμίνης και ως εκ τούτου δεν παρουσιάστηκε δυσκολία στην επεξεργασία των χρωματογραφημάτων.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης της διφαινυλαμίνης στα δείγματα έγινε με την τεχνική του εξωτερικού προτύπου με τη χρήση καμπύλης αναφοράς. Κατασκευάστηκαν οι καμπύλες αναφοράς για πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων από 0,10 έως 8,0  $\mu\text{g/ml}$  ( $n=8$ ) σε εκχύλιση υποστρώματος και μελετήθηκαν η γραμμικότητα του ανιχνευτή και η επίδραση του κάθε υποστρώματος.

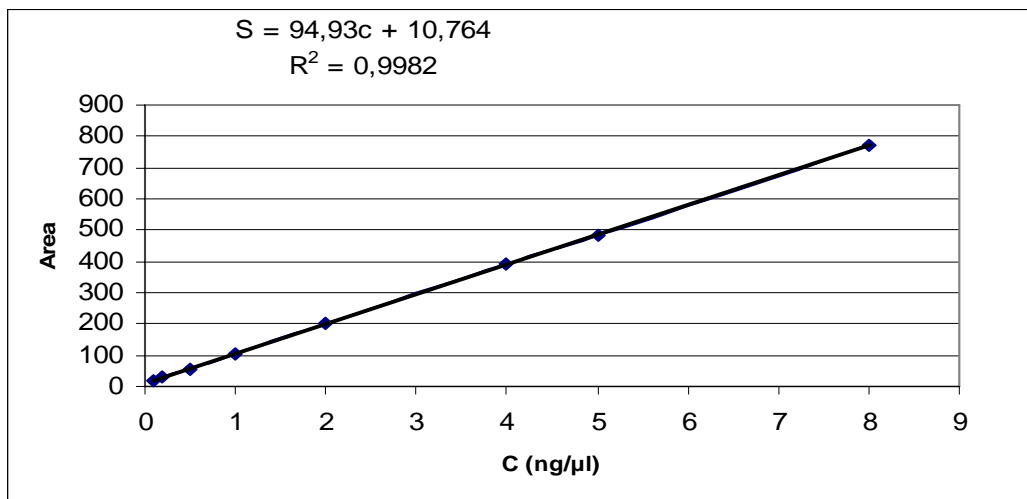
Κάθε καμπύλη αναφοράς περιγράφεται από την εξίσωση  $S=K_aC+K_b$

Όπου  $S$ : η επιφάνεια της κορυφής της ουσίας στο χρωματογράφημα

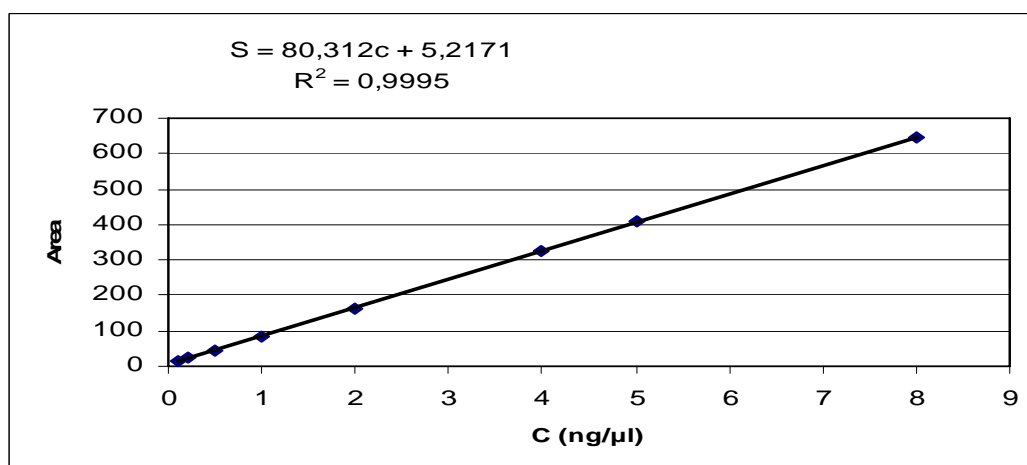
$C$ : η συγκέντρωση της ουσίας στο πρότυπο διάλυμα

$K_a, K_b$ : σταθερές

Στα Γράφ. 3.1 και 3.2 παρουσιάζονται οι καμπύλες αναφοράς (βαθμονόμησης) της διφαινυλαμίνης με χρήση προτύπων διαλυμάτων σε εκχύλισμα υποστρώματος και σε διαλύτη για το σύστημα GC-NPD. Επίσης, παρουσιάζονται και οι εξισώσεις συσχέτισης του χρωματογραφικού σήματος με την ενέσιμη συγκέντρωση καθώς και οι συντελεστές συσχέτισης  $R^2$  όπως προέκυψαν από την επεξεργασία των αποκλίσεων με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων.



**Γράφημα 3.1.** Καμπύλη αναφοράς του συστήματος GC-NPD για πρότυπα διαλύματα διφαινυλαμίνης σε εκχύλισμα υποστρώματος για μήλα ποικ. Granny Smith.



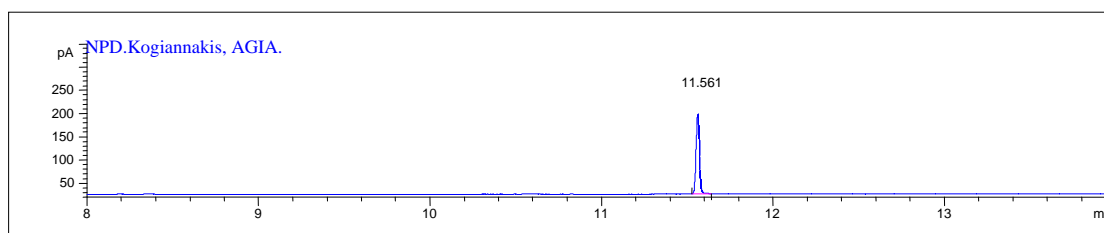
**Γράφημα 3.2.** Καμπύλη αναφοράς συστήματος GC-NPD για πρότυπα διαλύματα διφαινυλαμίνης για μήλα ποικ. Granny Smith χωρίς εκχύλισμα υποστρώματος.

Αν και παρατηρήθηκε μικρή διαφοροποίηση στην κλίση της καμπύλης αναφοράς των προτύπων διαλυμάτων σε κυκλοεξάνιο και σε εκχύλισμα υποστρώματος για την ποσοτική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα σε εκχύλισμα υποστρώματος.



Κάτω από καθορισμένες και σταθερές πειραματικές συνθήκες η επιφάνεια (εμβαδόν) των κορυφών των χρωματογραφημάτων είναι μέτρο ποσοτικοποίησης των αντίστοιχων συστατικών στο εξεταζόμενο δείγμα. Έτσι, η συγκέντρωση της DPA για κάθε αναλυτικό δείγμα υπολογίστηκε από την επιφάνεια των κορυφών των χρωματογραφημάτων χρησιμοποιώντας παράλληλα την καμπύλη αναφοράς. Οι συγκεντρώσεις της DPA στα μήλα εκφράστηκαν τελικά σε mg DPA / kg νωπού ιστού μήλων (w/w).

Η ορθότητα και η ανάκτηση αξιολογήθηκαν με πειράματα ανάκτησης μετά από τεχνητό εμβολιασμό υποστρώματος μήλου προερχόμενου από δείγμα μάρτυρα και για τις δύο ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος. Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν οι προαναφερόμενες τεχνικές εκχύλισης, χρωματογραφικής ανάλυσης και προσδιορισμού της συγκέντρωσης της διφαινυλαμίνης στα εμβολιασμένα δείγματα και υπολογίστηκε η ποσότητα της διφαινυλαμίνης που ανακτήθηκε σε σχέση με αυτή που εφαρμόστηκε με τον εμβολιασμό. Στο παρακάτω χρωματογράφημα (Χρωμ. 3.2) απεικονίζεται η φόρτιση του υποστρώματος μήλου σε επίπεδο φόρτισης 2 mg a.i./kg.



**Χρωματογράφημα 3.2.** Χρωματογράφημα από σύστημα GC-NPD σε επίπεδο φόρτισης 2 mg a.i./kg ιστού μήλων ποικ. Granny Smith.

Οι δοκιμές ανάκτησης έγιναν με πέντε επαναλήψεις και τα αποτελέσματα, δηλαδή η % ανάκτηση και η επαναληψιμότητα, η οποία εκφράζεται ως σχετική τυπική απόκλιση (ΣΤΑ) της μεθόδου, παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.1.

Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα, η ορθότητα της μεθόδου είναι ικανοποιητική, καθώς οι τιμές των ανακτήσεων (μέση τιμή πέντε επαναλήψεων) για την DPA είναι εντός της περιοχής 70-110% που θεωρείται αποδεκτή για αναλύσεις υπολειμμάτων, ενώ η ακρίβεια θεωρείται επίσης ικανοποιητική, καθώς η σχετική τυπική απόκλιση κυμάνθηκε από 2-9%.

Σαν **όριο ανίχνευσης** (Limit of Detection-LOD) της μεθόδου, με βάση ότι η σχέση σήματος προς θόρυβο ισούται με 5, θεωρήθηκαν τα 0,03 mg/kg για την DPA.

Σαν **όριο προσδιορισμού** (Limit of Quantification-LOQ) της μεθόδου, συντηρητικά υπολογιζόμενο με βάση τη σχέση  $LOQ = 3 \cdot LOD$ , θεωρήθηκαν τα 0,10 mg/kg για την DPA.

**Πίνακας 3.1.** Μέσες τιμές ανάκτησης (%) της διφαινυλαμίνης και τιμές σχετικής τυπικής απόκλισης (RSD) εμβολιασμένου ιστού μήλων ποικ. Starking Delicious και Granny Smith σε διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων για n=5.

Υπόστρωμα	Ανάκτηση % ± RSD			
	0.10 mg/kg	0.50 mg/kg	1.0 mg/kg	5.0 mg/kg
Μήλα π. Starking Delicious	78 ± 2	92 ± 9	104 ± 4	99 ± 5
Μήλα π. Granny Smith	84 ± 7	97 ± 5	96 ± 9	103 ± 7

### 3.2. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ DPA ΣΕ ΜΗΛΑ ΠΟΙΚ. STARKING DELICIOUS

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων στα δείγματα μήλων της ποικιλίας Starking Delicious, τα οποία υπέστησαν τις πειραματικές μεταχειρίσεις, ως προς το υπολειμματικό φορτίο σε διφαινυλαμίνη παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.2.

**Πίνακας 3.2.** Μέση τιμή συγκέντρωσης υπολειμμάτων διφαινυλαμίνης σε μήλα ποικ. Starking Delicious που μεταχειρίστηκαν με υποκαπνισμό (Fogging – DPA), με διαβροχή (Drencher – DPA) και με εμβάπτιση σε θερμό νερό με μειωμένη δόση DPA (HWT1/3DPA) σε διάφορα χρονικά διαστήματα ψυχοσυστήρησής τους (Ημέρες από τη μεταχείριση) καθώς και μετά την παραμονή τους στο ράφι (+ 4 dSL).

Μεταχείριση	Ημέρες από τη μεταχείριση	Συγκέντρωση DPA (mg/kg ± SD)	RSD (%)
<b>Fogging-DPA</b>	0	2,45±0,51	21,2
	20	1,41±0,25	18,4
	40	1,34±0,18	13,6
	60	1,32±0,12	9,6
	60+4dSL	0,86±0,07	8,2
	90	1,13±0,18	16,5
	90+4dSL	0,77±0,13	16,8
	145	0,38±0,08	21,6
	145+4dSL	0,31±0,05	17,6

<b>Drencher</b>	0	2,80±0,13	4,6
	20	2,66±0,42	16
	40	2,10±0,24	11,4
	60	2,04±0,36	17,7
	60+4dSL	1,59±0,23	14,6
	90	1,90±0,22	11,8
	90+4dSL	1,37±0,11	8
	145	1,51±0,23	15,4
	145+4dSL	1,14±0,18	16,5
<b>HWT1/3DPA</b>	0	4,57±0,76	16,5
	20	4,01±0,50	12,5
	40	3,68±0,50	13,7
	60	3,12±0,48	15,7
	60+4dSL	2,91±0,31	10,8
	90	2,15±0,15	7,2
	90+4dSL	1,88±0,12	6,4
	145	1,90±0,06	3,2
	145+4dSL	1,12±0,06	5,2
<u>Σημαντικότητα</u>			
Μεταχείριση		***	
Χρόνος		***	
Μεταχείριση * Χρόνος		***	
ΕΣΔ <sub>0,05</sub>		0,10	

Με αστερίσκο (\*) συμβολίζονται οι διαφορές της συγκέντρωσης της DPA στα μήλα της δειγματοληψίας των 60, 90 και 145 ημερών από την εφαρμογή του πειράματος μετά την παραμονή τους για 4 dSL. Το (-) στον ίδιο πίνακα συμβολίζει μείωση της συγκέντρωσης της DPA στα μήλα.

Την υψηλότερη συγκέντρωση διφαινυλαμίνης αμέσως μετά τις μετασυλλεκτικές μεταχειρίσεις (0 ημέρες) εμφάνισαν τα μήλα που εμβαπτίστηκαν σε θερμό νερό που περιείχε DPA στο 1/3 της δόσης που χρησιμοποιήθηκε στη διαβροχή των μήλων στο Drencher. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση DPA των μήλων της μεταχείρισης HWT1/3DPA αμέσως μετά τη μεταχείριση βρέθηκε να κυμαίνεται από 3,81 έως 5,33 mg/kg, τιμές περίπου 60% υψηλότερες από αυτές αυτά που μετρήθηκαν στα μήλα της μεταχείρισης Drencher-DPA (2,67 έως 2,93 mg/kg). Στην περίπτωση αυτή (αμέσως μετά τη μεταχείριση HWT1/3DPA) παρατηρήθηκαν τιμές υπολειμμάτων DPA υψηλότερες του Ανώτατου Επιτρεπτού Ορίου (MRL 5 mg/kg) για την DPA στα μήλα. Σε καμιά άλλη περίπτωση, καθόλη τη διάρκεια του

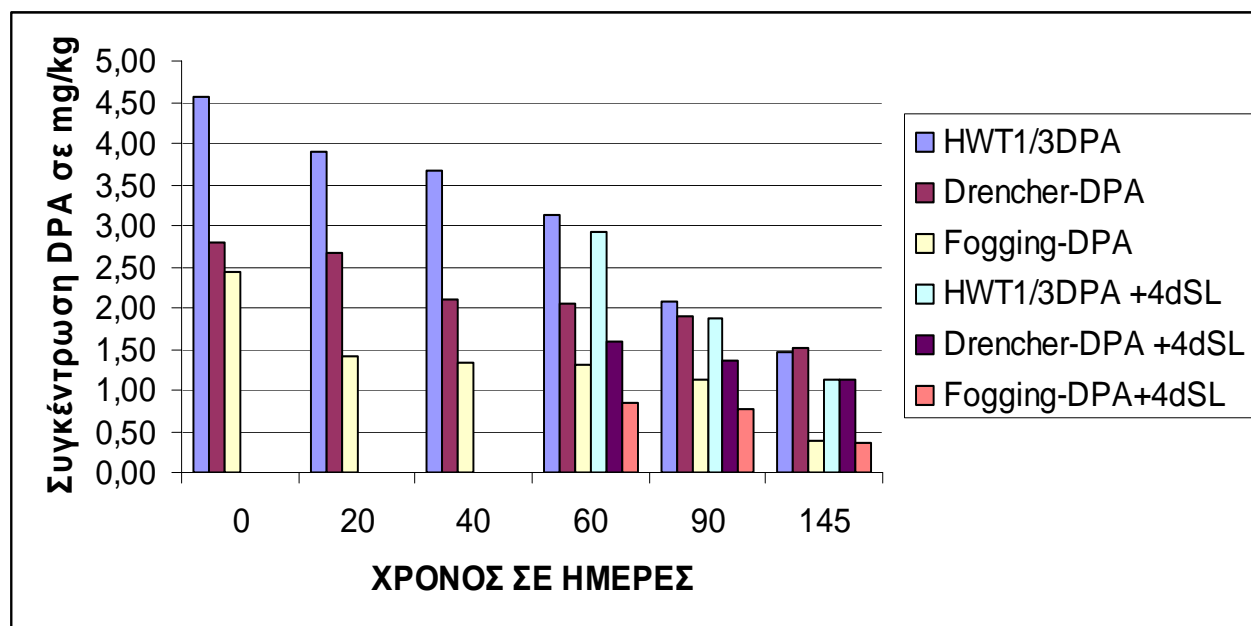
πειράματος, δεν μετρήθηκαν συγκεντρώσεις διφαινυλαμίνης στα δείγματα μήλων ποικ. Starking Delicious, που να υπερβαίνουν την τιμή των 5 mg/kg.

Σε όλες τις περιπτώσεις και σε όλες τις εξόδους από τη ψυχοσυντήρηση τα υπολείμματα DPA στα μήλα της μεταχείρισης Fogging-DPA βρέθηκαν να είναι τα χαμηλότερα, αυτά στα μήλα της μεταχείρισης HWT1/3DPA τα υψηλότερα, ενώ ενδιάμεσες τιμές παρατηρήθηκαν στα μήλα της μεταχείρισης Drencher-DPA (Πίν. 3.2, Γραφ. 3.3).

Στα μήλα που μεταχειρίστηκαν με Fogging-DPA αμέσως μετά την εφαρμογή της DPA με υποκαπνισμό στο θάλαμο συντήρησης βρέθηκαν συγκεντρώσεις διφαινυλαμίνης που κυμαίνονταν από 1,94 έως 2,96 mg/kg DPA. Στις πρώτες 20 ημέρες ψυχοσυντήρησης των μήλων στο ψυγείο, τα υπολείμματα της DPA στα μήλα της μεταχείρισης αυτής μειώθηκαν περίπου 70% (Πίν. 3.2), ενώ μετά από δύο μήνες ψυχοσυντήρησης, που είναι και το όριο πριν την εμπορία μήλων που υπέστησαν μετασυλλεκτικές μεταχειρίσεις με DPA, οι συγκεντρώσεις DPA στα μήλα κυμαίνονταν από 1,2 έως 1,44 mg/kg. Στην τελευταία δειγματοληψία (145 ημέρες από την εφαρμογή) η μέση τιμή υπολειμματικού φορτίου DPA στα μήλα βρέθηκε μόλις 0,38 mg/kg, σχεδόν 5,5 φορές χαμηλότερο σε σχέση με το αρχικό.

Οι αρχικές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων DPA στα μήλα της μεταχείρισης Drencher-DPA αμέσως μετά τη διαβροχή κυμαίνονταν από 2,67 έως 2,93 mg/kg. Μετά από παραμονή των μήλων στην ψυχοσυντήρηση για 60 ημέρες οι συγκεντρώσεις DPA στα μήλα της μεταχείρισης κυμαίνονταν από 1,68 έως 2,4 mg/kg, ενώ μείωση περίπου 30% παρατηρήθηκε μετά την τετραήμερη παραμονή τους στο ράφι (60+4dSL) (Πίν. 3.2, Γραφ. 3.3). Παρόμοια ποσοστά μείωσης του υπολειμματικού φορτίου της διφαινυλαμίνης στις περιπτώσεις τετραήμερης παραμονής των καρπών στο ράφι μετά την έξοδό τους από την ψυχοσυντήρηση, παρατηρήθηκε και μετά από 90 και 145 ημέρες ψυχοσυντήρησης. Σε καθαρισμένα (ξεφλουδισμένα) μήλα της μεταχείρισης αυτής (145 ημέρες) τα υπολείμματα DPA που μετρήθηκαν στο ιστό κυμαίνονταν από 0,18-0,34 mg/kg.

Οι αρχικές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων DPA στα μήλα της μεταχείρισης HWT1/3DPA αμέσως μετά τη εμβάπτιση κυμαίνονταν από 3,81 έως 5,33 mg/kg. Μετά από παραμονή των μήλων στην ψυχοσυντήρηση για 60 ημέρες οι συγκεντρώσεις DPA στα μήλα της μεταχείρισης κυμαίνονταν από 2,64 έως 3,60 ενώ μείωση περίπου 7 % παρατηρήθηκε μετά την τετραήμερη παραμονή τους στο ράφι (60+4dSL) (Πίν. 3.2, Γραφ. 3.3). Σε καθαρισμένα (ξεφλουδισμένα) μήλα της μεταχείρισης αυτής (145 ημέρες) τα υπολείμματα DPA που μετρήθηκαν στον ιστό κυμαίνονταν από 0,17-0,40 mg/kg.



**Γράφημα 3.3.** Υποβάθμιση των υπολειμμάτων DPA στις μεταχειρίσεις των μήλων ποικ. Starking Delicious (Fogging, Drencher-DPA και HWT1/3DPA) με το χρόνο παραμονής τους στην ψυχοσυντήρηση και με το χρόνο παραμονής τους στο ράφι (+4dSL). ΕΣΔ=0,1

Στα μήλα του μάρτυρα δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα DPA (Πίν. 3.3), εκτός από δύο περιπτώσεις (σε 40 και 60 ημέρες ψυχοσυντήρησης), όπου παρατηρήθηκαν πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, που κυμαίνονταν από <math><0,10</math> έως <math>0,25</math> mg/kg, και οι οποίες αποδίδονται σε αδέξιους χειρισμούς (επιμολύνσεις) των μήλων της μεταχείρισης από τη δειγματοληψία στο ψυγείο μέχρι και την χρωματογραφική ανάλυση. Στα ξεφλουδισμένα δείγματα καρπών του μάρτυρα δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα DPA.

**Πίνακας 3.3.** Μέση τιμή συγκέντρωσης υπολειμμάτων διφαινυλαμίνης σε μήλα ποικ. Starking Delicious των μεταχειρίσεων του μάρτυρα και της εμβάπτισης σε θερμό νερό (HWT) σε διάφορα χρονικά διαστήματα ψυχοσυντήρησής τους.

Μεταχείριση	Ημέρες από τη μεταχείριση	Συγκέντρωση DPA mg/kg $\pm$ SD	RSD (%)
Μάρτυρας	0	Μ Π	
	20	Μ Π	
	40	0,15 $\pm$ 0,05	33,1
	60	0,18 $\pm$ 0,07	37,3
	90	Μ Π	
	145	Μ Π	

HWT	0	Μ Π	
	20	1,24±0,35	27,9
	40	0,86±0,05	6,4
	60	0,74±0,22	30,4
	90	0,56±0,15	23,9
	145	0,22±0,08	20,2

Μ Π= Μη προσδιορίσιμα υπολείμματα

Στα μήλα της μεταχείρισης με θερμό νερό (HWT) αρχικά δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα DPA, ενώ παρουσίασαν υπολειμματικό φορτίο DPA σε όλες τις εξόδους από το ψυγείο αν και δεν μεταχειρίστηκαν με την ουσία αυτή (Πίν. 3.3). Το γεγονός ότι υπολείμματα DPA ανιχνεύθηκαν σε όλα τα δείγματα και σε όλες τις εξόδους απορρίπτει το ενδεχόμενο επιμολύνσεων στα διάφορα στάδια της δειγματοληψίας στο ψυγείο και της επεξεργασίας των δειγμάτων στο εργαστήριο. Το πιθανότερο είναι ότι, τα υπολείμματα DPA προέρχονται από το απόθεμα DPA που βρίσκονταν στον ψυκτικό θάλαμο, ο οποίος ήταν ο θάλαμος στον οποίο πραγματοποιήθηκε η διαδικασία του υποκαπνισμού, μιας και 2 εβδομάδες μετά από την πραγματοποίηση των πειραματικών μεταχειρίσεων όλα τα μήλα των πειραματικών μεταχειρίσεων μεταφέρθηκαν στο θάλαμο αυτό για να βρίσκονται υπό τις ίδιες συνθήκες ψυχοσυντήρησης. Το γεγονός ότι τα μήλα του μάρτυρα δεν παρουσίασαν υπολειμματικό φορτίο DPA ενισχύει την άποψη ότι με τη μεταχείριση HWT διαλυτοποιήθηκαν οι κηροί του φλοιού των μήλων και άλλαξαν μορφή ή μερικώς απομακρύνθηκαν, ώστε η DPA από την ατμόσφαιρα του θαλάμου διείσδυσε στα επιδερμικά κύτταρα του φλοιού των καρπών πιο εύκολα. Στα ξεφλουδισμένα δείγματα καρπών της μεταχείρισης HWT δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα DPA.

### 3.3. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ DPA ΣΕ ΜΗΛΑ ΠΟΙΚ. GRANNY SMITH

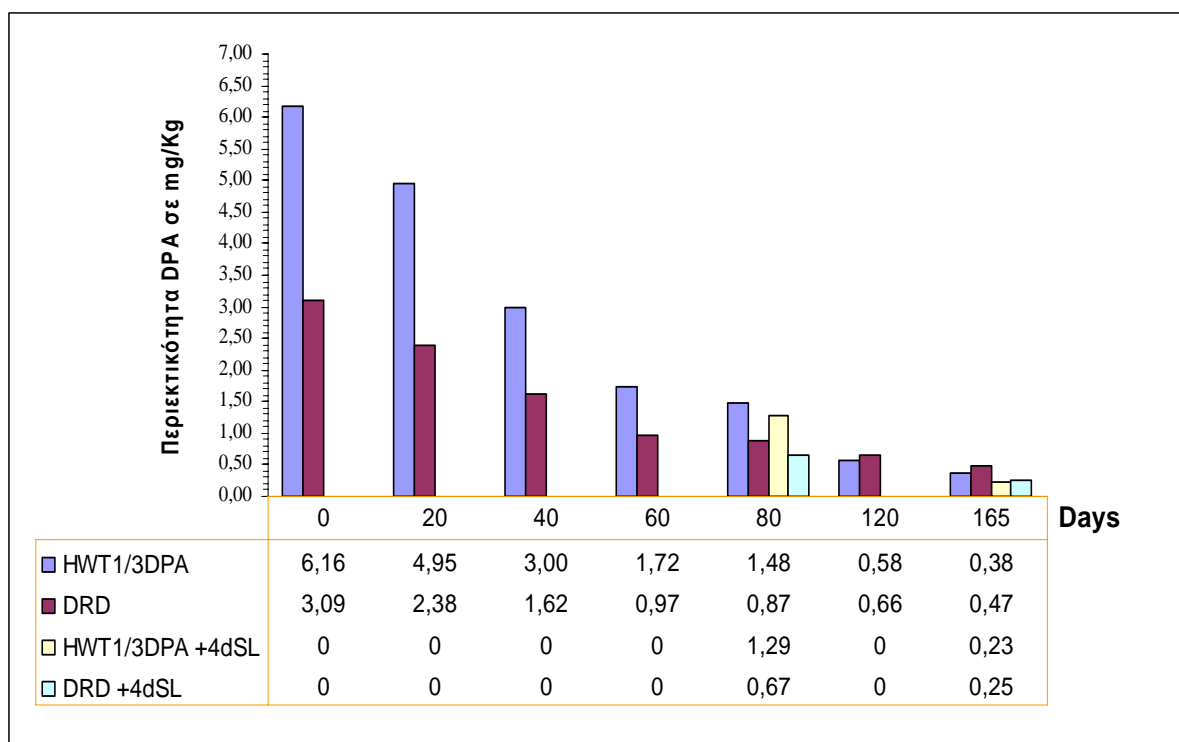
Στα μήλα του μάρτυρα και της μεταχείριση με θερμό νερό (HWT) τα υπολείμματα της DPA βρέθηκαν να είναι χαμηλότερα του ποσοτικού ορίου προσδιορισμού της μεθόδου ( Μ.Π., μη προσδιορίσιμα). Τα υπολείμματα των μεταχειρίσεων Drencher-DPA και HWT1/3DPA παρουσιάζονται στον Πίν. 3.4. Η μεταχείριση HWT1/3DPA είχε σημαντικά περισσότερα υπολείμματα DPA σε σχέση με την Drencher-DPA έως 120ημ ψυχοσυντήρησης, έπειτα τα υπολείμματα των μεταχειρίσεων ήταν παρόμοια. Σε όλες τις δειγματοληψίες παρατηρήθηκε σημαντική υποβάθμιση των υπολειμμάτων DPA σε σχέση με την προηγούμενη. Σημαντική,

επίσης, ήταν η υποβάθμιση των υπολειμμάτων μετά από την τετραήμερη παραμονή των μήλων στο ράφι (Πίν. 3.4, Γραφ. 3.4)

**Πίνακας 3.4.** Μέση τιμή συγκέντρωσης υπολειμμάτων διφαινυλαμίνης σε μήλα ποικ. Granny Smith που μεταχειρίστηκαν με διαβροχή (Drencher – DPA) και με εμβάπτιση σε θερμό νερό με μειωμένη δόση DPA (HWT1/3DPA) σε διάφορα χρονικά διαστήματα ψυχοσυντήρησής τους (Ημερες από τη μεταχείριση) καθώς και μετά την παραμονή τους στο ράφι (+ 4 dSL).

Μεταχείριση	Ημέρα δειγματοληψίας	Συγκέντρωση DPA σε mg/kg ± S.D.	RSD (%)
<b>Drencher-DPA</b>	0	3,09±0,21	6,7
	20	2,38±0,26	10,8
	40	1,62±0,28	17,0
	60	0,97±0,23	23,4
	80	0,87±0,11	12,0
	80+4dSL	0,67±0,04	6,2
	120	0,66±0,08	11,8
	165	0,47±0,16	34,6
	165+4dSL	0,25±0,04	13,8
<b>HWT1/3DPA</b>	0	6,16±0,64	10,4
	20	4,95±0,65	22,1
	40	3,00±0,45	15,1
	60	1,72±0,17	9,8
	80	1,48±0,23	15,5
	80+4dSL	1,29±0,18	14,1
	120	0,58±0,11	19,4
	165	0,38±0,05	13,4
	165+4dSL	0,23±0,02	9,1
<b>Σημαντικότητα</b>			
Μεταχείριση		***	
Χρόνος		***	
Μεταχείριση X Χρόνος		***	
	ΕΣΔ <sub>0,05</sub>	0,16	

Στον παραπάνω πίνακα με αστερίσκο συμβολίζονται οι διαφορές της συγκέντρωσης της DPA στον ιστό των μήλων της δειγματοληψίας των 80 και 165 ημ μετά την παραμονή των μήλων 4dSL. Το μείον (-) στον ίδιο πίνακα συμβολίζει ότι τα υπολείμματα της DPA στα μήλα μειώνονταν με το χρόνο παραμονής τους στο ψυγείο.



**Γράφημα 3.4.** Συγκεντρωτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων της υποβάθμισης των υπολειμμάτων DPA στις μεταχειρίσεις Drencher-DPA και HWT1/3DPA μήλων ποικ. Granny Smith. ΕΣΔ=0,16

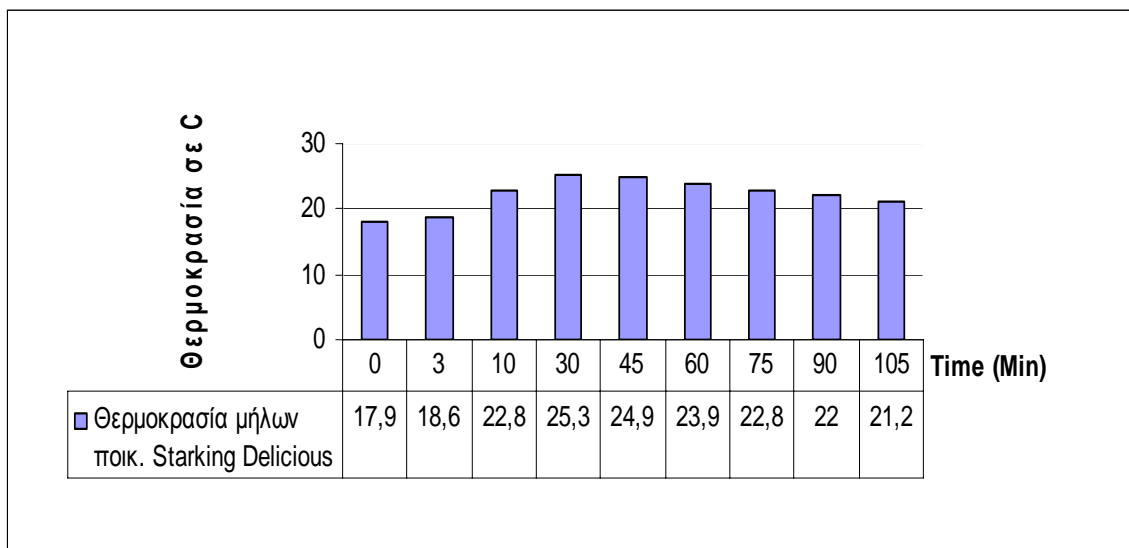
Οι αρχικές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων DPA στα μήλα της μεταχείρισης Drencher-DPA αμέσως μετά τη διαβροχή κυμαίνονταν από 2,88 έως 3,30 mg/kg. Μετά από παραμονή των μήλων στην ψυχοσυντήρηση για 60 ημέρες οι συγκεντρώσεις DPA στα μήλα της μεταχείρισης κυμαίνονταν από 0,74 έως 1,2 mg/kg (Πίν. 3.4). Στην τελευταία δειγματοληψία τα υπολείμματα κυμαίνονταν από 0,31 έως 0,63 mg/kg. Μετά την τετραήμερη παραμονή των μήλων στο ράφι τα υπολείμματα της DPA μειώθηκαν 30% στις 80 ΗΜΕ και 88% στις 165 ΗΜΕ. Σε καθαρισμένα (ξεφλουδισμένα) μήλα της μεταχείρισης αυτής τα υπολείμματα DPA που μετρήθηκαν στο ιστό κυμαίνονταν από μη προσδιοριζόμενα υπολείμματα έως 0,04 mg/kg.

Οι αρχικές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων DPA στα μήλα της μεταχείρισης HWT1/3DPA αμέσως μετά την εμβάπτισή τους κυμαίνονταν από 5,52 έως 6,80 mg DPA / kg, πολύ πάνω από το ευρωπαϊκό MRL. Μετά από παραμονή των μήλων στην ψυχοσυντήρηση για 60 ημέρες οι συγκεντρώσεις DPA στα μήλα της μεταχείρισης κυμαίνονταν από 1,55 έως 1,89 mg/kg (Πίν. 3.4, Γραφ. 3.4). Στην τελευταία δειγματοληψία τα υπολείμματα κυμαίνονταν από 0,33 έως 0,43 mg/kg. Μετά την τετραήμερη παραμονή των μήλων στο ράφι τα υπολείμματα της DPA μειώθηκαν 15% στις 80 ΗΜΕ και 65% στις 165 ΗΜΕ. Σε καθαρισμένα (ξεφλουδισμένα) μήλα της μεταχείρισης αυτής τα υπολείμματα DPA που μετρήθηκαν στο ιστό βρέθηκαν < 0,11 mg/kg.

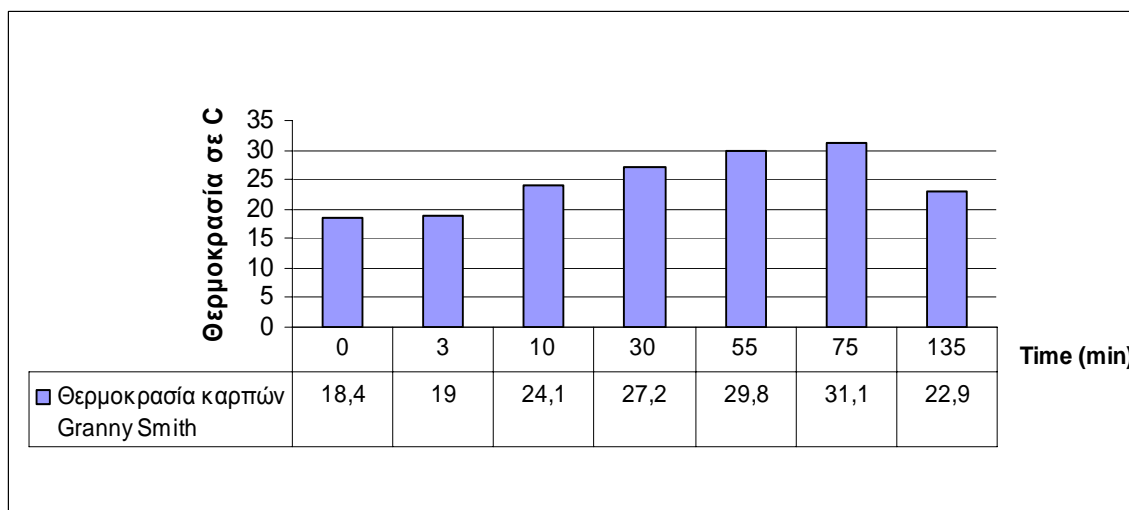


### 3.4. ΓΕΝΙΚΑ ΣΧΟΛΕΙΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΗΛΩΝ

Η θερμοκρασία στο εσωτερικό της σάρκας των μήλων ποικ. Starking Delicious και Granny Smith, όπως μετρήθηκε στη διάρκεια της επεξεργασίας με τη μεταχείριση HWT παρουσιάζεται στις παρακάτω γραφήματα (Γραφ. 3.5 & 3.6).



**Γράφημα 3.5.** Μεταβολή της θερμοκρασίας στο εσωτερικό του καρπού μήλων (ΜΟ τιμών σάρκας) ποικ. Starking Delicious μετά από μεταχείριση με θερμό νερό.



**Γράφημα 3.6.** Μεταβολή της θερμοκρασίας στο εσωτερικό του καρπού μήλων (ΜΟ τιμών σάρκας) ποικ. Granny Smith μετά από μεταχείριση με θερμό νερό.

Η θερμότητα διαχέεται αργά αλλά σταθερά στο εσωτερικό των μήλων και φτάνει στη μέγιστη τιμή της μετά από 30 min από την εμβάπτιση των μήλων στο θερμό νερό για την ποικ. Starking Delicious και μετά από 75 min για την ποικ. Granny Smith. Αξίζει να σημειωθεί ότι,

ενώ τα μήλα βρισκόντουσαν μέσα στο υδατόλουτρο η θερμοκρασία στο εσωτερικό των φρούτων δεν επηρεάστηκε σημαντικά. Αντίθετα, μετά από 105 min από τη βύθιση στο υδατόλουτρο για τα μήλα της ποικ. Starking Delicious και 135 min για τα μήλα της ποικ. Granny Smith η θερμοκρασία της σάρκας εξακολουθούσε να ήταν υψηλότερη από τη θερμοκρασία των καρπών πριν τη μεταχείριση.

Η μεταχείριση των μήλων και άλλων ευαίσθητων φρούτων με υψηλή σχετικά θερμοκρασία ( $>40^{\circ}\text{C}$ ) σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Jones και Waddell, 1996) μπορεί να προκαλέσει εγκαύματα (Heat Injury) (Εικ. 3.1). Για τα μήλα ποικ. Starking Delicious το ποσοστό των καρπών με έγκαυμα που παρατηρήθηκε σε όλες τις εξόδους ήταν 0,15% στην μεταχείριση HWT και 0,04% στην μεταχείριση με HWT1/3DPA. Στην ποικ. Granny Smith το ποσοστό των μήλων με έγκαυμα ήταν 0,01% και για τις δύο μεταχειρίσεις (HWT και HWT1/3DPA). Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η ποικ. Starking Delicious είναι πιο ευαίσθητη στη μεταχείριση με HWT από την ποικ. Granny Smith και τα μήλα ποικ. Starking Delicious που μεταχειρίστηκαν με DPA ήταν λιγότερο ευαίσθητα στην επίδραση του θερμού νερό, πράγμα που δηλώνει ότι η DPA είναι πιθανόν να λειτούργησε αντιοξειδωτικά και κατά του Heat Injury. Στους καρπούς και των 2 ποικιλιών που παρατηρήθηκε έγκαυμα (Heat Injury) το ποσοστό εγκαύματος κάλυπτε λιγότερο από το 25% της επιφάνειάς τους.



**Εικόνα 3.1.** Απεικόνιση μήλων ποικ. Starking Delicious με έγκαυμα (Heat Injury) μετά από εμβάπτιση σε θερμό νερό ( $48^{\circ}\text{C}$ ) για 3 min (μεταχείριση HWT).

Η μη παρασιτικής φύσεως ασθένεια ‘Πικρή Κηλίδωση’ (Εικ. 3.2) δεν επηρεάστηκε από τις μετασυλλεκτικές μεταχειρίσεις των καρπών και παρέμεινε σχεδόν στο ίδιο ποσοστό και στις δύο ποικιλίες. Αναλυτικότερα, για την ποικιλία Starking Delicious στο μάρτυρα παρατηρήθηκε 1,2% των μήλων με Πικρή Κηλίδωση, στην μεταχείριση με HWT 0,9%, στην fogging-DPA και στην HWT1/3DPA 0,1%, ενώ στα μήλα που πέρασαν από drencher 0,17%.

Στα μήλα ποικ. Granny Smith παρατηρήθηκε αυξημένο ποσοστό μήλων με Πικρή Κηλίδωση στους καρπούς που μεταχειρίστηκαν με HWT1/3DPA (0,4%), ενώ στα μήλα που χρησιμοποιήθηκαν σαν μάρτυρες το ποσοστό ήταν 0,19%. Ακολουθούν τα μήλα που διαβρέχτηκαν στον drencher με 0,11% και την μικρότερη συχνότητα εμφάνισης Πικρής Κηλίδωσης την είχαν τα μήλα που μεταχειρίστηκαν με HWT (0,06%) .



**Εικόνα 3.2.** Πικρή κηλίδωση σε μήλα Granny Smith και Starking Delicious.

### 3.5 ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΗΛΩΝ ΠΟΙΚ. STARKING DELICIOUS

Στο χρώμα φλοιού των κόκκινων μήλων Starking Delicious ο παράγοντας μεταχείριση επηρέασε σημαντικά τις παραμέτρους  $a^*$ ,  $b^*$  και Chroma (Πίν. 3.5). Αντίστοιχα, ο παράγοντας χρόνος συντήρησης επηρέασε σημαντικά τις παραμέτρους  $L^*$ ,  $b^*$  και Chroma. Ο χρόνος συντήρησης στο ψυγείο σε συνδυασμό με τη μεταχείριση των μήλων δεν επηρέασε σημαντικά τις παραμέτρους του χρώματος εκτός από την παράμετρο Chroma. Η απόχρωση hue δεν επηρεάστηκε από κανένα από τους παράγοντες του πειράματος παρότι είχαμε κόκκινα μήλα τα οποία συντηρήθηκαν για μεγάλο χρονικό διάστημα (επομένως είχαμε απώλεια της υπόλοιπης χλωροφύλλης στο φλοιό αλλά και εμφάνιση scald σε διαφορετικό βαθμό για κάθε μεταχείριση.

**Πίνακας 3.5.** Μεταβολή των παραμέτρων του χρώματος φλοιού σε μήλα ποικ. Starking Delicious από τη Ζαγορά Πηλίου κατά τη συντήρηση ή παραμονή τους στο ράφι (SL).

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ	ΧΡΟΝΟΣ Ημέρες	Δείκτης $L^*$	Δείκτης $a^*$	Δείκτης $b^*$	Chroma	Hue ( $^{\circ}$ )
<b>Μάρτυρας</b>	0	45,7	17,7	22,2	28,6	51,4
<b>Μάρτυρας</b>	40	54,5	21,1	26,7	34,3	51,7
	60	53,3	22,6	25,5	34,1	48,5
	60+4d SL	52,7	21,3	26,3	33,9	50,8
	90	53,1	21,4	25,0	33,0	49,7
	90+4d SL	52,8	21,3	26,7	34,4	51,4
	145	55,2	17,6	27,4	32,7	57,2
	145+4d SL	54,1	20,8	29,4	36,1	54,6

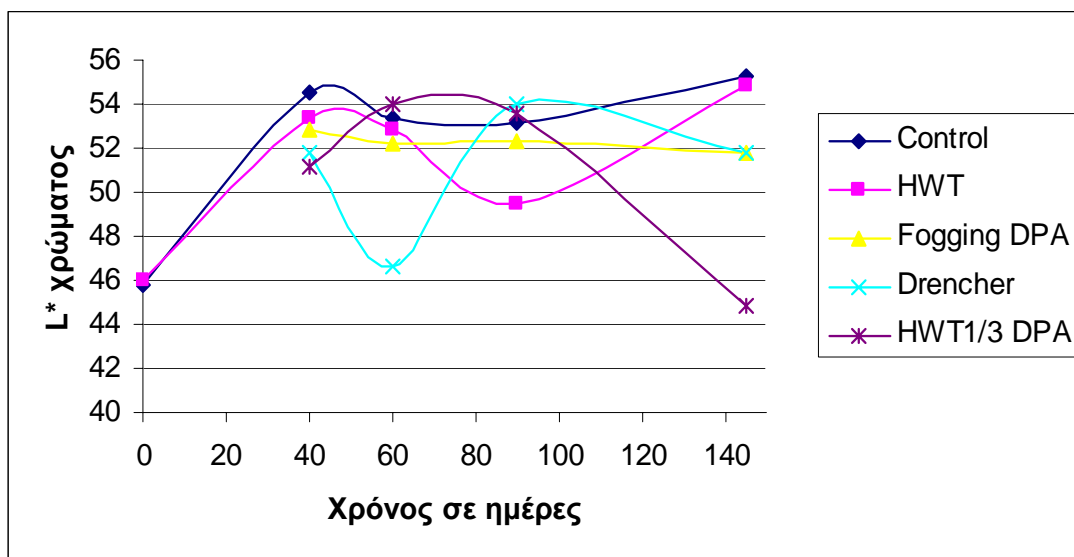
<b>HWT</b>						
	0	45,9	17,9	22,8	29,1	52,1
	40	53,3	18,0	26,4	32,1	55,6
	60	52,8	17,5	25,8	31,4	55,7
	60+4d SL	54,0	19,3	28,1	34,1	55,3
	90	49,4	21,3	25,1	33,2	49,5
	90+4d SL	52,6	20,7	27,5	34,5	53,0
	145	54,8	18,4	28,1	33,6	56,6
	145+4d SL	51,6	22,0	26,8	34,8	50,6
<b>Fogging DPA</b>						
	40	52,8	17,7	24,9	30,7	54,8
	60	52,2	18,8	24,5	31,4	52,5
	60+4d SL	51,1	19,3	24,1	31,0	51,2
	90	52,2	18,7	24,7	31,2	52,9
	90+4d SL	54,1	18,6	27,5	33,3	55,9
	145	51,7	20,7	24,8	32,4	50,1
	145+4d SL	54,7	16,7	28,4	33,0	59,6
<b>Drencher</b>						
	40	51,7	18,5	24,4	30,7	52,8
	60	46,5	20,1	24,5	31,8	50,7
	60+4d SL	53,9	17,5	26,8	32,1	56,8
	90	54,0	17,8	25,9	31,6	55,4
	90+4d SL	53,1	18,2	25,6	31,5	54,6
	145	51,8	19,1	25,4	31,9	53,1
	145+4d SL	54,0	17,9	24,9	30,9	53,5
<b>HWT<sup>1/3</sup> DPA</b>						
	40	51,1	18,8	24,2	30,7	52,2
	60	53,9	16,7	26,1	31,0	57,2
	60+4d SL	52,2	17,8	25,9	31,6	55,4
	90	53,5	23,9	27,2	37,0	50,6
	90+4d SL	52,8	19,0	26,7	32,9	54,6
	145	44,8	19,4	24,8	31,9	51,7
	145+4d SL	52,3	18,3	27,4	33,1	56,2
<b>Σημαντικότητα</b>						
<b>Μεταχείριση Χρόνος Μεταχείριση * Χρόνος</b>		NS	*	*	***	NS
		***	NS	***	***	NS
		NS	NS	NS	*	NS
ΕΣΔ <sub>0,05</sub>		4,1	4,2	1	1	-

NS=Δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές

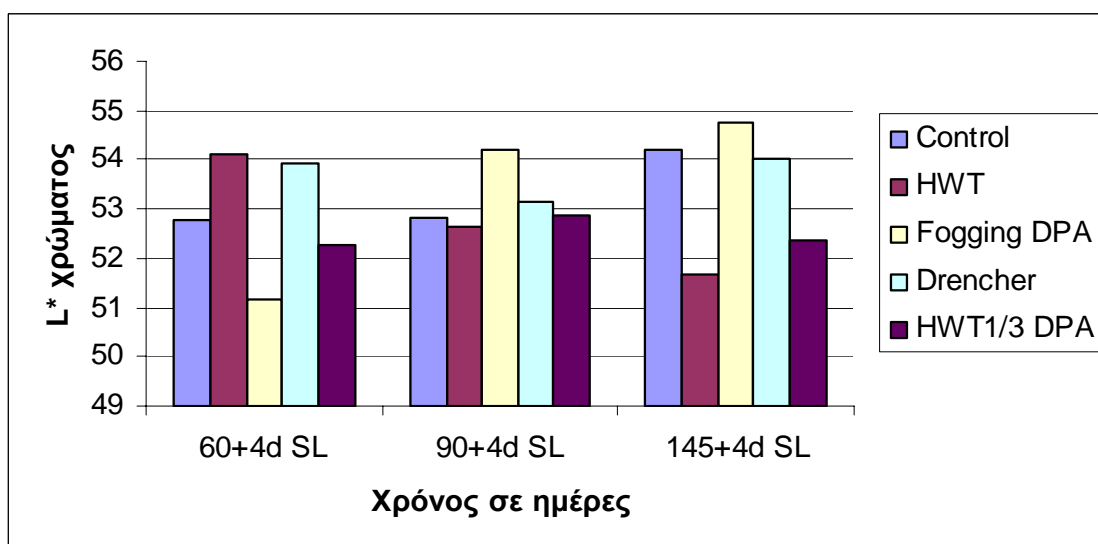
Σημαντική διαφορά στο L\* του χρώματος του φλοιού παρατηρήθηκε ανάμεσα στην πρώτη και την δεύτερη δειγματοληψία (0 και 40 ημ). Οι καρποί στις 40 ημ και έπειτα είχαν πιο υψηλό L\* (πιο φωτεινό χρώμα) κατά 15,23% σε σχέση με τους καρπούς αμέσως μετά την

εφαρμογή του πειράματος (Πίν. 3.5, Εικ. 3.7). Σημαντική μείωση του  $L^*$  παρατηρήθηκε στις 60 ημ για την Drencher-DPA και στις 145 ημ για την HWT1/3DPA. Στις 145 ημ η φωτεινότητα των μήλων της HWT ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από αυτή των 90 ημ.

Μετά την παραμονή των μήλων για 4 ημέρες στο ράφι η φωτεινότητά τους δεν επηρεάστηκε σημαντικά (Πίν.3.5, Γράφ. 3.8).

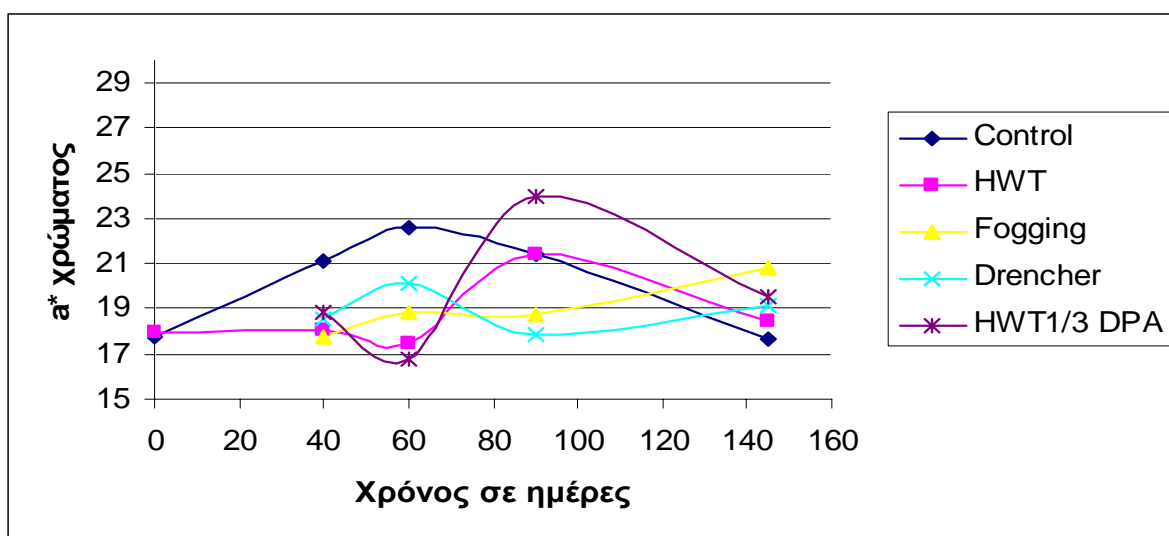


**Γράφημα 3.7.** Μεταβολή της παραμέτρου  $L^*$  του χρώματος του φλοιού μήλων ποικ. Starking Delicious με το χρ όνο συντήρησης. ΕΣΔ = 4,1

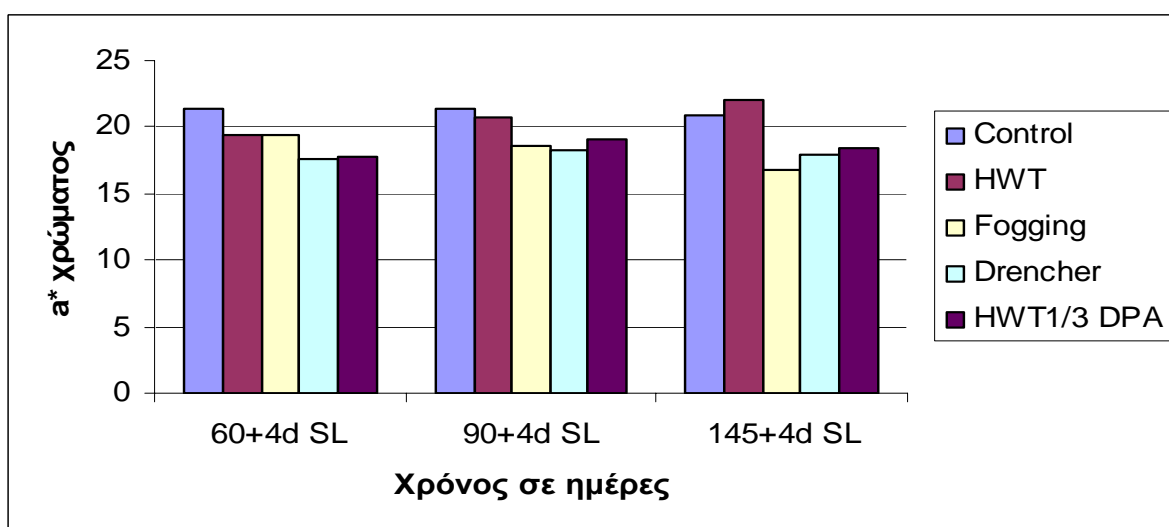


**Γράφημα 3.8.** Τιμές της παραμέτρου  $L^*$  του χρώματος φλοιού μήλων ποικ. Starking Delicious μετά από ψυχοσυντήρηση 60, 90 και 145 ημ. και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 4,1

Το  $a^*$  του χρώματος του φλοιού των μήλων ποικ. Starking Delicious διαφοροποιήθηκε μεταξύ των μεταχειρίσεων (Πίν. 3.5, Γράφ. 3.9). Οι πιο έντονα κόκκινοι καρποί παρατηρήθηκαν στα μήλα του μάρτυρα (έως και τις 90ημ), ακολούθησαν οι μεταχειρίσεις HWT και HWT1/3DPA (στις 90ημ) σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις DPA και λιγότερο κόκκινοι βρέθηκαν οι καρποί που μεταχειρίστηκαν με Fogging-DPA και Drencher-DPA έως τις 90ημ. Η παραμονή των μήλων στο ράφι δεν επηρέασε την παράμετρο (Πίν. 3.5, Γραφ. 3.10). Στις 60ημ τα μήλα που μεταχειρίστηκαν με θερμό νερό ήταν λιγότερο κόκκινα σε σχέση με το μάρτυρα. Στις 145ημ δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων παρά την διαφορετική ανάπτυξη Scald στα μήλα κάθε μεταχείρισης.



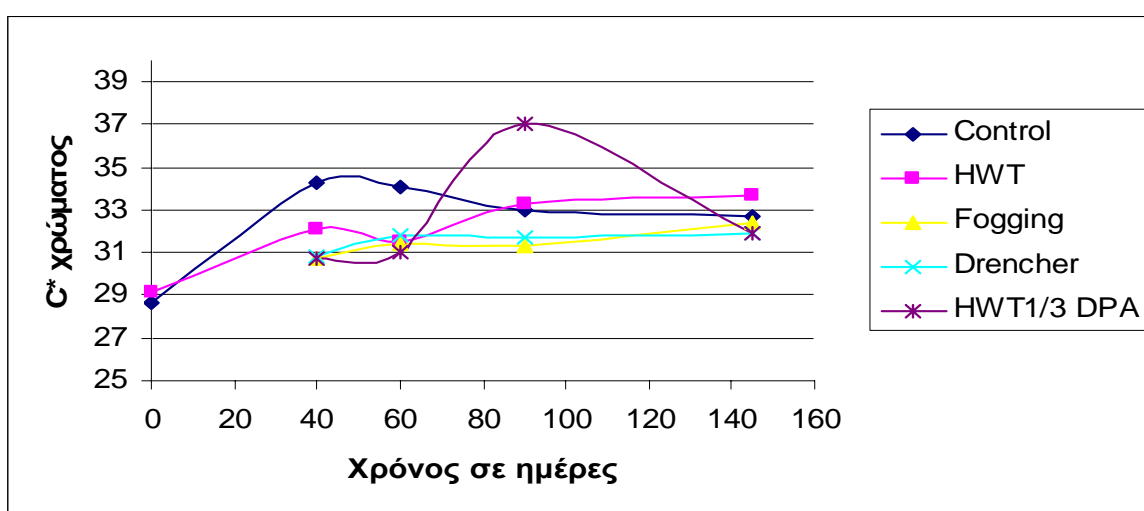
**Γράφημα 3.9.** Μεταβολή της παραμέτρου  $a^*$  του χρώματος του φλοιού μήλων ποικ. Starking Delicious με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 4,2



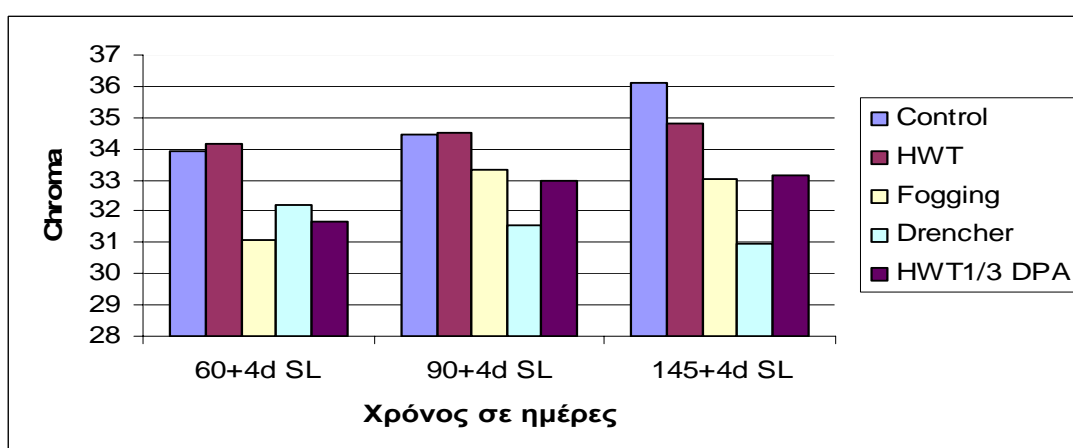
**Γράφημα 3.10.** Τιμές της παραμέτρου  $a^*$  του χρώματος φλοιού μήλων ποικ. Starking Delicious μετά από ψυχοσυντήρηση 60, 90 και 145 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 4,2

Η παράμετρος  $b^*$  χρώματος φλοιού μήλων ποικ. Starking Delicious δεν περιγράφεται καθώς δεν προσδίδει τίποτα παραπάνω από το δείκτη Chroma που περιγράφεται κατωτέρω.

Ανάμεσα στις μεταχειρίσεις, το Chroma είχε τις μεγαλύτερες τιμές στα μήλα του μάρτυρα στις 40 και 60ημ ψυχοσυντήρησης, άρα είχαν και το πιο ‘καθαρό’ κόκκινο χρώμα (Πίν. 3.5, Γράφ. 3.11). Τα μήλα της μεταχείρισης HWT είχαν υψηλότερες τιμές Chroma από όλες τις άλλες μεταχειρίσεις DPA στις 40, 90 και 145ημ πλην της μεταχείρισης HWT1/3DPA που είχαν υψηλότερη τιμή Chroma από όλες τις μεταχειρίσεις στις 90ημ. Όσον αφορά το χρόνο, παρατηρήθηκε μόνο μια αύξηση στην παράμετρο Chroma από τη συγκομιδή έως την πρώτη έξοδο και οι αλλαγές που ακολούθησαν δεν ήταν ούτε σταθερές ούτε ουσιώδεις.



**Γράφημα 3.11.** Μεταβολή της παραμέτρου Chroma του χρώματος του φλοιού μήλων ποικ. Starking Delicious με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ= 1



**Γράφημα 3.12.** Τιμές της παραμέτρου Chroma του χρώματος φλοιού μήλων ποικ. Starking Delicious μετά από ψυχοσυντήρηση 60, 90 και 145 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ =1

Η σκληρότητα της σάρκας των μήλων ποικ. Starking Delicious διέφερε σημαντικά ανάμεσα στις μεταχειρίσεις, στους χρόνους δειγματοληψίας αλλά και στο συνδυασμό των παραγόντων του πειράματος, χρόνος και μεταχείριση (Πίν. 3.6). Η σκληρότητα σάρκας μειώθηκε σταδιακά με το χρόνο αλλά πιο ραγδαία στο μάρτυρα (τις πρώτες 40ημ μείωση κατά 25%, ενώ η αντίστοιχη μείωση στα μήλα της HWT ήταν μόλις 8%) σε σχέση με τις άλλες μεταχειρίσεις ώστε ο μάρτυρας να έχει τις χαμηλότερες τιμές στις 40 και 60ημ ψυχοσυντήρησης (Γράφ. 3.13). Στις 90 και 145ημ ψυχοσυντήρησης οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων στη σκληρότητα σάρκας ήταν πολύ μικρές. Η μεταχείριση Fogging-DPA παρουσίασε μια ανώμαλη έντονη μείωση της σκληρότητας στις 60ημ που πρέπει να είναι πλασματική σε σχέση με τις υπόλοιπες τιμές της μεταχείρισης.

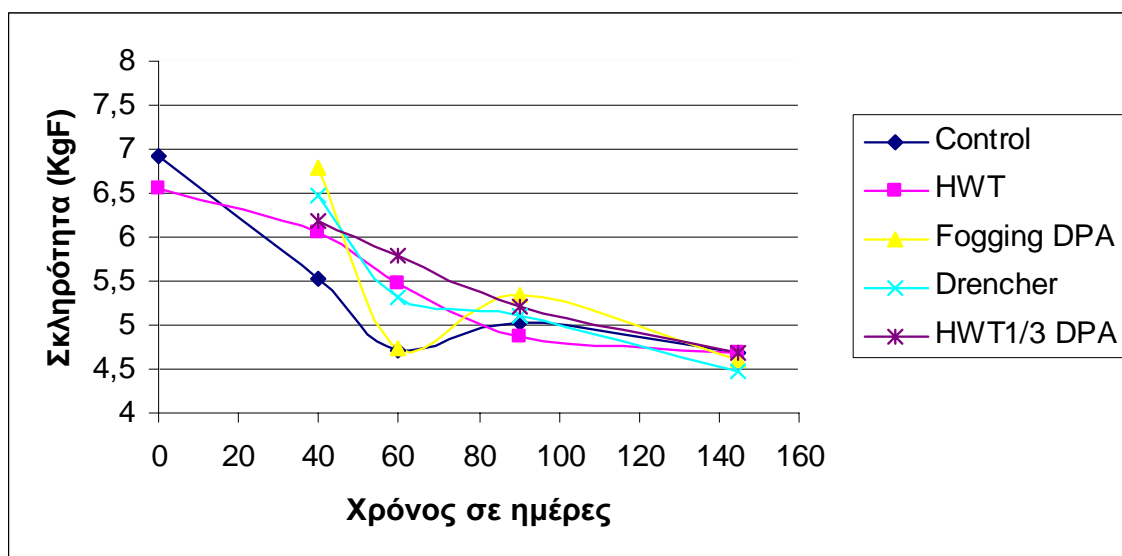
**Πίνακας 3.6.** Μεταβολή των ποιοτικών χαρακτηριστικών σκληρότητα σάρκας, περιεκτικότητα χυμού σε διαλυτά στερεά συστατικά, ενεργός οξύτητα (pH) και ολική οξύτητα χυμού (εκφρασμένη σε % μηλικό οξύ) σε μήλα ποικ. Starking Delicious από τη Ζαγορά Πηλίου με το χρόνο συντήρησης ή παραμονή τους στο ράφι (SL).

ΜΕΤΑ-ΧΕΙΡΙΣΗ	ΧΡΟΝΟΣ Ημέρες	Σκληρότητα α (kgF)	ΔΣΣ (%)	pH χυμού	Οξύτητα (% μηλικό οξύ)	Δείκτης Ωρίμανσης
<b>Μάρτυρας</b>	0	6,9	10,9	3,8	0,28	38,9
	40	5,5	11,7	3,9	0,28	41,3
	60	4,7	12,5	3,7	0,27	45,8
	60+4d SL	4,3	13,3	3,5	0,28	47,3
	90	5,0	12,2	3,5	0,27	45,0
	90+4d SL	4,4	12,9	3,4	0,26	49,9
	145	4,6	13,4	3,9	0,24	56,2
	145+4d SL	3,9	13,5	3,9	0,21	64,1
<b>HWT</b>	0	6,5	11,8	3,8	0,27	43,2
	40	6,0	12,2	3,8	0,28	43,3
	60	5,4	11,7	3,5	0,27	43,2
	60+4d SL	4,0	12,3	3,5	0,24	50,4
	90	4,8	12,5	3,5	0,29	42,9
	90+4d SL	4,4	13,0	3,5	0,28	45,4
	145	4,6	12,5	3,9	0,26	47,6
	145+4d SL	4,2	12,6	3,9	0,23	55,4
<b>Fogging DPA</b>	40	6,7	11,8	3,8	0,28	41,3
	60	4,7	12,4	3,5	0,26	47,2
	60+4d SL	4,9	11,6	3,5	0,26	43,1
	90	5,3	11,9	3,4	0,28	42,7
	90+4d SL	4,7	12,5	3,3	0,25	49,7
	145	4,5	12,8	3,8	0,24	51,7
	145+4d SL	4,6	12,8	3,8	0,24	52,3



<b>Drencher</b>	40	6,4	12,3	3,8	0,28	42,6
	60	5,3	12,1	3,5	0,27	43,7
	60+4d SL	4,5	12,2	3,5	0,28	43,7
	90	5,0	12,4	3,4	0,28	43,3
	90+4d SL	5,2	12,2	3,4	0,26	47,5
	145	4,4	12,6	3,9	0,26	48,4
	145+4d SL	4,5	12,7	3,8	0,25	49,7
<b>HWT<sup>1/3</sup>DPA</b>	40	6,1	11,4	3,8	0,31	36,5
	60	5,8	11,8	3,4	0,23	50,6
	60+4d SL	4,6	10,9	3,5	0,26	40,7
	90	5,2	12,6	3,4	0,26	48,1
	90+4d SL	4,9	12,2	3,3	0,27	44,4
	145	4,6	11,6	3,8	0,24	47,3
	145+4d SL	4,6	12,8	3,8	0,25	49,8
<b>Σημαντικότητα</b>						
<b>Μεταχείριση</b>		***	***	***	NS	**
<b>Χρόνος</b>		***	***	***	***	***
<b>Μεταχείριση * Χρόνος</b>		***	***	*	***	***
ΕΣΔ <sub>0,05</sub>		0,4	0,28	0,1	0,03	2,2

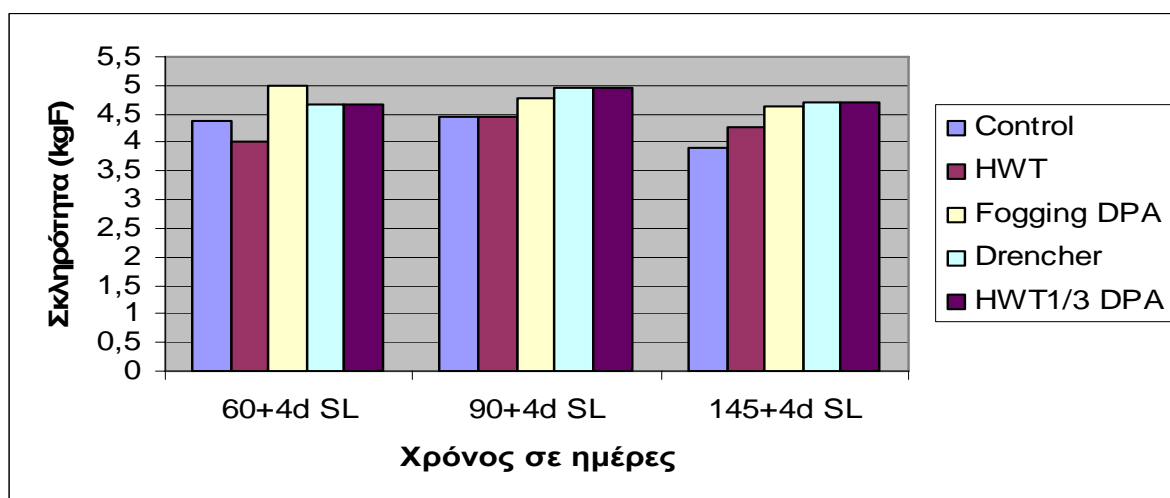
NS= μη σημαντική διαφορά



**Γράφημα 3.13.** Μεταβολή της σκληρότητας της σάρκας των μήλων ποικ. Starking Delicious σε σχέση με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,4

Μετά από τετραήμερη παραμονή στο ράφι η σκληρότητα των μήλων ήταν μεταξύ 4-5 kgF, δηλ. ικανοποιητικής σκληρότητας και χωρίς τη χρήση ελεγχόμενης ατμόσφαιρας (Γράφ. 3.14). Μετά την παραμονή στο ράφι τα μήλα του μάρτυρα και του HWT είχαν τις χαμηλότερες

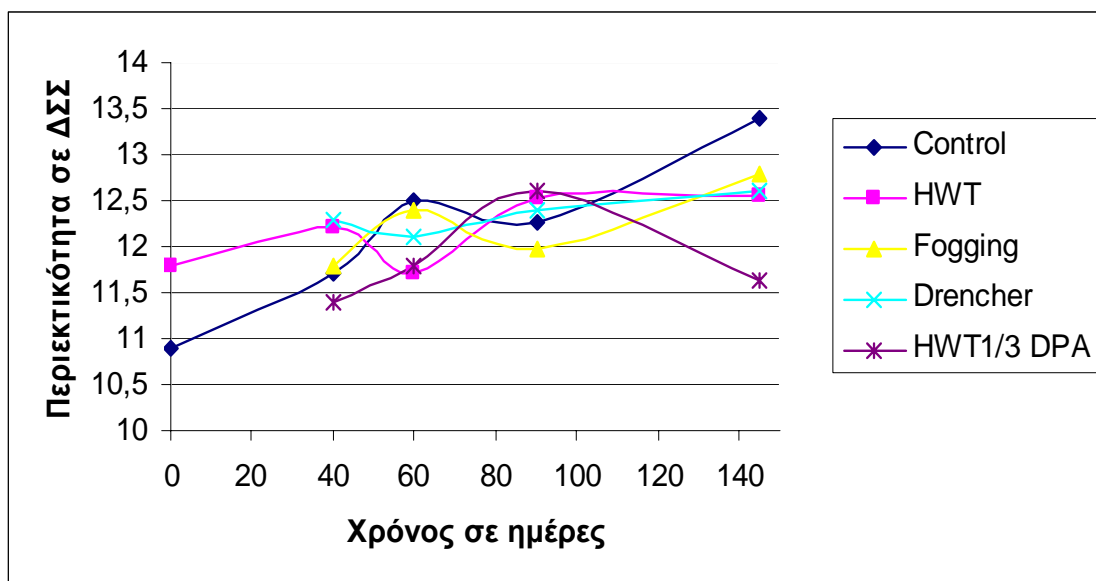
τιμές, ενώ υψηλότερες ήταν οι τιμές των άλλων μεταχειρίσεων χωρίς σταθερές διαφορές μεταξύ τους.



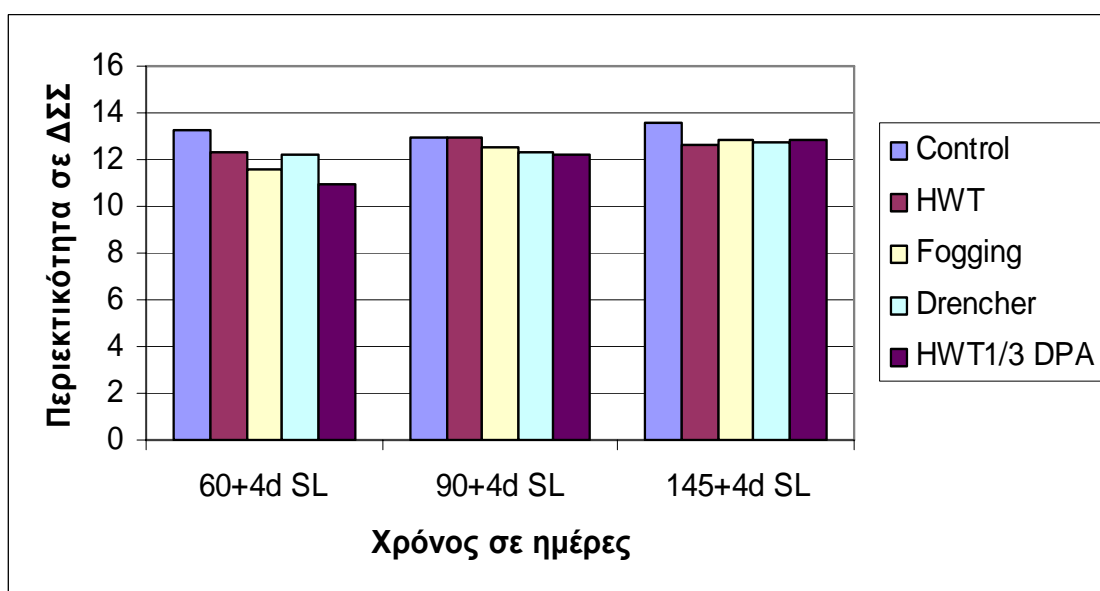
**Γράφημα 3.14.** Τιμές της σκληρότητας της σάρκας μήλων ποικ. Starking Delicious μετά από ψυχοσυντήρηση 60, 90 και 145 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ =0,4.

Η περιεκτικότητα των μήλων ποικ. Starking Delicious σε ΔΣΣ διέφερε σημαντικά ανάμεσα στις μεταχειρίσεις, στους χρόνους δειγματοληψίας, αλλά και στην αλληλεπίδραση μεταχείρισης και χρόνου (Πίν. 3.6). Τα μήλα του μάρτυρα είχαν πολύ χαμηλά ΔΣΣ στη συγκομιδή υποδηλώνοντας χαμηλή γενικά ποιότητα μήλων ή πρώιμα συγκομισμένα. Τα μήλα της HWT αμέσως μετά τη θερμική μεταχείριση είχαν σημαντικά υψηλότερα ΔΣΣ σε σχέση με το μάρτυρα, αλλαγή που πιθανόν να οφείλεται στη μεταχείριση αυτή καθ' εαυτή. Τα μήλα της HWT1/3DPA είχαν σημαντικά μικρότερη περιεκτικότητα σε ΔΣΣ στις 40 και 145ημ από τις άλλες μεταχειρίσεις. Άλλες σταθερές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν βρέθηκαν.

Τα ΔΣΣ αυξήθηκαν βαθμιαία με το χρόνο συντήρησης σε πολύ μικρό αλλά σημαντικό βαθμό (Γράφ. 3.15). Αυτή η αύξηση οφείλεται στον μεταβολισμό του αμύλου σε σάκχαρα στη διάρκεια του χρόνου (ιδιαίτερα την αρχική περίοδο) και στην απώλεια ύδατος από τους καρπούς κατά την ψυχοσυντήρηση. Μετά την παραμονή στο ράφι τα μήλα του μάρτυρα είχαν τα υψηλότερα ΔΣΣ από τις άλλες μεταχειρίσεις χωρίς σταθερές διαφορές ανάμεσα στις άλλες μεταχειρίσεις (Γράφ. 3.16). Στις 60 ημέρες ψυχοσυντήρησης και μετά από τετραήμερη παραμονή στο ράφι τα μήλα της HWT1/3DPA είχαν **22%** μικρότερη περιεκτικότητα σε ΔΣΣ σε σχέση με τον μάρτυρα για την ίδια περίοδο.



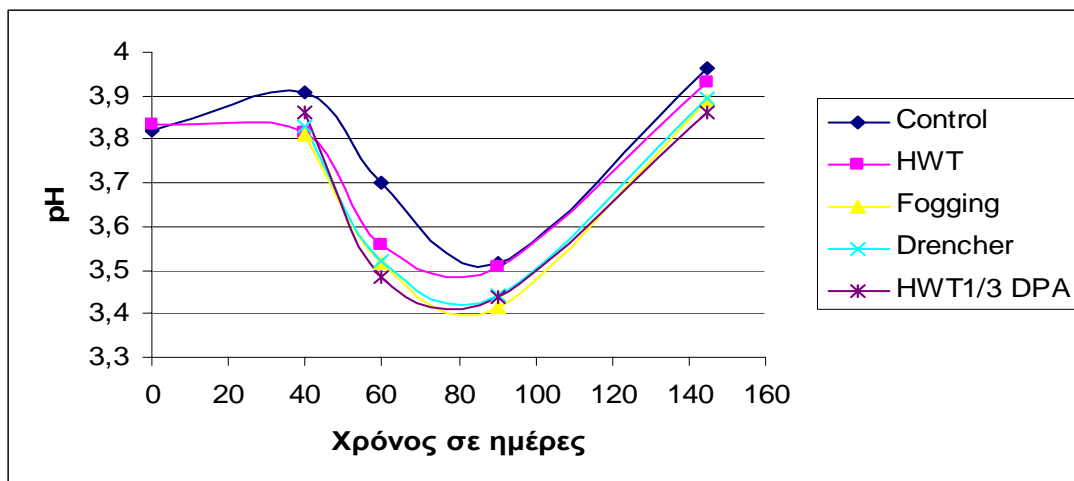
**Γράφημα 3.15.** Μεταβολή της περιεκτικότητας των μήλων ποικ. Starking Delicious σε διαλυτά στερεά συστατικά σε σχέση με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,28



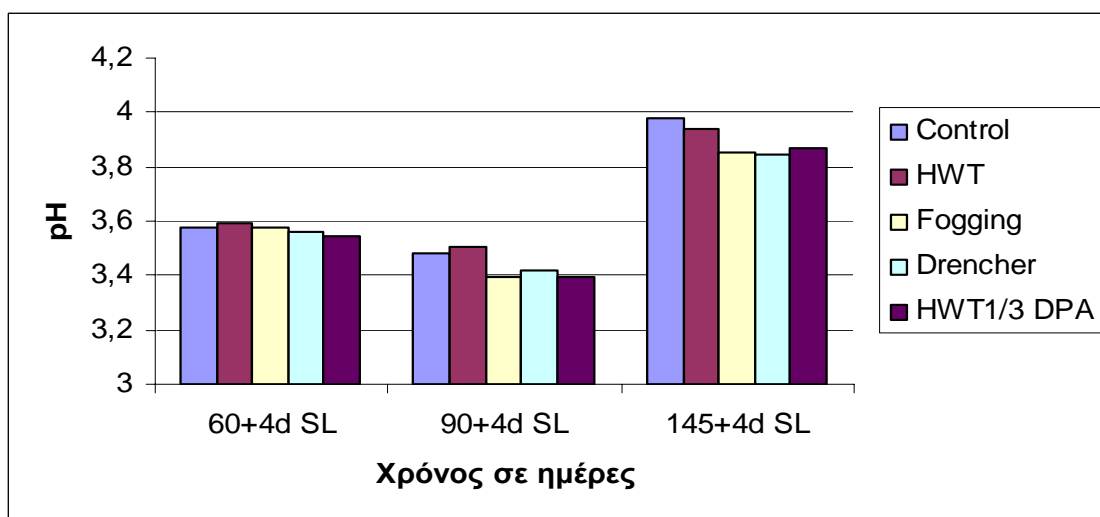
**Γράφημα 3.16.** Τιμές της περιεκτικότητας του χυμού των μήλων ποικ. Starking Delicious σε διαλυτά στερεά συστατικά μετά από ψυχοσυντήρηση 60, 90 και 145 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,28

Η ενεργός οξύτητα (pH) μεταβλήθηκε σημαντικά ανάμεσα στις μεταχειρίσεις, με το χρόνο συντήρησης στο ψυγείο, αλλά και στην αλληλεπίδραση των 2 παραμέτρων (Πίν. 3.6). Κατ' αρχήν ενώ υπάρχουν ποικίλες στατιστικές διαφορές μεταξύ μεταχειρίσεων και χρόνου συντήρησης αυτές είναι ελάχιστης βιολογικής αξίας και σημασίας για την ποιότητα των μήλων. Ανάμεσα στις μεταχειρίσεις το υψηλότερο pH είχαν τα μήλα που χρησιμοποιήθηκαν για μάρτυρες. Ακολουθούσαν τα μήλα της HWT με σημαντικά μικρότερο pH από το μάρτυρα,

ενώ οι υπόλοιπες 3 μεταχειρίσεις είχαν ακόμη μικρότερο pH και δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους (Πίν. 3.6, Γράφ. 3.17). Σχετικά με το χρόνο συντήρησης βρέθηκε μια ανεξήγητη μείωση του pH στις 60 και 90ημ ενώ, όπως αναμένονταν, το υψηλότερο pH είχαν τα μήλα των 145 ημερών. Το pH δεν επηρεάστηκε από την παραμονή των μήλων στο ράφι σε σχέση με την τιμή του αμέσως μετά την κάθε έξοδο.



**Γράφημα 3.17.** Μεταβολή του pH του χυμού των μήλων ποικ. Starking Delicious σε σχέση με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,1.

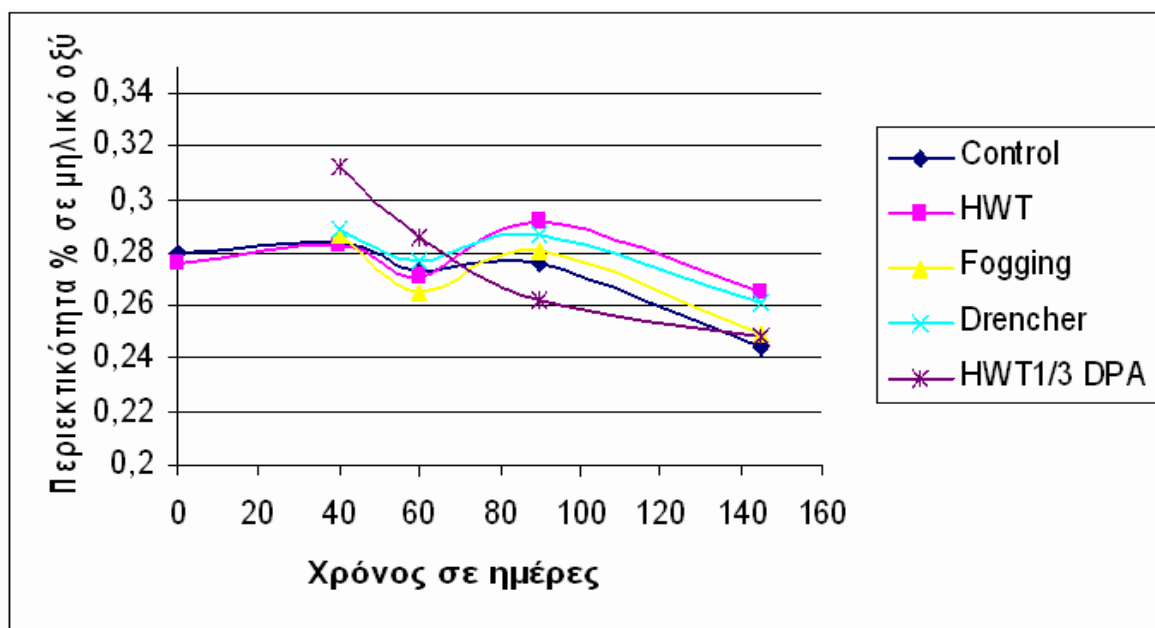


**Γράφημα 3.18.** Τιμές pH του χυμού των μήλων ποικ. Starking Delicious μετά από ψυχοσυντήρηση 60, 90 και 145 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,1.

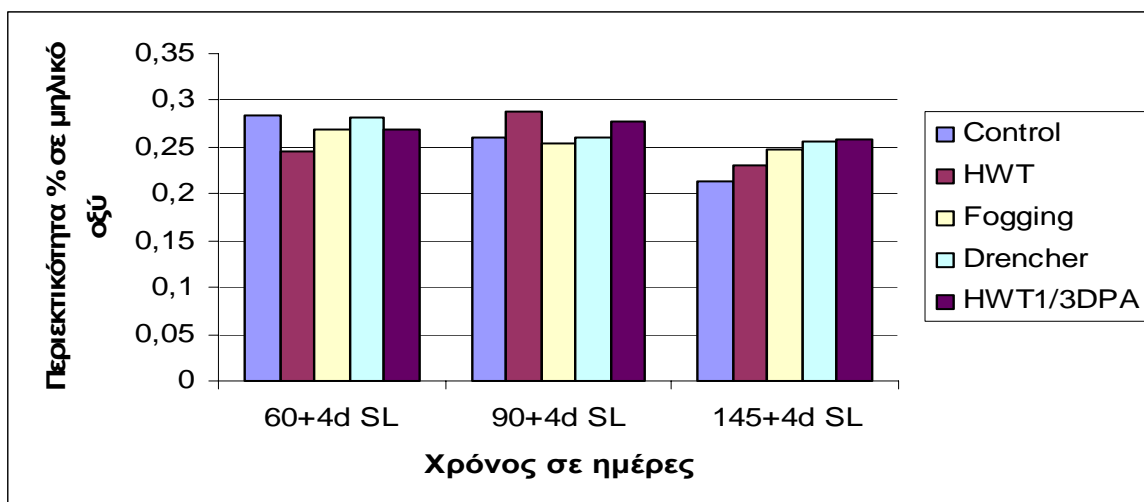
Μετά την παραμονή των μήλων στο ράφι βρέθηκε μια τάση στις 60+4dSL και σημαντική διαφορά στις άλλες δύο εξόδους όπου ο μάρτυρας και το HWT είχαν υψηλότερες τιμές από τις μεταχειρίσεις με DPA είχαν σημαντικά μικρότερο pH σε σχέση με τον μάρτυρα (Γράφ. 3.18).

Η ολική οξύτητα των μήλων ποικ. Starking Delicious επηρεάστηκε σημαντικά από τη διάρκεια παραμονής των μήλων στο ψυγείο, αλλά και από την αλληλεπίδραση των 2 παραγόντων του πειράματος (μεταχειρίσεις και χρόνος) (Πίν. 3.6). Έτσι δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων εκτός από τη μεταχείριση HWT όπου στις 40ημ είχαμε την υψηλότερη τιμή ολικής οξύτητας. Αντίθετα, η ολική οξύτητα παρέμεινε σχεδόν σταθερή έως τις 90ημ ψυχοσυντήρησης ενώ μειώθηκε σημαντικά στις 145ημ.

Μετά την παραμονή στο ράφι η ολική οξύτητα των μήλων δεν διέφερε σταθερά μεταξύ των μεταχειρίσεων και μόνο ελάχιστα μειώθηκε σε σχέση με τις τιμές αμέσως μετά την έξοδο από την ψυχοσυντήρηση (Πίν. 3.6, Γράφ. 3.19). Μετά την τετραήμερο παραμονή των μήλων στο ράφι στις 165 ημέρες, παρατηρήθηκε ότι τα μήλα των μεταχειρίσεων με DPA είχαν υψηλότερη ολική οξύτητα σε σχέση με αυτή που είχε ο μάρτυρας για την ίδια δειγματοληψία, ενώ τα μήλα της HWT παρόμοια (Γραφ. 3.20).

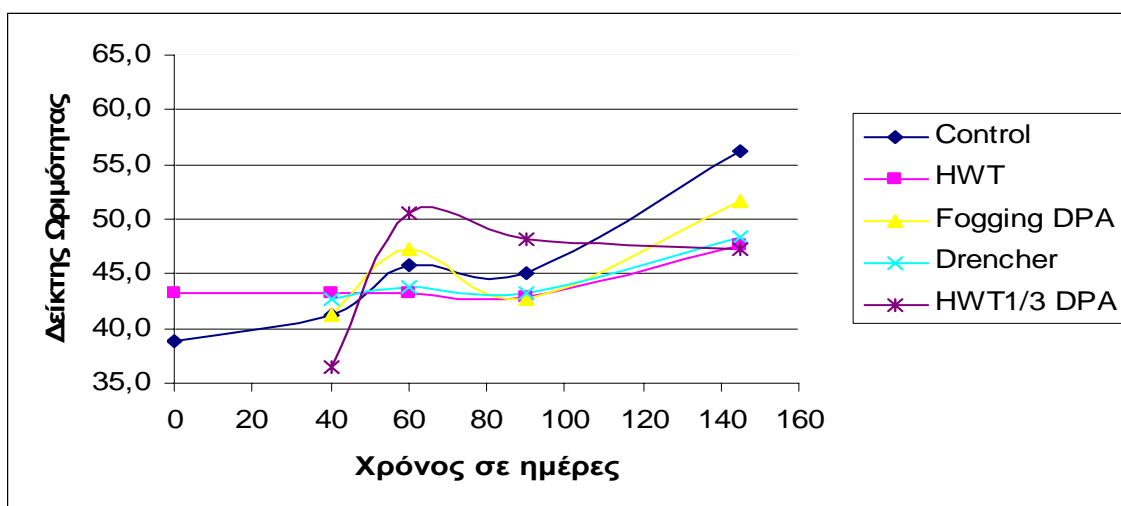


**Γράφημα 3.19.** Μεταβολή της ολικής οξύτητας του χυμού των μήλων ποικ. Starking Delicious σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ= 0,03



**Γράφημα 3.20.** Τιμές ολικής οξύτητας του χυμού μήλων ποικ. Starking Delicious μετά από ψυχοσυντήρηση 60, 90 και 145 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,03.

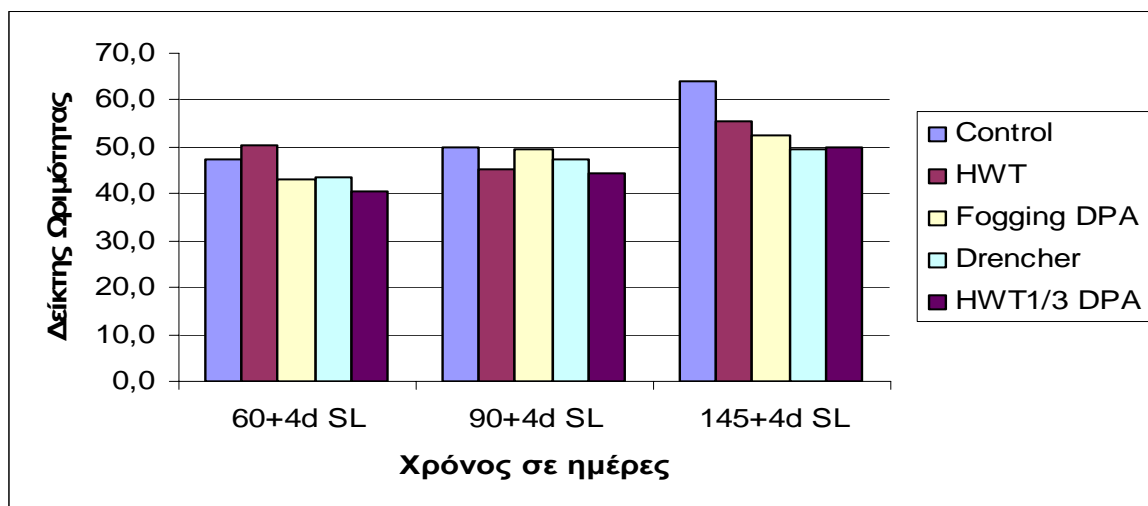
Η ωρίμανση των μήλων ποικ. Starking Delicious επηρεάστηκε σημαντικά στη διάρκεια του χρόνου, διαφοροποιήθηκε μεταξύ των μεταχειρίσεων, αλλά και με τον συνδυασμό των παραπάνω παραγόντων (Πίν. 3.6). Τα μήλα του μάρτυρα ήταν ωριμότερα από αυτά των άλλων μεταχειρίσεων μετά από 145ημ ψυχοσυντήρησης (Γράφ. 3.21). Ακολουθούσαν σε ωρίμανση τα μήλα της Fogging-DPA.



**Γράφημα 3.21.** Μεταβολή του δείκτη ωρίμανσης των μήλων ποικ. Starking Delicious με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 2,2

Τα μήλα, όσο παρέμεναν στο ψυγείο, τόσο αυξανόταν η ωριμότητά τους, όπως ήταν αναμενόμενο, λόγω του μεταβολισμού του αμύλου σε ΔΣΣ. Η ωρίμανση των μήλων αυξάνονταν περαιτέρω στις περισσότερες μεταχειρίσεις με την παραμονή των μήλων στο ράφι (Πίν. 3.6) χωρίς ουσιώδεις διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων παρόλο που συχνά οι

μεταχειρίσεις με DPA ήταν στατιστικώς πιο ανώριμα σε σχέση με το μάρτυρα (Γράφ. 3.22). Τα μήλα στις 145ημ+4dSL είχαν μέση τιμή δείκτη ωρίμανσης 54, τιμή η οποία προδίδει μήλο υπερβολικά ώριμο με ελάχιστα οξέα που συνήθως δεν είναι αποδεκτό από τους καταναλωτές.



**Γράφημα 3.22.** Τιμές του δείκτη ωρίμανσης των μήλων ποικ. Starking Delicious μετά από ψυχοσυντήρηση 60, 90 και 145 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ= 2,2

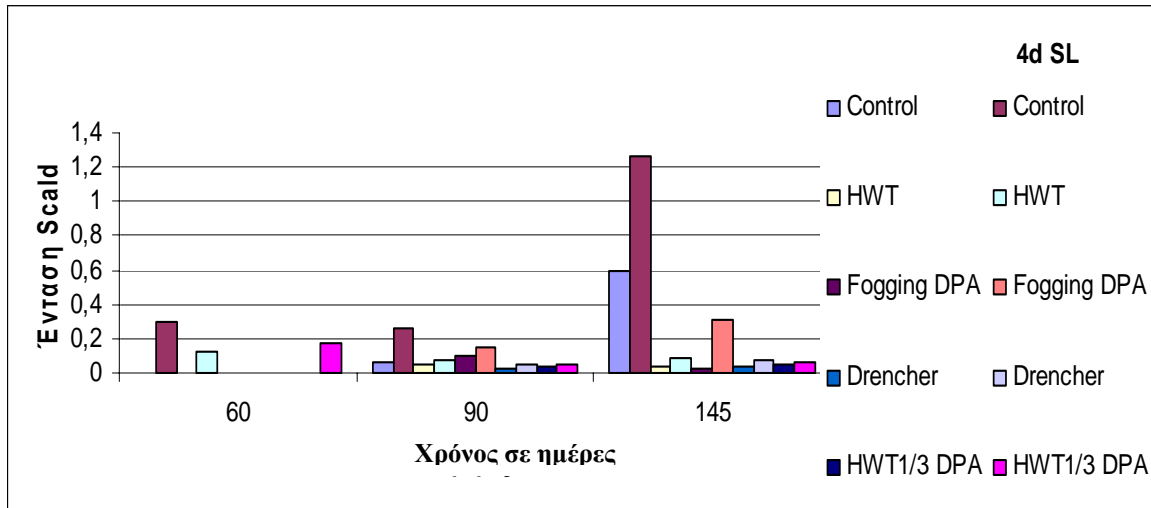
### 3.5.1. Ένταση και ποσοστό καρπών με Scald ποικ. Starking Delicious

Η ένταση του Scald διαφοροποιήθηκε σημαντικά ανάμεσα στις μεταχειρίσεις, τους χρόνους δειγματοληψίας, αλλά και με το συνδυασμό των 2 παραπάνω παραγόντων (Πίν. 3.7, Γράφ. 3.23). Το Scald εμφανίστηκε στο μάρτυρα μετά από 90ημ ψυχοσυντήρησης και αυξήθηκε σημαντικά μετά από 145ημ ψυχοσυντήρησης. Κατά την παραμονή στο ράφι Scald εμφανίστηκε και μετά από 60ημ συντήρησης, παρέμεινε στα ίδια επίπεδα στις 90ημ+4dSL, ενώ αυξήθηκε σημαντικά και έφτασε στη μεγαλύτερη τιμή του στις 145ημ+4dSL. Η μεταχείριση Fogging-DPA μείωσε αισθητά την ένταση του Scald σε σχέση με το μάρτυρα, ενώ κατά τη ζωή στο ράφι μετά από 90 και 145ημ βρέθηκε μια αύξηση της έντασης σε σχέση με την ένταση αμέσως μετά την έξοδο από το ψυγείο και τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις πλην του μάρτυρα. Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις, δηλ. οι HWT, HWT1/3DPA και Drencher-DPA, είχαν μικρότερη ένταση Scald από το μάρτυρα μετά από 145ημ ψυχοσυντήρηση και μετά από τη ζωή στο ράφι όλες τις περιόδους μέτρησης. Στις 90 ημ ψυχοσυντήρησης και τετραήμερη παραμονή στο ράφι μόνο τα μήλα του μάρτυρα αύξησαν την ένταση του Scald κατά **75%**. Οι άλλες μεταχειρίσεις του πειράματος είχαν παρόμοια ένταση Scald.

**Πίνακας 3.7.** Μεταβολή της έντασης του Scald, του ποσοστού (%) των μήλων με Scald και μήλων με Scald μεγαλύτερο από το 25% της επιφάνειάς τους (Scald>1) ποικ. Starking Delicious.

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ	ΧΡΟΝΟΣ Ημέρες	Ένταση Scald (μέσος όρος)	Ποσοστό καρπών με Scald (%)	Ποσοστό καρπών με Scald>1 (%)
<b>Μάρτυρας</b>	60	0	0	0
	60+4d SL	0,29	28,0	1,3
	90	0,07	5,7	0,95
	90+4d SL	0,26	21,3	5,0
	145	0,60	30,0	17,6
	145+4d SL	1,27	58,5	30,8
<b>HWT</b>	60	0	0	0
	60+4d SL	0,12	9,3	1,3
	90	0,05	4,1	0
	90+4d SL	0,08	7,8	0,8
	145	0,04	4,3	0
	145+4d SL	0,08	8,2	0
<b>Fogging DPA</b>	60	0	0	0
	60+4d SL	0	0	0
	90	0,10	6	2,5
	90+4d SL	0,15	12,5	4,0
	145	0,02	2,0	0
	145+4d SL	0,31	20,0	9,3
<b>Drencher</b>	60	0	0	0
	60+4d SL	0	0	0
	90	0,02	2,2	0
	90+4d SL	0,05	2,6	2,1
	145	0,04	4,0	0
	145+4d SL	0,08	7,7	0
<b>HWT<sup>1</sup>/<sub>3</sub> DPA</b>	60	0	0	0
	60+4d SL	0,17	17,3	0
	90	0,03	3,3	0
	90+4d SL	0,04	4,3	0
	145	0,06	4,0	0,5
	145+4d SL	0,06	5,0	1,3
<b>Σημαντικότητα</b>				
<b>Μεταχείριση Χρόνος Μεταχείριση * Χρόνος</b>		***	***	***
		***	***	***
		***	***	***
EΣΔ <sub>0,05</sub>		0,05	2,7	1,5

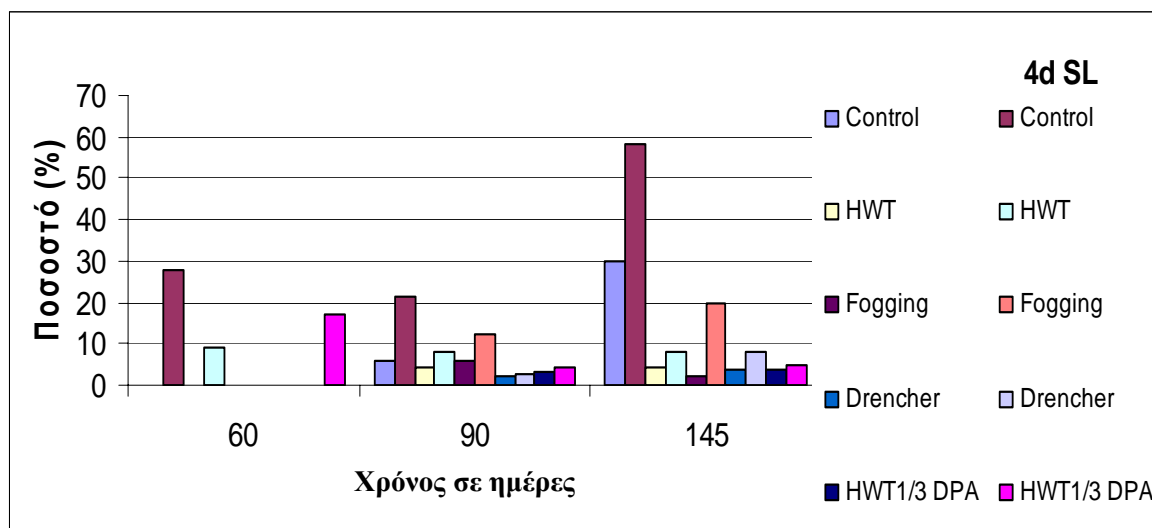




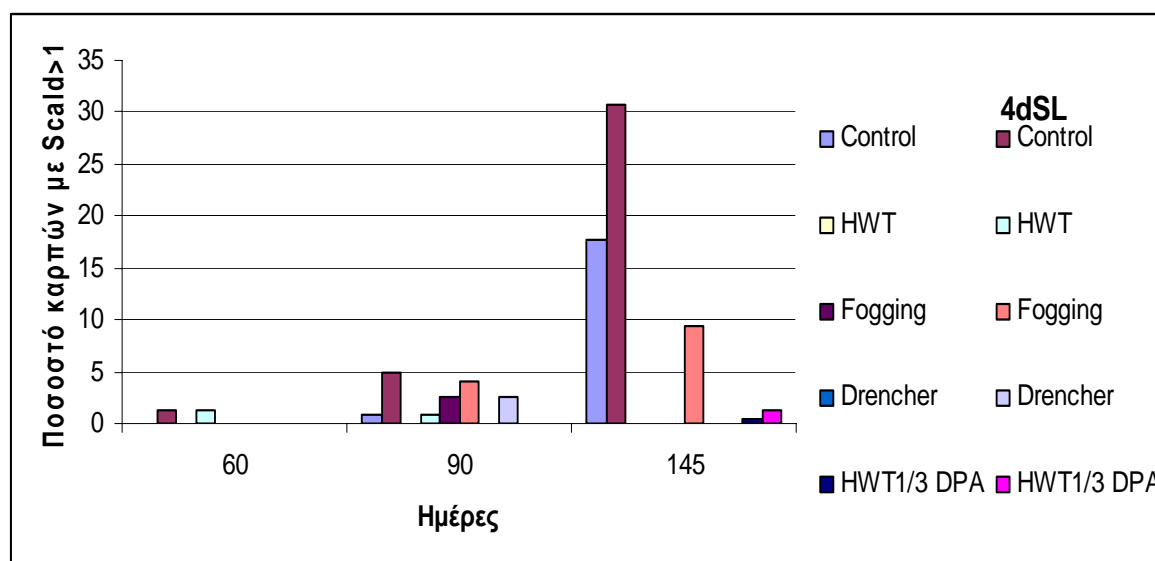
**Γράφημα 3.23.** Ένταση του Scald μήλων ποικ. Starking Delicious στις 60, 90, 145 ημ και μετά από τετραήμερη παραμονή στο ράφι για τις μεταχειρίσεις του πειρ. στη Ζαγορά. ΕΣΔ= 0,05

Το ποσοστό των καρπών με Scald διέφερε σημαντικά ανάμεσα στις μεταχειρίσεις, στους χρόνους δειγματοληψίας, αλλά και στην αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων (Πίν. 3.7, Γράφ. 3.24). Στο μάρτυρα παρουσιάστηκε το υψηλότερο % καρπών με Scald αμέσως μετά την ψυχοσυντήρηση μόνο στην έξοδο των 145ημ. Επίσης, μετά τη ζωή στο ράφι τα μήλα του μάρτυρα είχαν το υψηλότερο % μήλων με Scald μετά από 60, 90 και 145ημ (Γραφ. 3.24). Κατά τη μέτρηση των 90ημ+4dSL όλες οι μετρήσεις είχαν μικρότερα % καρπών με Scald από το μάρτυρα ενώ τα % στις δύο ανωτέρω μεταχειρίσεις ήταν μικρότερα από τις 60ημ+4dSL. Τέλος, κατά τη μέτρηση των 145ημ πριν και μετά τη ζωή στο ράφι όλες οι μετρήσεις είχαν μικρότερα % καρπών με Scald από το μάρτυρα. Βέβαια η μεταχείριση Fogging-DPA είχε υψηλότερες τιμές % καρπών με Scald μετά τη ζωή στο ράφι στις 90 και 145ημ. Στην μεταχείριση Fogging-DPA ανάμεσα στις 90ημ και 90+4d SL το ποσοστό των μήλων με Scald αυξήθηκε **52%** και στις 145ημ με 145+4d SL **90%** πράγμα που φανερώνει την αναποτελεσματικότητα της μεταχείρισης για μακροχρόνια συντήρηση των μήλων ή για επιτυχημένη εφάπαξ εμπορική εφαρμογή (μία εφαρμογή αμέσως μετά την συγκομιδή).

Κόκκινα μήλα με ένταση Scald μέχρι και 1 (έως 25% της επιφάνειας με Scald) δεν διαφέρουν εμπορικά από τα μήλα χωρίς Scald διότι δεν μπορεί να τα διακρίνει ο καταναλωτής. Το ποσοστό των μήλων με Scald >1 διέφερε σημαντικά ανάμεσα στις μεταχειρίσεις, στους χρόνους δειγματοληψίας αλλά και στην αλληλεπίδραση των 2 παραγόντων ( Πίν. 3.7, Γράφ. 3.25). Ελάχιστοι καρποί όλων των μεταχειρίσεων είχαν Scald >1 μέχρι και μετά τη ζωή στο ράφι των 90ημ. Στις 145ημ πριν και μετά τη ζωή στο ράφι στο μάρτυρα βρέθηκαν σημαντικά υψηλά % καρπών με Scald >1, ενώ στις άλλες μεταχειρίσεις δεν βρέθηκαν σχεδόν καθόλου καρποί με Scald >1 πλην του Fogging-DPA μετά τη ζωή στο ράφι.



**Γράφημα 3.24.** Ποσοστό (%) μήλων ποικ. Starking Delicious με επιφανειακό έγκαιμα (Scald) στις 60, 90 και 145 ημέρες ψυχοσυντήρησης και μετά από τετραήμερη παραμονή στο ράφι (4d SL) στις μεταχειρίσεις του πειράματος στη Ζαγορά. ΕΣΔ=2,7



**Γράφημα 3.25.** Ποσοστό (%) μήλων ποικ. Starking Delicious με επιφανειακό έγκαιμα (Scald) πάνω από ένταση 1, κατά την δειγματοληψία στις 60, 90, 145 ημέρες και μετά από παραμονή στο ράφι για 4 ημέρες, στις μεταχειρίσεις του πειράματος στη Ζαγορά.ΕΣΔ=1,5

Γενικότερα, θα μπορούσαμε να πούμε ότι όλες οι μεταχειρίσεις, εκτός από τα μήλα που χρησιμοποιήθηκαν για μάρτυρες, συνέβαλλαν στη σημαντική μείωση του Scald στα μήλα ποικ. Starking Delicious σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι πιο αποτελεσματικές μεταχειρίσεις φαίνεται ότι ήταν αυτές που χρησιμοποιήθηκε DPA, όπου συχνά εκτός από το Scald επηρεάστηκαν και τα άλλα ποιοτικά χαρακτηριστικά.

### 3.6 ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΗΛΩΝ ΠΟΙΚ. GRANNY SMITH

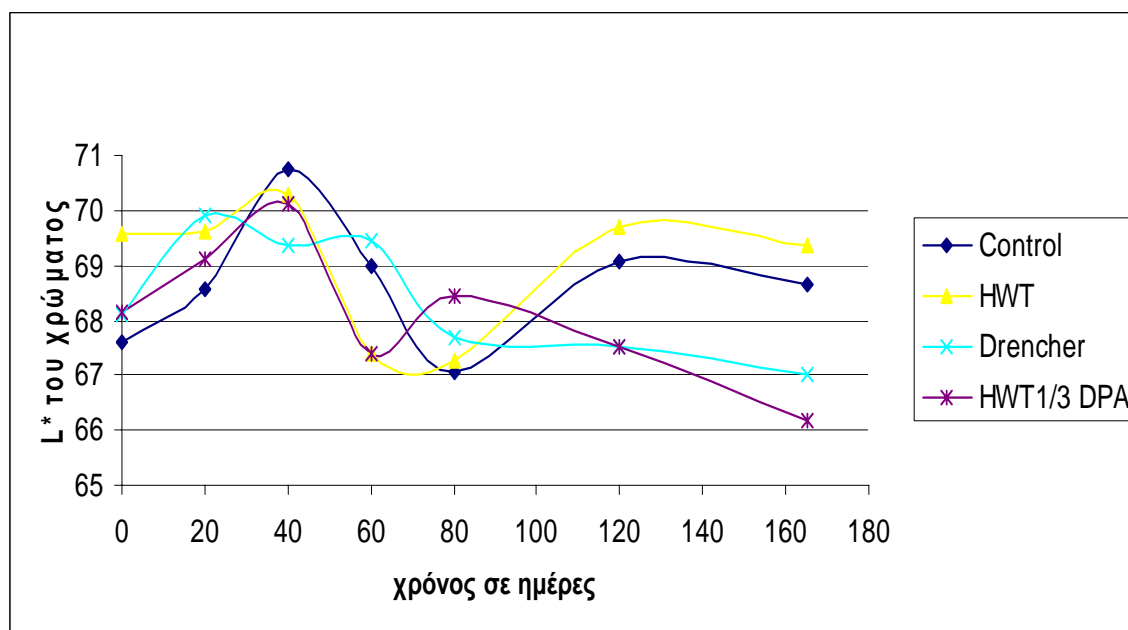
Τα χαρακτηριστικά του χρώματος στα μήλα ποικ. Granny Smith φαίνονται στον Πίν. 3.8.

**Πίνακας 3.8.** Μεταβολή των παραμέτρων του χρώματος φλοιού σε μήλα ποικ. Granny Smith από την Αγιά Λαρίσης κατά τη συντήρηση ή παραμονή τους στο ράφι (SL).

ΜΕΤΑ-ΧΕΙΡΙΣΗ	ΧΡΟΝΟΣ Ημέρες	Δείκτης L*	Δείκτης a*	Δείκτης b*	Chroma	Hue (°)
<b>Μάρτυρας</b>	0	67,5	-10,3	38,7	40,1	104,9
	20	68,5	-8,6	41,5	42,4	101,7
	40	70,7	-7,8	43,5	44,2	100,2
	60	68,9	-8,2	42,7	43,5	100,8
	80	67,0	-7,9	42,7	43,4	100,6
	80+4d SL	69,3	-6,5	46,8	47,3	97,9
	120	69,0	-6,6	43,7	44,3	98,6
	165	68,6	-5,5	44,7	45,1	97
	165+4d SL	69,4	-3,5	46,6	46,7	94,3
<b>HWT</b>	0	69,5	-8,4	43,3	44,2	101
	20	69,6	-8,7	42,1	43,0	101,7
	40	70,2	-8,1	44,1	44,8	100,4
	60	67,3	-8,4	43,1	43,9	101,0
	80	67,2	-8,5	43,5	44,3	101,1
	80+4d SL	70,5	-6,7	45,5	46,0	98,5
	120	69,7	-6,3	44,8	45,2	98,0
	165	69,3	-6,3	43,5	44,0	98,3
165+4d SL	70,0	-4,7	45,7	45,9	95,9	
<b>Drencher</b>	0	68,1	-9,3	42,5	43,5	102,4
	20	69,8	-8,4	42,4	43,3	101,1
	40	69,3	-8,4	42,7	43,5	101,1
	60	69,4	-7,7	42,2	42,9	100,3
	80	67,6	-8,3	42,2	43,0	101,1
	80+4d SL	70,2	-6,8	44,2	44,7	98,7
	120	67,5	-4,3	43,7	44,4	99,5
	165	67,0	-6,5	42,6	43,1	98,7
165+4d SL	68,6	-4,8	44,8	45,1	96,2	
<b>HWT</b>	0	68,1	-9,4	42,8	43,8	102,4

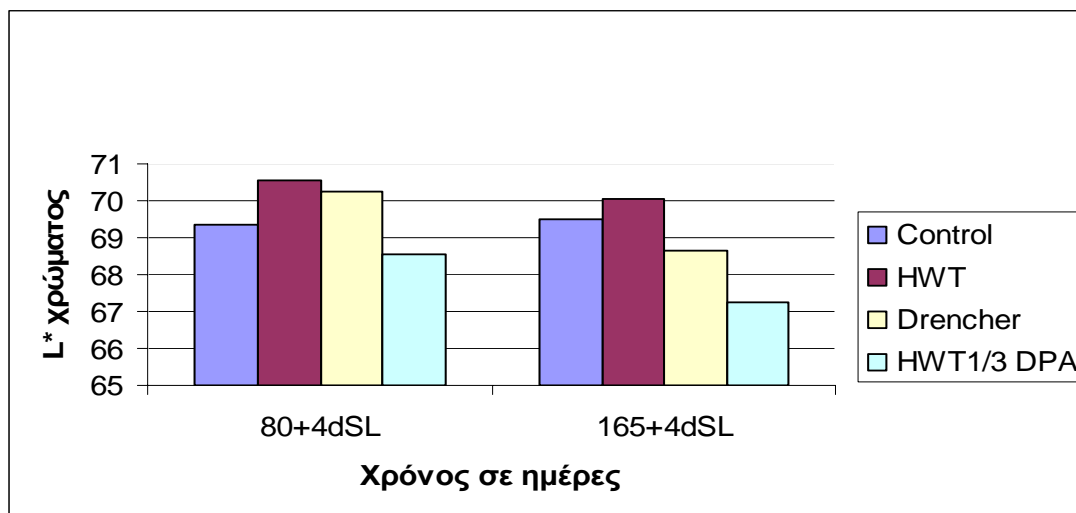
$1/3$ DPA	20	69,1	-8,3	43,6	44,4	100,8
	40	70,1	-8,4	43,1	44,0	101,0
	60	67,3	-8,4	43,1	43,9	101,0
	80	68,4	-7,3	41,4	42,1	100,1
	80+4d SL	68,5	-7,3	44,7	45,3	99,3
	120	67,5	-7,8	41,4	42,2	100,6
	165	66,1	-7,9	40,6	41,4	101,0
	165+4d SL	67,2	-6,5	42,4	43,0	98,7
<b>Σημαντικότητα</b>						
<b>Μεταχείριση</b> <b>Χρόνος</b> <b>Μεταχείριση * χρόνος</b>		***	*	***	***	NS
		***	***	***	***	NS
		***	*	***	***	NS
ΕΣΔ <sub>0,05</sub>		0,5	0,6	0,6	0,5	-

Η παράμετρος  $L^*$  του χρώματος του φλοιού των μήλων ποικ. Granny Smith ήταν μεγαλύτερη στα μήλα της HWT αμέσως μετά τη μεταχείριση και 120 και 165ημ ψυχοσυντήρησης (Πίν. 3.8, Γράφ. 3.26). Τις χαμηλότερες τιμές  $L^*$  (λιγότερο φωτεινά) μετά από 165ημ ψυχοσυντήρησης είχαν τα μήλα της μεταχείρισης HWT1/3DPA. Ενδιάμεσες τιμές είχαν τα μήλα του μάρτυρα και της Drencher-DPA. Γενικά πάντως οι αυξομειώσεις και το εύρος που παρουσίασαν παρότι έδωσαν στατιστικές διαφορές, εν τούτοις είναι ασήμαντες για να αξιολογήσουν την αλλαγή χρώματος λόγω συντήρησης, θερμού νερού ή Scald..



**Γράφημα 3.26.** Μεταβολή της παραμέτρου  $L^*$  του χρώματος του φλοιού μήλων ποικ. Granny Smith με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,5

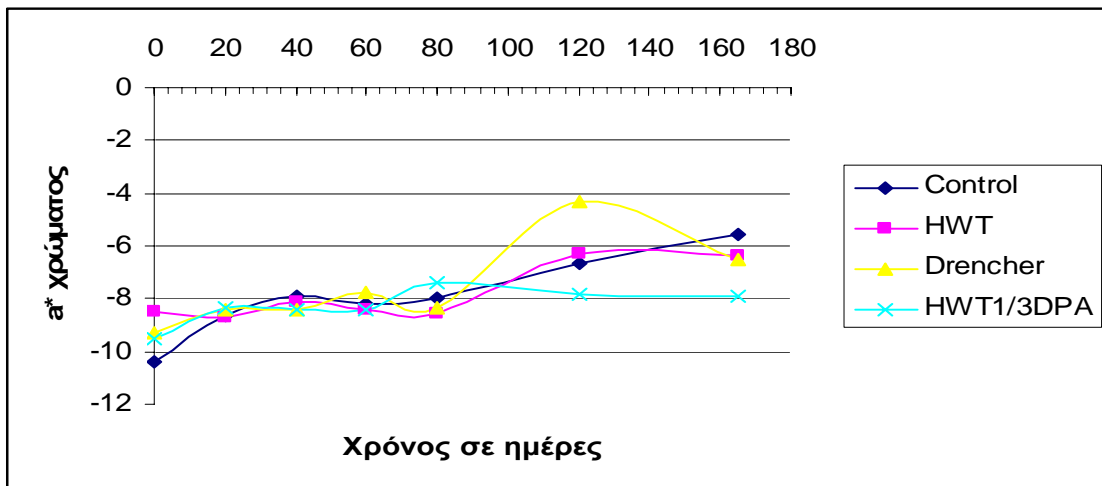
Με την παραμονή των μήλων στο ράφι η φωτεινότητά τους αυξήθηκε (Πίν. 3.8, Γράφ. 3.27). Τα μήλα της HWT είχαν μεγαλύτερη φωτεινότητα και της HWT1/3DPA μικρότερη από τον μάρτυρα μετά από παραμονή στο ράφι.



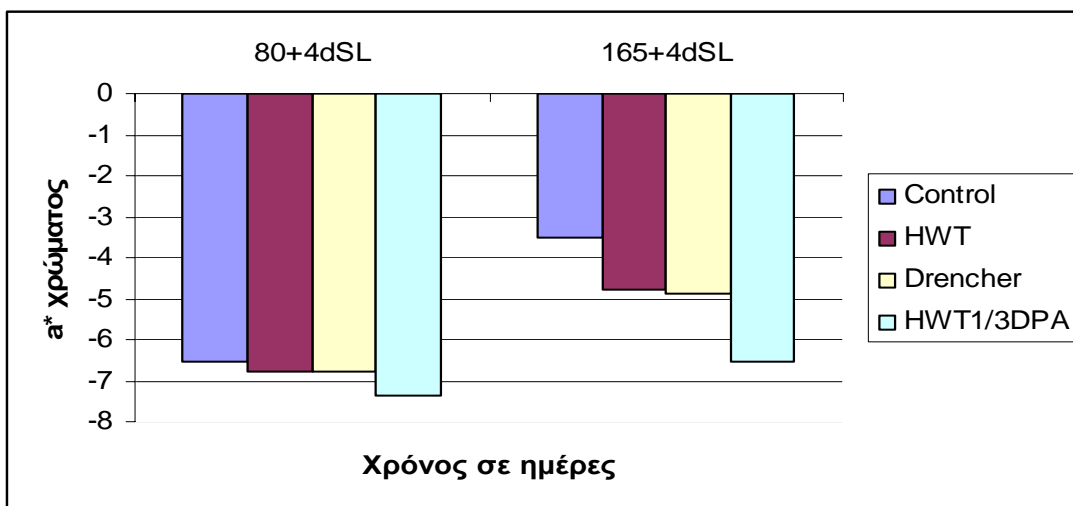
**Γράφημα 3.27.** Τιμές της παραμέτρου L\* του χρώματος φλοιού μήλων ποικ. Granny Smith μετά από ψυχοσυντήρηση 80 και 165 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,5

Η παράμετρος a\* του χρώματος του φλοιού των μήλων ποικ. Granny Smith αυξήθηκε σταδιακά με το χρόνο (έγινε λιγότερο πράσινο) για όλες τις μεταχειρίσεις (Πίν. 3.8 , Γράφ. 3.27). Τα μήλα της μεταχείρισης Drencher-DPA είχαν την υψηλότερη τιμή a\* από όλες τις μεταχειρίσεις μετά από 120ημ ψυχοσυντήρησης, ενώ τα μήλα της HWT1/3DPA είχαν τη μικρότερη τιμή μετά από 120 και 165ημ ψυχοσυντήρησης. Διαφορές σημαντικές αλλά πρακτικά χωρίς νόημα βρέθηκαν και στις μετρήσεις από 0 έως 80ημ. Μετά την παραμονή στο ράφι στις 80ημ η παράμετρος a\* του χρώματος του φλοιού των μήλων δεν άλλαξε σημαντικά αλλά στις 165ημ μόνο με 4ημ σε θερμοκρασία δωματίου το πράσινο χρώμα μειώθηκε σημαντικά καθώς οι καρποί είχαν μερικώς γεράσει και οι διεργασίες αποδιοργάνωσης (όπως η απώλεια χλωροφύλλης) επιταχύνθηκαν. Βέβαια τα μήλα όλων των μεταχειρίσεων, και ιδιαίτερα της μεταχείρισης HWT1/3DPA, ήταν πιο πράσινα από το μάρτυρα μετά την παραμονή στο ράφι, εκτός από τη μέτρηση των 80+4dSL της HWT και Drencher-DPA που ο δείκτης a\* δεν επηρεάστηκε σημαντικά (Γράφ. 3.29). Στις 165+4d SL τα μήλα των μεταχειρίσεων HWT και HWT1/3DPA ήταν **25%** λιγότερο πράσινα σε σχέση με τα μήλα του μάρτυρα για την ίδια δειγματοληψία, ενώ τα μήλα της Drencher-DPA **46%**.

Επειδή η παράμετρος b\* εκφράζεται μέσα από την παράμετρο Chroma και αυτή παρουσιάζεται εδώ για να περιγράψει την ‘καθαρότητα’ του πράσινου χρώματος του φλοιού των μήλων ποικ. Granny Smith. Όσο πιο μεγάλο είναι το Chroma τόσο πιο καθαρό είναι το χρώμα του καρπού (απομακρύνεται από το γκρι).



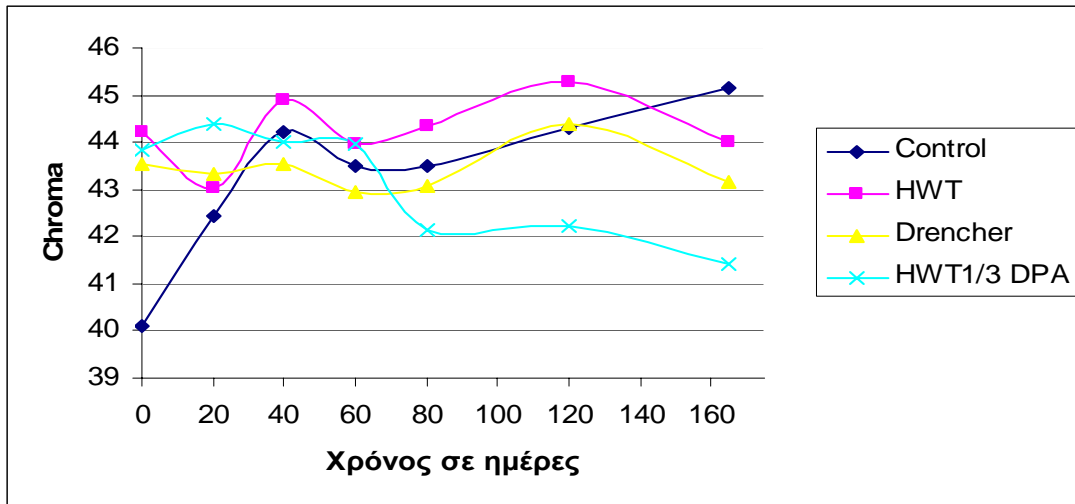
**Γράφημα 3.28.** Μεταβολή της παραμέτρου  $a^*$  του χρώματος του φλοιού μήλων ποικ. Granny Smith με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,6



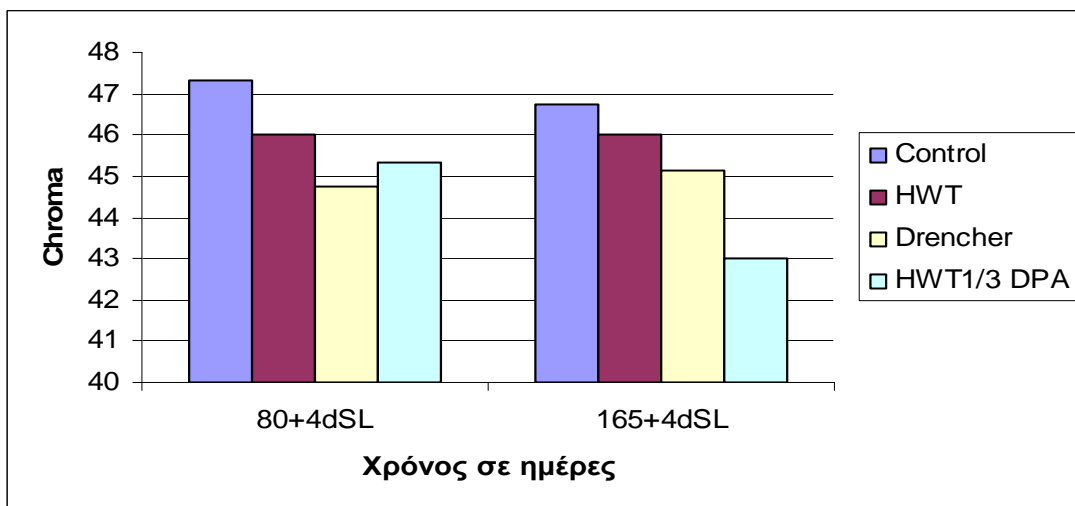
**Γράφημα 3.29.** Τιμές της παραμέτρου  $a^*$  του χρώματος φλοιού μήλων ποικ. Granny Smith μετά από ψυχοσυντήρηση 80 και 165 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,6

Ο παράγοντας Chroma του χρώματος του φλοιού των μήλων του πειράματος διέφερε σημαντικά μεταξύ των μεταχειρίσεων, διαφοροποιήθηκε σημαντικά κατά την παραμονή των μήλων στο ψυγείο, αλλά επηρεάστηκε και από την αλληλεπίδραση των 2 παραπάνω παραγόντων (μεταχείριση και χρόνος) (Πίν. 3.8, Γράφ. 3.30). Τα μήλα που μεταχειρίστηκαν με HWT είχαν το καθαρότερο χρώμα σε όλες τις εξόδους πλην των 20ημ σε σχέση με τις μεταχειρίσεις με DPA. Τα μήλα του μάρτυρα, ενώ είχαν τις χαμηλότερες τιμές Chroma στη συγκομιδή από όλες τις μεταχειρίσεις και τις περισσότερες φορές χαμηλότερες από τη μεταχείριση HWT, τελικά μετά από 165ημ ψυχοσυντήρηση είχαν την υψηλότερη τιμή. Τέλος, τα μήλα της μεταχείρισης HWT1/3DPA είχαν το λιγότερο καθαρό χρώμα μετά από μακρά

συντήρηση (δηλ. μετά τις 80ημ ψυχοσυντήρησης). Με το χρόνο συντήρησης δεν τροποποιήθηκε ουσιαστικά η παράμετρος Chroma, ενώ με τη ζωή στο ράφι η καθαρότητα του χρώματος αυξήθηκε ιδιαίτερα στο μάρτυρα. Αποτέλεσμα του τελευταίου ήταν κατά τη ζωή στο ράφι η καθαρότητα χρώματος να είναι χαμηλότερη σε όλες τις μεταχειρίσεις (ιδιαίτερα αυτές με DPA) σε σχέση με το μάρτυρα (Γράφ. 3.31).



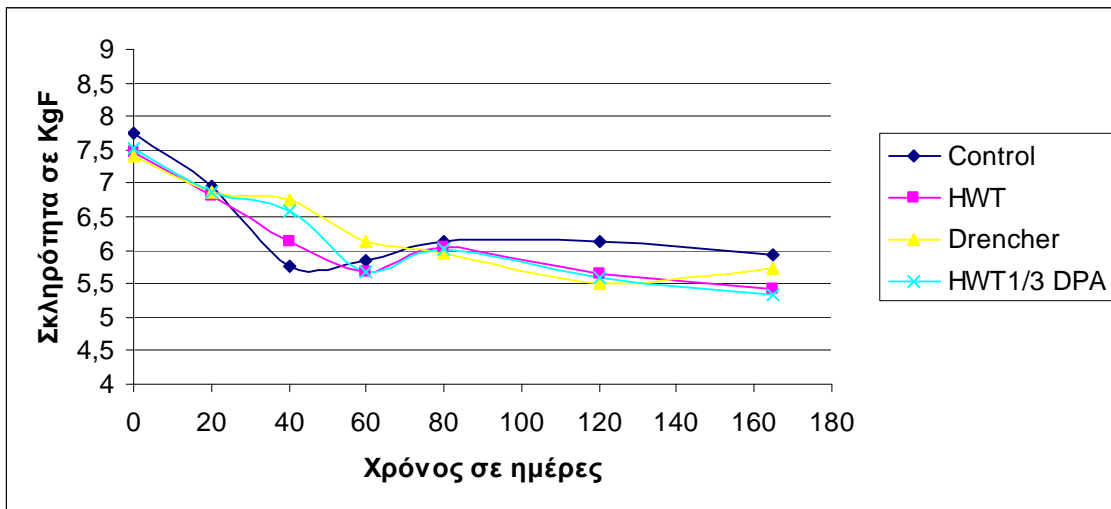
**Γράφημα 3.30.** Μεταβολή της παραμέτρου Chroma του χρώματος του φλοιού μήλων ποικ. Granny Smith με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,5



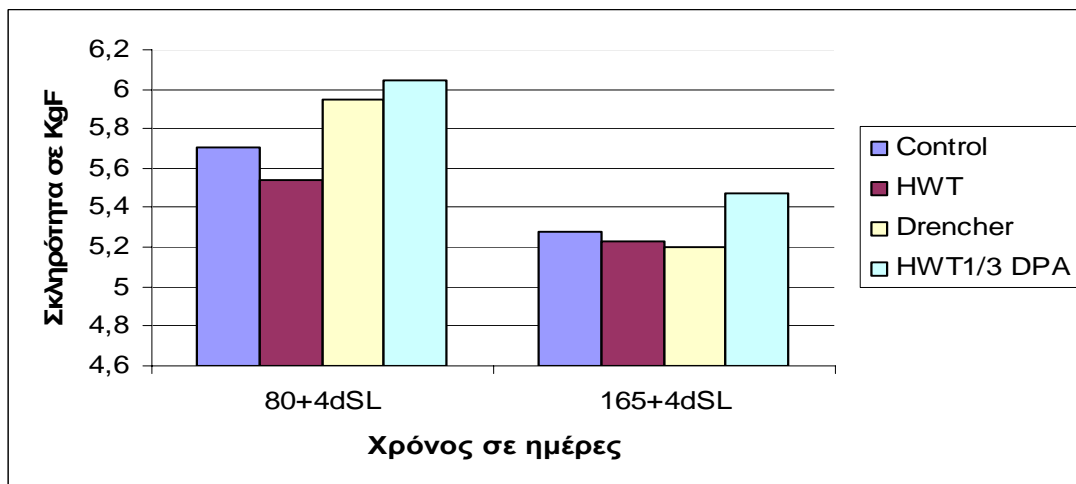
**Γράφημα 3.31.** Τιμές της παραμέτρου Chroma του χρώματος φλοιού μήλων ποικ. Granny Smith μετά από ψυχοσυντήρηση 80 και 165 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,5.

Η απόχρωση (*hue*) του χρώματος του φλοιού των μήλων ποικ. Granny Smith δεν διαφοροποιήθηκε σημαντικά ούτε από τις μεταχειρίσεις ούτε με το χρόνο συντήρησης (Πίν. 3.8).

Η σκληρότητα της σάρκας επηρεάστηκε σημαντικά από τις μεταχειρίσεις και το χρόνο συντήρησης. Παρά τις σημαντικές ποικίλες διαφορές ανά έξοδο μεταξύ των μεταχειρίσεων ουσιαστικά μόνο τα μήλα του μάρτυρα ήταν πιο σκληρά από τα μήλα των άλλων μεταχειρίσεων μετά από 120ημ ψυχοσυντήρησης (Πίν. 3.9, Γράφ. 3.32). Η απώλεια σκληρότητας ήταν σταδιακή με το χρόνο έως τις 60ημ ψυχοσυντήρησης, ενώ για το υπόλοιπο της συντήρησης η απώλεια σκληρότητας ήταν αμελητέα. Επιπλέον μείωση της σκληρότητας είχαμε με τη ζωή στο ράφι και ιδιαίτερα μετά από 165ημ ψυχοσυντήρησης οπότε και τα μήλα έφτασαν στη χαμηλότερη σκληρότητά τους, λίγο πιο πάνω από τα 5kgF. Σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν βρέθηκαν μετά τη τετραήμερη ζωή των μήλων της ποικιλίας στο ράφι (Γράφ. 3.33).



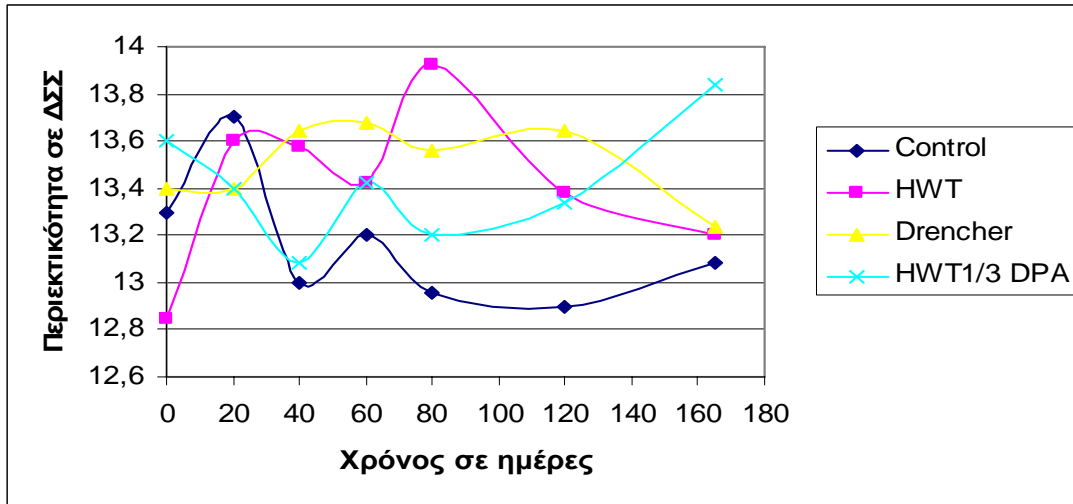
**Γράφημα 3.32.** Μεταβολή της σκληρότητας της σάρκας μήλων ποικ. Granny Smith με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,3



**Γράφημα 3.33.** Τιμές της σκληρότητας της σάρκας μήλων ποικ. Granny Smith μετά από ψυχοσυντήρηση 80 και 165 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,3



Η περιεκτικότητα του χυμού των μήλων σε ΔΣΣ δεν επηρεάστηκε σημαντικά κατά την διάρκεια παραμονής των μήλων στο ψυγείο, ούτε άλλαξε ουσιαστικά μεταξύ των μεταχειρίσεων παρά τις χρονικά ποικίλες διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (Πίν. 3.9, Γράφ. 3.34). Γενικά φαίνεται ότι τα μήλα είχαν δεχθεί χαμηλές θερμοκρασίες πριν τη συγκομιδή και σχεδόν όλο το άμυλο είχε υδρολυθεί σε σάκχαρα στη συγκομιδή.



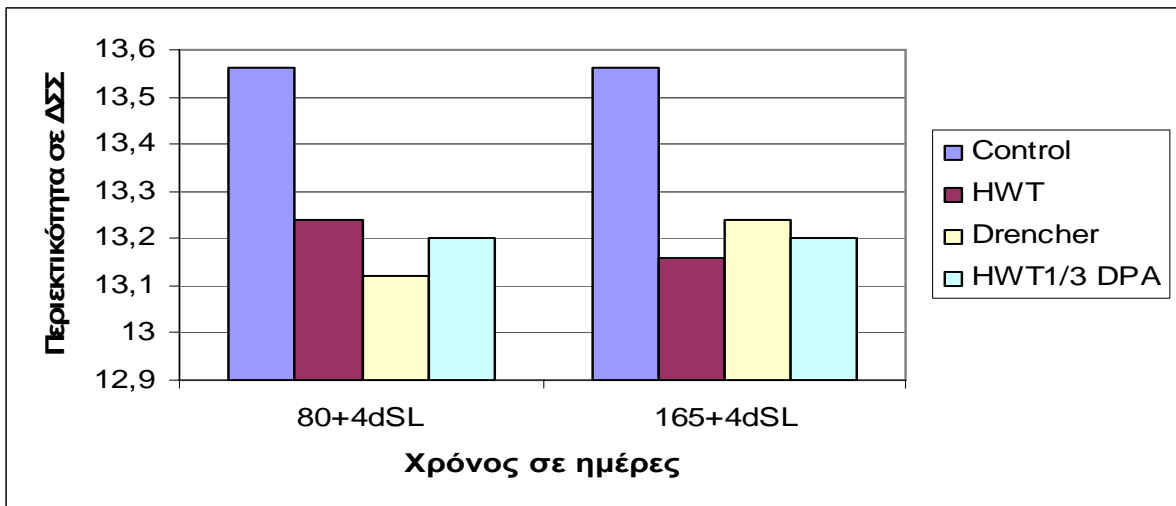
**Γράφημα 3.34.** Μεταβολή της περιεκτικότητας σε διαλυτά στερεά συστατικά μήλων ποικ. Granny Smith με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,2

**Πίνακας 3.9.** Μεταβολή των ποιοτικών χαρακτηριστικών σκληρότητα σάρκας, περιεκτικότητα χυμού σε διαλυτά στερεά συστατικά, ενεργός οξύτητα (pH) και ολική οξύτητα χυμού (εκφρασμένη σε % μηλικό οξύ) σε μήλα ποικ. Granny Smith από την Αγία Λαρίσης με το χρόνο.

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ	ΧΡΟΝΟΣ Ημέρες	Σκληρότη τα σάρκας (kgF)	ΔΣΣ (%)	pH χυμού	Οξύτητα (%) μηλικό οξύ	Δείκτης Ωρίμανσης
Μάρτυρας	0	7,7	13,3	3,3	0,66	19,9
	20	6,9	13,7	3,4	0,63	21,6
	40	5,7	13,0	3,35	0,63	20,4
	60	5,8	13,2	3,0	0,6	21,8
	80	6,1	12,9	3,0	0,62	20,6
	80+4d SL	5,7	13,5	2,9	0,57	23,6
	120	6,1	12,9	3,4	0,47	23,2
	165	5,9	13,0	3,5	0,48	27,0
	165+4d SL	5,2	13,5	3,4	0,47	28,6
	HWT	0	7,4	12,8	3,3	0,67
20		6,8	13,6	3,3	0,67	20,0

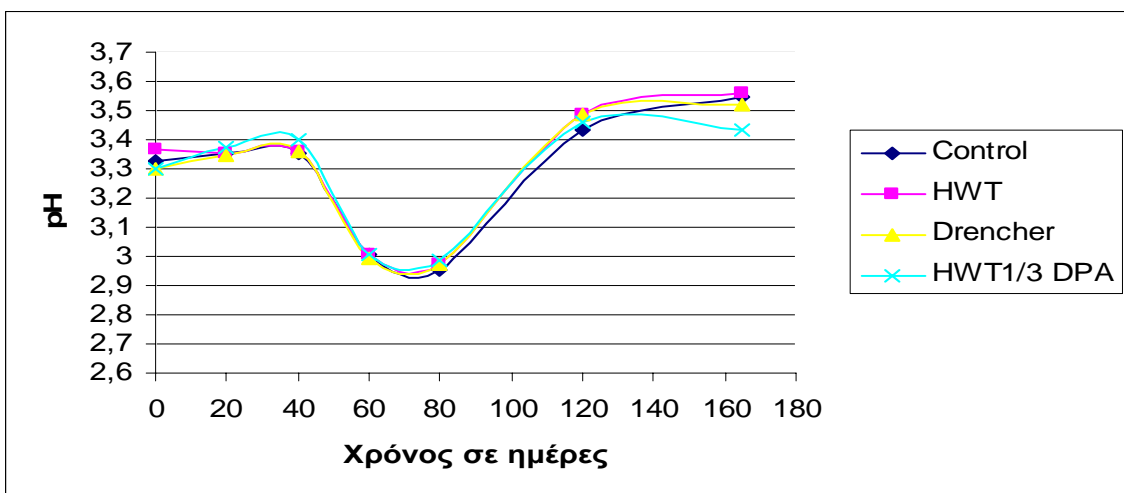
	40	6,1	13,5	3,3	0,65	20,8
	60	5,6	13,4	3,0	0,63	21,1
	80	6,0	13,9	2,9	0,62	22,3
	80+4d SL	5,5	13,2	3,0	0,57	23,2
	120	5,6	13,3	3,4	0,6	22,0
	165	5,4	13,2	3,5	0,51	25,9
	165+4d SL	5,2	13,1	3,4	0,48	27,3
Drencher	0	7,4	13,4	3,3	0,64	20,7
	20	6,8	13,4	3,3	0,73	18,3
	40	6,7	13,6	3,4	0,64	21,0
	60	6,1	13,6	2,9	0,65	20,7
	80	5,9	13,5	2,9	0,65	20,7
	80+4d SL	5,9	13,1	3,0	0,57	22,6
	120	5,5	13,6	3,4	0,59	22,9
	165	5,7	13,2	3,5	0,55	23,9
	165+4d SL	5,2	13,2	3,4	0,50	26,4
HWT1/3 DPA	0	7,5	13,6	3,3	0,67	20,2
	20	6,8	13,4	3,4	0,71	18,8
	40	6,5	13,1	3,4	0,63	20,7
	60	5,6	13,4	3,0	0,63	21,1
	80	6,0	13,2	2,9	0,66	19,9
	80+4d SL	6,0	13,2	2,9	0,54	24,2
	120	5,5	13,3	3,4	0,63	20,9
	165	5,3	13,8	3,4	0,59	23,2
	165+4d SL	5,4	13,2	3,4	0,50	25,9
<b>Σημαντικότητα</b>						
Μεταχείριση Χρόνος Μεταχείριση * Χρόνος		*	NS	*	***	***
		***	NS	***	***	***
		***	*	***	*	***
ΕΣΔ <sub>0,05</sub>		0,3	0,2	0,1	0,02	0,6

Μετά την παραμονή στο ράφι τα μήλα όλων των μεταχειρίσεων είχαν σημαντικά μικρότερη περιεκτικότητα σε ΔΣΣ σε σχέση με το μάρτυρα εξαιτίας μιας αύξησης στα ΔΣΣ του μάρτυρα σε σχέση με τις τιμές αμέσως μετά την έξοδο από το ψυγείο (Γράφ. 3.35).

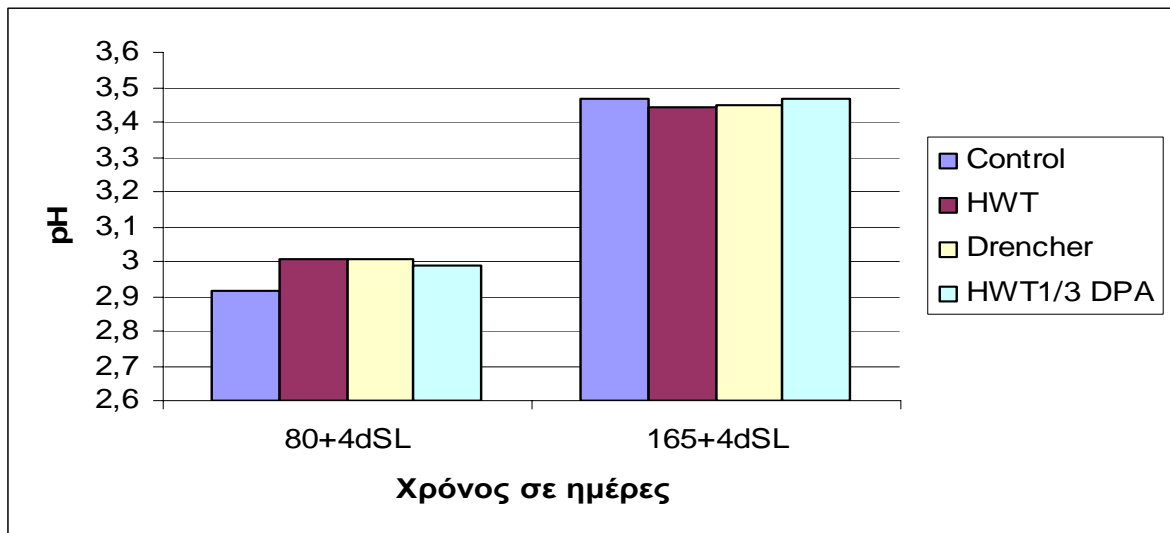


**Γράφημα 3.35.** Τιμές της περιεκτικότητας των μήλων ποικ. Granny Smith σε διαλυτά στερεά συστατικά μετά από ψυχοσυντήρηση 80 και 165 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,2

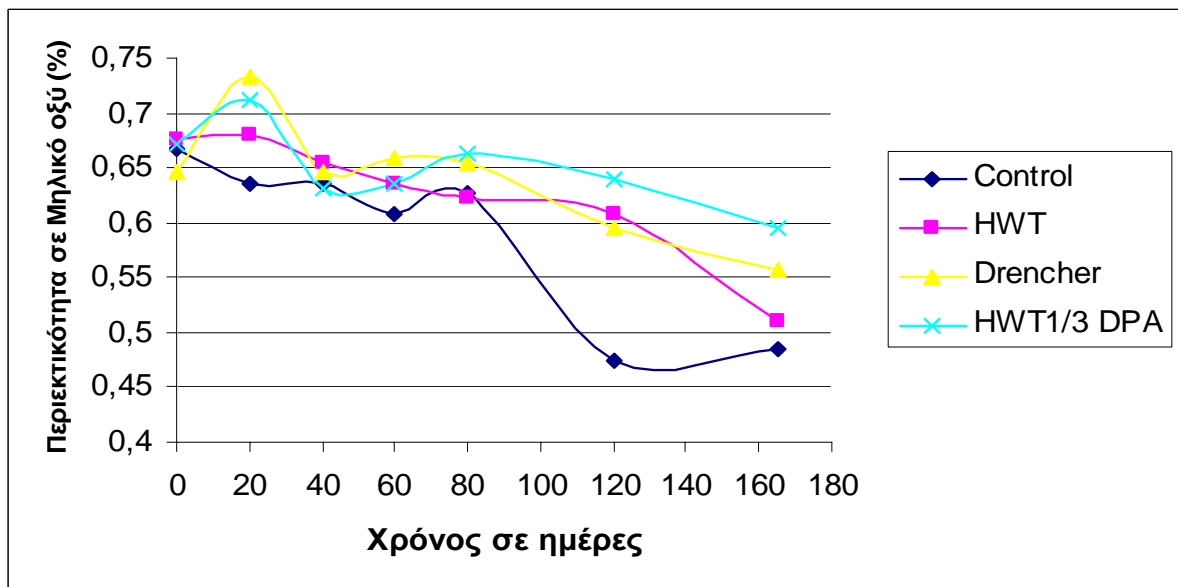
Η ενεργός οξύτητα (pH) του χυμού των μήλων ποικ. Granny Smith διαφοροποιήθηκε σημαντικά μεταξύ των μεταχειρίσεων, με το χρόνο συντήρησης, αλλά και την αλληλεπίδραση μεταξύ των παραπάνω παραγόντων (Πίν. 3.9). Παρά τις σημαντικές διαφορές ανά έξοδο μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν ήταν ουσιώδεις (Γράφ. 3.36). Με το χρόνο το pH μετά από μια περίοδο σταθερών τιμών έδειξε μια απότομη πτώση στις 60 και 80ημ ψυχοσυντήρησης και μια απότομη άνοδο μετά έως το τέλος της ψυχοσυντήρησης. Μια σταδιακή αύξηση του pH ήταν αναμενόμενη στα μήλα με τη διάρκεια στη συντήρηση. Το pH δεν τροποποιήθηκε μετά τη ζωή στο ράφι σε σχέση με τις τιμές του αμέσως μετά την έξοδο από το ψυγείο ούτε και διαφορές βρέθηκαν μεταξύ των μεταχειρίσεων μετά τη ζωή στο ράφι (Γράφ. 3.37)



**Γράφημα 3.36.** Μεταβολή του pH του χυμού μήλων ποικ. Granny Smith με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,1.



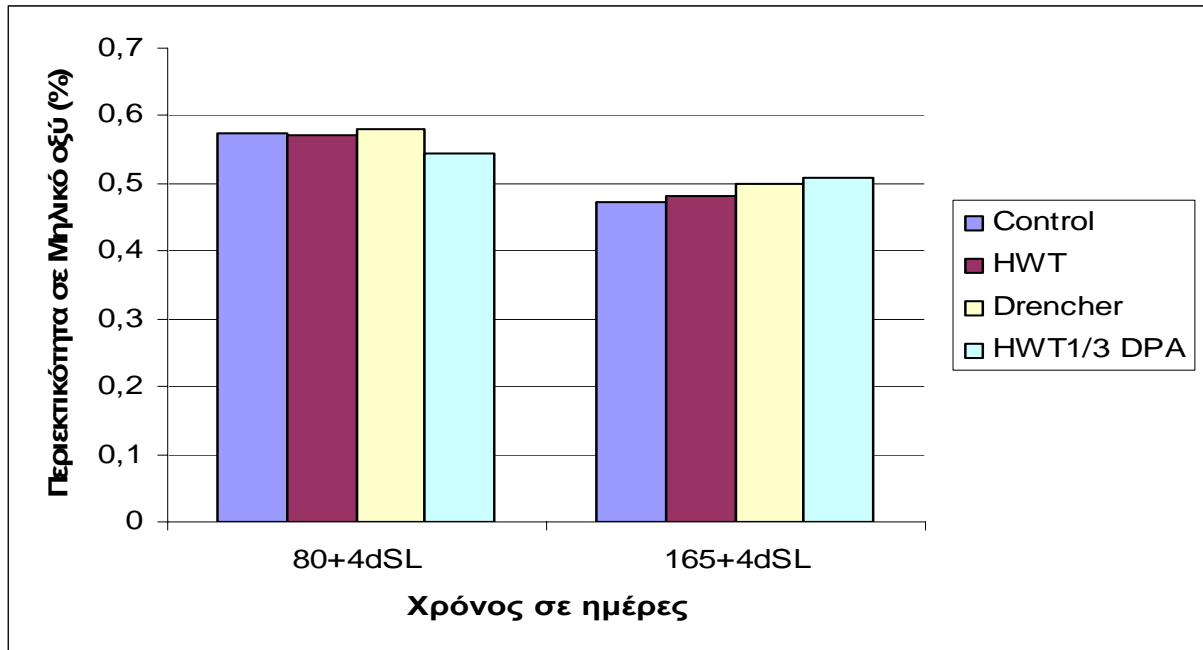
**Γράφημα 3.37.** Τιμές του pH του χυμού μήλων ποικ. Granny Smith μετά από ψυχοσυντήρηση 80 και 165 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,1.



**Γράφημα 3.38.** Μεταβολή της ολικής οξύτητας του χυμού μήλων ποικ. Granny Smith με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,02

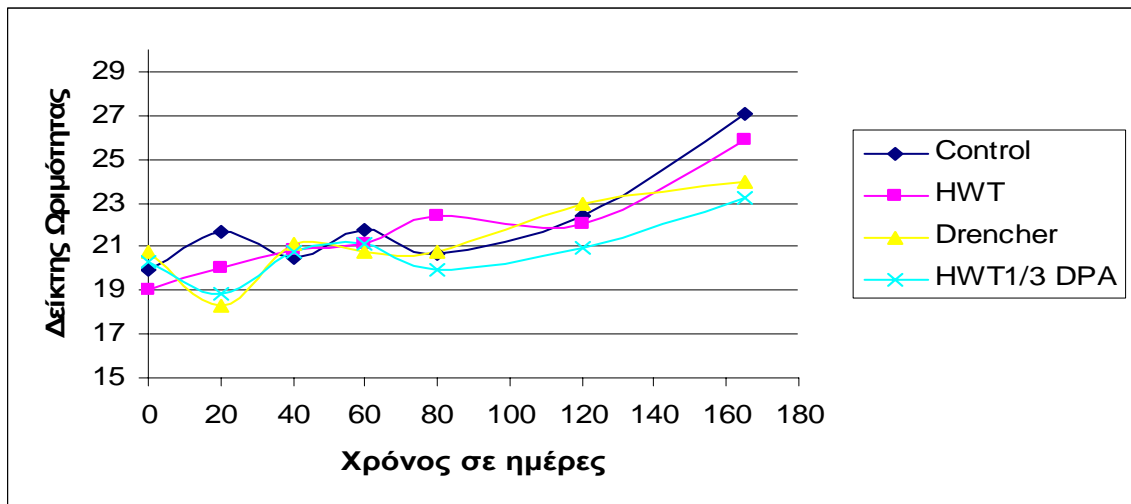
Η ολική οξύτητα του χυμού των μήλων ποικ. Granny Smith διαφοροποιήθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια της παραμονής των μήλων στο ψυγείο, μεταξύ των μεταχειρίσεων και από την αλληλεπίδραση της μεταχείρισης με το χρόνο (Πίν. 3.9). Τη μικρότερη ολική οξύτητα την είχαν τα μήλα που χρησιμοποιήθηκαν για μάρτυρες, ενώ οι άλλες μεταχειρίσεις είχαν ενδιάμεσες τιμές ολικής οξύτητας με αρκετή παραλλακτικότητα ανά έξοδο και τη μεταχείριση HWT1/3DPA να έχει τις υψηλότερες τιμές οξύτητας μετά από μακρά συντήρηση (Πίν. 3.9, Γράφ. 3.38). Με το χρόνο συντήρησης είχαμε μια σταδιακή μείωση της οξύτητας η οποία στη συγκομιδή ήταν πάνω από 0,65% ενώ μετά από 165ημ συντήρησης είχε μειωθεί κάτω από το

0,6%. Περαιτέρω μείωση της οξύτητας χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων βρέθηκε με τη ζωή στο ράφι όταν στις 165+4dSL η οξύτητα έφτασε κάτω από 0,5% (Γράφ. 3.39).

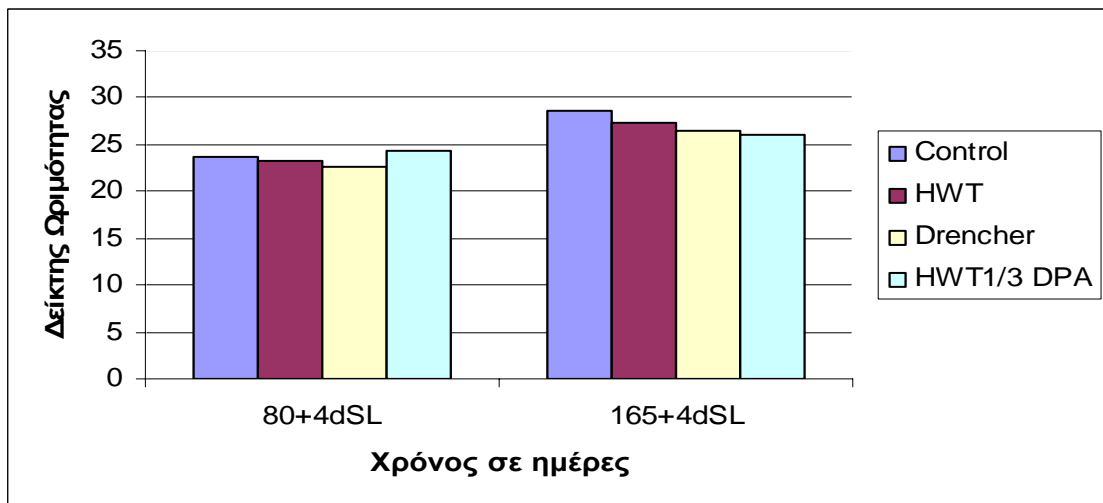


**Γράφημα 3.39.** Τιμές της ολικής οξύτητας του χυμού μήλων ποικ. Granny Smith μετά από ψυχοσυντήρηση 80 και 165 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,02

Ο δείκτης ωρίμανσης των μήλων επηρεάστηκε σημαντικά από το χρόνο παραμονής των μήλων στο ψυγείο, από τις μεταχειρίσεις, αλλά και από την αλληλεπίδραση των 2 παραπάνω παραγόντων. Τα μήλα που χρησιμοποιήθηκαν για μάρτυρες ήταν τα ωριμότερα (22,9) ανάμεσα στις μεταχειρίσεις της ποικ. Starking Delicious. Ωριμα ήταν και τα μήλα της μεταχείρισης HWT ενώ τα πιο ανώριμα ήταν τα μήλα της μεταχείρισης HWT1/3DPA (Πίν. 3.9, Γράφ. 3.40). Τα μήλα ωριμάζουν με το πέρασμα του χρόνου συντήρησης λόγω της απώλειας οξύτητας και σταθερής σχετικά συγκέντρωσης ΔΣΣ. Μετά την παραμονή των μήλων στο ράφι τα μήλα όλων των μεταχειρίσεων της ποικιλίας ωρίμασαν περαιτέρω, με μεγαλύτερη παρατηρούμενη ωρίμανση στα μήλα της μεταχείρισης HWT1/3DPA. Τέλος, μετά την τετραήμερη παραμονή των μήλων στα ράφι στην δειγματοληψία των 165ημ όλες οι μεταχειρίσεις είχαν πιο ανώριμα μήλα σε σχέση με το μάρτυρα (Γράφ. 3.41).



**Γράφημα 3.40.** Μεταβολή του δείκτη ωρίμανσης των μήλων της ποικ. Granny Smith με το χρόνο συντήρησης. ΕΣΔ = 0,6



**Γράφημα 3.41.** Τιμές του δείκτη ωρίμανσης των μήλων της ποικ. Granny Smith μετά από ψυχοσυντήρηση 80 και 165 ημερών και 4 ημέρες ζωή στο ράφι. ΕΣΔ = 0,6

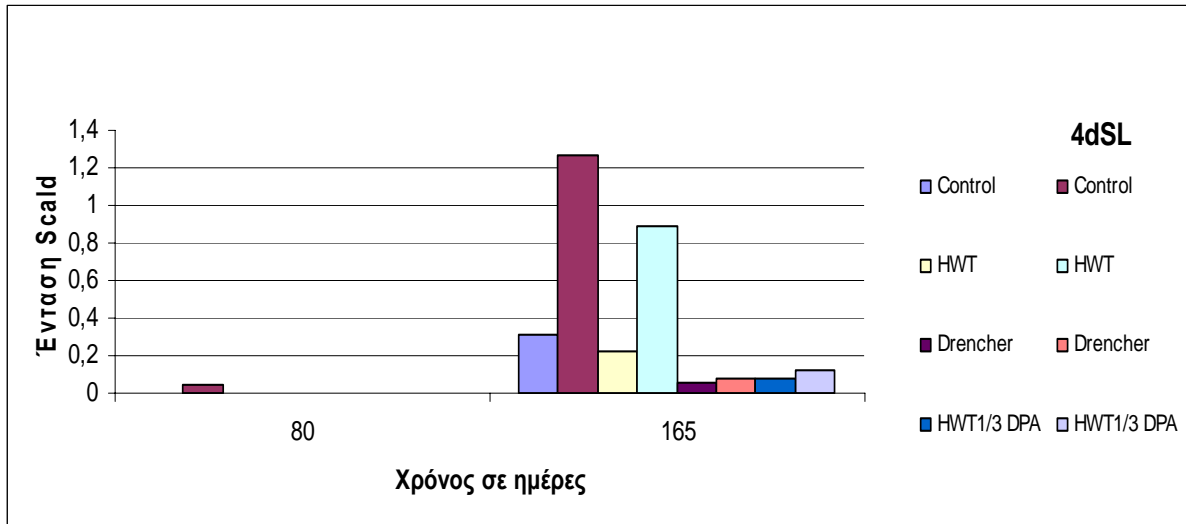
### 3.6.1. Ένταση και ποσοστό καρπών με Scald ποικ. Granny Smith

Η ένταση του Scald διέφερε σημαντικά μεταξύ των μεταχειρίσεων, του χρόνου δειγματοληψίας, καθώς και στο συνδυασμό των 2 παραγόντων (Πίν. 3.10). Στις 80 ημ και 80ημ+4dSL η ένταση του Scald ήταν μηδενική για όλες τις μεταχειρίσεις πλην του μάρτυρα που η ένταση ήταν μηδενική μετά την έξοδο και πολύ χαμηλή μετά τη ζωή στο ράφι (Γράφ. 3.42). Η ένταση του Scald αυξήθηκε με την παραμονή στο ράφι σε σχέση με την ένταση αμέσως μετά την έξοδο. Αμέσως μετά την έξοδο στις 165ημ και μετά τη ζωή στο ράφι τα μήλα του μάρτυρα είχαν την μεγαλύτερη ένταση Scald από όλες τις μεταχειρίσεις. Στις 165ημ+4dSL

παρατηρήθηκε η υψηλότερη ένταση Scald φυσικά στο μάρτυρα. Ακολουθούσαν τα μήλα της HWT με σημαντικά μικρότερη (κατά 43%) ένταση Scald σε σχέση με το μάρτυρα αλλά εμφανή, ενώ τα μήλα των μεταχειρίσεων Drencher-DPA και HWT1/3DPA είχαν παρόμοιες τιμές μεταξύ τους και πολύ μικρότερη ένταση Scald από το μάρτυρα.

**Πίνακας 3.10.** Μεταβολή της έντασης του επιφανειακού εγκαύματος (Scald), του ποσοστού (%) των μήλων με Scald και μήλων με Scald μεγαλύτερο από το 25% της επιφάνειάς τους (Scald>1) ποικ. Granny Smith.

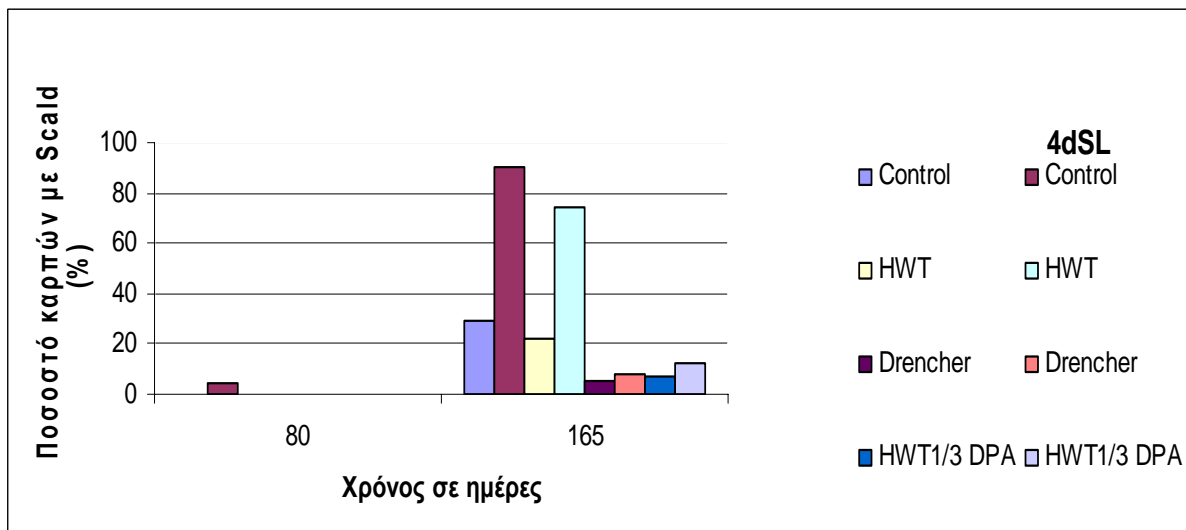
ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ	ΧΡΟΝΟΣ Ημέρες	Ένταση Scald (μέσος όρος)	Ποσοστό (%) καρπών με Scald	Ποσοστό (%) καρπών με Scald >1
<b>Μάρτυρας</b>	80	0	0	0
	80+4d SL	0,04	4	0
	165	0,31	29,6	1,2
	165+4d SL	1,27	90,0	30,9
<b>HWT</b>	80	0	0	0
	80+4d SL	0	0	0
	165	0,22	22,1	0
	165+4d SL	0,89	73,9	7,2
<b>Drencher</b>	80	0	0	0
	80+4d SL	0	0	0
	165	0,06	5,7	0
	165+4d SL	0,08	8,2	0
<b>HWT<sup>1</sup>/<sub>3</sub> DPA</b>	80	0	0	0
	80+4d SL	0	0	0
	165	0,08	7,5	0
	165+4d SL	0,13	12,6	0
<b>Σημαντικότητα</b>				
<b>Μεταχείριση Χρόνος Μεταχείριση * Χρόνος</b>		***	***	***
		***	***	***
		***	***	***
ΕΣΔ <sub>0,05</sub>		0,04	3,3	1,3



**Γράφημα 3.42.** Της έντασης του Scald μήλων ποικ. Granny Smith κατά την δειγματοληψία στις 80 και 165 ημ και μετά από 4d SL στις μεταχειρίσεις του πειράματος. ΕΣΔ=0,04

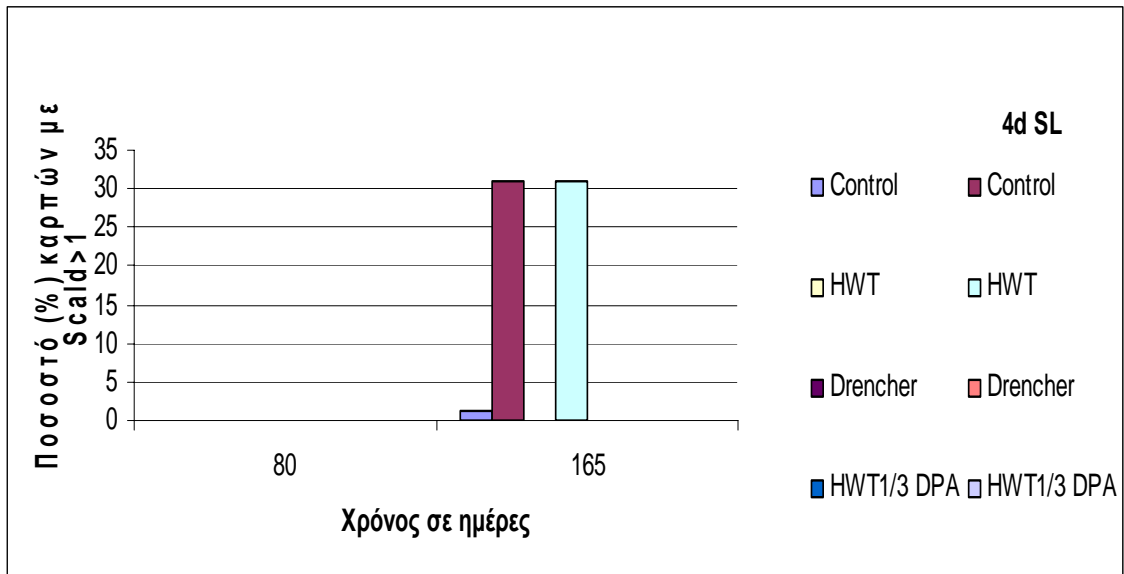
Το ποσοστό των μήλων με Scald έδωσε ακριβώς τα ίδια αποτελέσματα όπως και η ένταση Scald (Πίν. 3.10, Γράφ. 3.43).

Καρπούς με ένταση Scald>1 είχε για πρώτη φορά ο μάρτυρας μετά από την έξοδο των 165ημ (Πίν. 3.10, Γράφ. 3.44). Μετά τη ζωή στο ράφι ένα σημαντικό και παρόμοιο μεταξύ των μεταχειρίσεων % καρπών είχαν Scald >1 από τις μεταχειρίσεις του μάρτυρα και HWT.



**Γράφημα 3.43.** Τιμές του ποσοστού (%) των μήλων ποικ. Granny Smith με Scald κατά την δειγματοληψία στις 80 και 165 ημ και μετά από παραμονή για 4 ημέρες στο ράφι στις μεταχειρίσεις του πειράματος στην Αγιά. ΕΣΔ= 3,3





**Γράφημα 3.44.** Τιμές του ποσοστού (%) μήλων ποικ. Granny Smith με Scald>1, κατά την δειγματοληψία στις 80 και 165 ημ και μετά από παραμονή για ημέρες στο ράφι στις μεταχειρίσεις του πειράματος στην Αγιά. ΕΣΔ= 1,3

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

## 4.1. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ DPA ΣΤΑ ΜΗΛΑ

Η μέθοδος προσδιορισμού των υπολειμμάτων της DPA στα μήλα με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου μετά από εκχύλιση με κυκλοεξάνιο, χωρίς απαίτηση για επιπλέον καθαρισμό (Clean-Up), θεωρείται αξιόπιστη (Πίν. 3.1), απλή, αποτελεσματική και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αναλύσεις ρουτίνας σε μικρό σχετικά χρόνο και με μικρό κόστος. Το ποσοστό ανάκτησης της μεθόδου ήταν μέσα στα επιτρεπτά όρια για αναλύσεις υπολειμμάτων (70-110% με RSD<10), ενώ το LOD και το LOQ της μεθόδου ήταν 0,03 mg/kg και 0,10 mg/kg, αντίστοιχα. Το Ανώτερο επιτρεπόμενο όριο υπολειμμάτων της διφαινυλαμίνης στα μήλα, για την Ε.Ε., είναι 5 mg/kg. Το χρωματογραφικό σύστημα που χρησιμοποιήθηκε στη διάρκεια του πειράματος ήταν ιδιαίτερα σταθερό αφού η παραλλακτικότητα των καταγραφόμενων χρόνων κατακράτησης είχε RSD <0,28.

Πολλοί ερευνητές αναφέρουν ότι η DPA ή ουσία που μοιάζει με DPA ανιχνεύεται στα μήλα. Μήλα από οργανική γεωργία ή μήλα που συγκομίστηκαν από τα δέντρα παρατηρήθηκε ότι περιείχαν DPA σε μικροποσότητες (Bramlage *et al.*, 1996). Στα πειράματα της παρούσας διατριβής η ύπαρξη DPA στα μήλα του μάρτυρα αποδίδεται στην υψηλή σχετικά συγκέντρωση της ουσίας στους χώρους εφαρμογής που πειράματος, ενώ οι μετρούμενες τιμές στα μήλα του μάρτυρα είναι κοντά στο LOD της μεθόδου.

Στα μήλα ποικ. Starking Delicious που μεταχειρίστηκαν με HWT βρέθηκαν χαμηλές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων της DPA σε όλες τις εξόδους από τη ψυχορσυντήρηση, αν και αμέσως μετά την εμβάπτιση (0 ημέρες) το επίπεδο των υπολειμμάτων ήταν μη προσδιοριζόμενο (Πίν. 3.3). Με την εμβάπτιση των μήλων στο θερμό νερό μέρος των κηρών της φλούδας απομακρύνεται και καθώς τα μήλα της μεταχείρισης τοποθετήθηκαν σε θάλαμο με υψηλή συγκέντρωση DPA στον αέρα ( στον θάλαμο αυτό είχε προηγηθεί εφαρμογή με DPA με υποκαπνισμό) ποσότητα DPA επικάθισε στα μήλα και μετά την επανακρυστάλλωση των κηρών τα υπολείμματα ενσωματώθηκαν στην φλούδα. Υπολείμματα DPA σε αμεταχειρίστη μήλα έχουν παρατηρηθεί και σε άλλες έρευνες και αποδόθηκαν σε απόθεμα υπολειμμάτων στον ψυκτικό θάλαμο από προηγούμενη καλλιεργητική περίοδο. Μάλιστα το επίπεδο των υπολειμμάτων στον αέρα του ψυκτικού θαλάμου, στα καφάσια και τους τοίχους του βρέθηκε

περίπου 15 φορές χαμηλότερο από αυτό σε θάλαμο με μήλα που είχαν μεταχειρισθεί πρόσφατως μεταχειρισθεί με DPA (Bramlage *et al.*, 1996).

Τα μήλα και των δύο ποικιλιών της μεταχείρισης HWT1/3DPA παρουσίασαν την υψηλότερη συγκέντρωση υπολειμμάτων DPA σε σχέση με τις άλλες μεταχειρίσεις που χρησιμοποιήθηκε DPA (Πίν. 3.2, 3.4). Γενικότερα όσο πιο μεγάλη είναι η θερμοκρασία που γίνεται η εφαρμογή ενός Φ.Π. τόσο αυξάνεται και η απορρόφησή του από τους καρπούς. Λιπόφιλες ουσίες έχουν την τάση να δεσμεύονται από τους κηρούς και η συγκέντρωσή τους να είναι υψηλότερη από τις υδρόφιλες. Σε εργασίες μετασυλλεκτικών μεταχειρίσεων με χρήση θερμού νερού πάνω από 40° C και μειωμένη δόση σε Φ.Π. έχει παρατηρηθεί ότι τα υπολείμματα των δραστικών ουσιών ήταν υψηλότερα από αυτά της κανονικής δόσης Φ.Π. (συνιστώμενη δοσολογία και νερό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος) (Schirra *et al.*, 1997). Η αποτελεσματικότητα της παραπάνω μεθόδου εφαρμογής μυκητοκτόνων στη μείωση των σήψεων ωστόσο δεν θεωρήθηκε πάντα ικανοποιητική για εμπορική εφαρμογή (Schirra *et al.*, 1997). Αντίθετα, όταν η θερμοκρασία του διαλύματος εφαρμογής DPA κυμάνθηκε από 13° C μέχρι 22° C, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στις συγκεντρώσεις υπολειμμάτων μεταξύ των ενδιάμεσων θερμοκρασιών. Ακόμα τα υπολείμματα DPA από εφαρμογή στους 13-22° C ήταν χαμηλότερα από αυτά σε θερμοκρασία εφαρμογής 4° C (Lee *et al.*, 1984). Άρα η θερμοκρασία του διαλύματος με το Φ.Π. είναι καθοριστικός παράγοντας για την ποσότητα του Φ.Π. που θα απορροφήσει ένας καρπός με κηρώδη φλοιό.

Τα υπολείμματα της DPA στα μήλα της μεταχείρισης Drencher-DPA βρέθηκαν χαμηλότερα από αυτά της HWT1/3DPA και υψηλότερα από αυτά της μεταχείριση Fogging-DPA (Πίν. 3.2 & 3.4). Όταν η εφαρμογή της DPA γίνει με υποκαπνισμό (fogging) τα υπολείμματα της ουσίας βρέθηκε να υποβαθμίζονται με ταχύτερο ρυθμό σε σχέση με την εφαρμογή σε Drencher ή HWT1/3DPA (Πίν. 3.2). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, αν και η μεταχείριση με υποκαπνισμό θεωρείται η καταλληλότερη για περίοδο ψυχοσυντήρησης στους 2-3 μήνες, μήλα που αναμένεται να παραμείνουν στη συντήρηση για μεγάλο χρονικό διάστημα (πάνω από 4-5 μήνες) είναι απαραίτητο να υφίστανται και δεύτερη εφαρμογή με υποκαπνισμό (Moggia και Yuri, 2003). Η προσέγγιση αυτή επαληθεύτηκε και από τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος, με την αναποτελεσματικότητα της μιας εφαρμογής DPA με υποκαπνισμό για μακροχρόνια προστασία των μήλων, που παρατηρήθηκε. Σε όλες τις δειγματοληψίες τα μήλα της ποικ. Starking Delicious που μεταχειρίστηκαν με Fogging-DPA είχαν χαμηλότερα υπολείμματα DPA σε σχέση με τα μήλα της Drencher-DPA, ενώ αυτά της HWT1/3DPA είχαν τα υψηλότερα, με εξαίρεση τις 2 τελευταίες δειγματοληψίες, όπου βρέθηκαν παρόμοια επίπεδα υπολειμμάτων. Για τα μήλα της ποικ. Granny Smith σε αυτά της

μεταχείρισης HWT1/3DPA στις περισσότερες δειγματοληψίες (έως και 80+4d SL) παρατηρήθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις υπολειμμάτων DPA από ότι σε αυτά της Drencher-DPA, ενώ και ο ρυθμός υποβάθμισης των υπολειμμάτων φαίνεται να είναι ταχύτερος. Σε κάθε περίπτωση, όμως, στις μεταχειρίσεις με DPA μετά τις 40 ημέρες ψυχοσυντήρησης, τα υπολείμματα της DPA στα μήλα ήταν κάτω από το Ευρωπαϊκό MRL (5mg/kg). Με τη θέρμανση των μήλων αυξάνεται η μεταβολική δραστηριότητα των καρπών που μεταβολίζουν ταχύτερα την DPA σε δευτερογενείς μεταβολίτες μιας και έχει διαπιστωθεί ότι η DPA δεν εξαχνώνεται από τους καρπούς αλλά μεταβολίζεται (Rudell *et al.*, 2005; Rudell *et al.*, 2006). Η παρατήρηση αυτή συμπεριλαμβάνει και τα μήλα που παρέμειναν επί τετραήμερο στο ράφι. Η υποβάθμιση των υπολειμμάτων διφαινυλαμίνης κατά την παραμονή τους στο ράφι βρέθηκε να είναι στατιστικώς σημαντική για τα μήλα και των δύο ποικιλιών.

Η διφαινυλαμίνη βρέθηκε να είχε μεγαλύτερη υπολειμματική δράση σε μήλα Red Delicious από ότι σε μήλα Granny Smith, Jonathan ή Rome Beauty όταν εφαρμόστηκε σε μήλα όλων των παραπάνω ποικιλιών με εμβάπτιση, στον ίδιο χρόνο και την ίδια συγκέντρωση (Lee *et al.*, 1984). Από τα πειράματα της παρούσας εργασίας δεν μπορεί να διαπιστωθεί κάτι ανάλογο λόγω των διαφορετικών συγκεντρώσεων της DPA που χρησιμοποιήθηκαν κατά την έκλουση από τα Drencher.

Στα μήλα του πειράματος μετά το ξεφλούδισμά τους βρέθηκαν υπολείμματα DPA που δεν ξεπερνούσαν τα 0,40 mg/Kg για την ποικ. Starking Delicious και 0,11 mg/Kg για την ποικ. Granny Smith, που δείχνει ότι το μεγαλύτερο μέρος της διφαινυλαμίνης βρίσκεται στη φλούδα. Η DPA έχει την ικανότητα να εισέρχεται στο εσωτερικό του μήλου από την φλούδα έως μερικά χιλιοστά κάτω από αυτήν στην σάρκα όπως παρατήρησε ο Rudell *et al.* (2005).

## 4.2. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΗΛΩΝ

Η παρουσία DPA επηρέασε τους παράγοντες  $a^*$ ,  $b^*$  και Chroma του χρώματος του φλοιού των μήλων της ποικ. Starking Delicious και όλους τους παράγοντες του χρώματος του φλοιού ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Chroma) των μήλων της ποικ. Granny Smith. Η παράμετρος *hue* του χρώματος του φλοιού δεν επηρεάστηκε και στις δύο ποικιλίες παρά την μακροχρόνια παραμονή των μήλων στην ψυχοσυντήρηση.

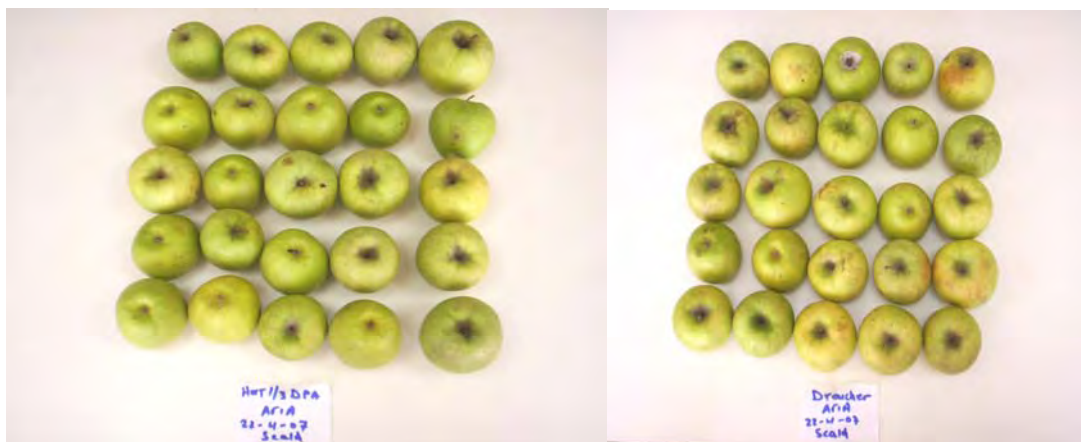
Στη διάρκεια του χρόνου ψυχοσυντήρησης στην ποικ. Starking Delicious επηρεάστηκαν σημαντικά μόνο οι παράγοντες του χρώματος της φλούδας ( $L^*$ ,  $b^*$  και Chroma), ενώ στη ποικ. Granny Smith όλοι οι παράγοντες του χρώματος που μελετήθηκαν εκτός από το hue (Πίν. 3.5 & 3.8). Με την παραμονή των μήλων της ποικ. Starking Delicious στο ράφι η ένταση της

φωτεινότητας και η παράμετρος  $a^*$  του χρώματος των καρπών δεν επηρεάστηκε σημαντικά, σε αντίθεση με τα μήλα της ποικ. Granny Smith που με την παραμονή τους στο ράφι η φωτεινότητά τους αυξήθηκε. Πιο φωτεινά (πρασινοκίτρινης απόχρωσης) ήταν τα μήλα της μεταχείρισης HWT, ενώ την μικρότερη φωτεινότητα την είχαν τα μήλα της HWT1/3DPA. Η παρουσία του αντιοξειδωτικού προστάτεψε την οξείδωση των χρωστικών (κυρίως της χλωροφύλλης) της φλούδας των μήλων ποικ. Granny Smith. Τα μήλα ποικ. Starking Delicious έχουν έντονο κόκκινο χρώμα που προκύπτει από τις κόκκινες χρωστικές του φλοιού των μήλων (ανθοκυάνες). Η περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες έχει βρεθεί να έχει αρνητική συσχέτιση με την περιεκτικότητα σε CTs και την ένταση του Scald (Barden και Bramlage, 1994). Σε αντίθεση, τα πράσινα μήλα ποικ. Granny Smith παίρνουν το χρώμα τους από τις πράσινες χρωστικές (χλωροφύλλες). Οι χλωροφύλλες είναι εκείνα τα συστατικά της φλούδας που με την οξείδωσή τους προκαλούν το καφέτιασμα του Scald (DeEll *et al.*, 1996). Στα μήλα που εμβαπτίστηκαν σε θερμό νερό, μετά την απομάκρυνση των κηρών και μέχρι τον επανακρυστάλλισμό τους, πιθανόν να εισήλθε στη φλούδα των καρπών υψηλότερη συγκέντρωση οξυγόνου και συντέλεσε στην αυξημένη οξείδωση της χλωροφύλλης (χλωροφυλλική οξειδάση) της φλούδας με αποτέλεσμα την επικράτηση των ξανθοφυλλών και των καροτενοειδών (Lurie, 1998). Τα μήλα της HWT1/3DPA ήταν τα λιγότερο φωτεινά από όλες τις άλλες μεταχειρίσεις γεγονός που δηλώνει ότι με την υψηλότερη συγκέντρωση της DPA στη φλούδα των μήλων διατήρησαν περισσότερο την ένταση του πράσινου χρώματός τους (μείωση των οξειδώσεων). Ο μάρτυρας και τα μήλα της Drencher-DPA είχαν παρόμοια ένταση φωτεινότητας, που ίσως να οφείλεται στο γεγονός ότι η DPA με τη διαβροχή παραμένει στα πρώτα επιφανειακά στρώματα του φλοιού, ενώ με τη χρήση θερμού νερού μπορεί και διεισδύει βαθύτερα ίσως και μέχρι τα πρώτα χιλιοστά της σάρκας.

Τα μήλα του μάρτυρα ήταν τα πιο κόκκινα μεταξύ των μεταχειρίσεων της ποικ. Starking Delicious. Ακολούθησαν τα μήλα που μεταχειρίστηκαν με θερμό νερό και έπειτα τα μήλα της Drencher-DPA και της Fogging-DPA. Τα μήλα του μάρτυρα ωρίμασαν χρωματικά περισσότερο από τα μήλα των άλλων μεταχειρίσεων. Το κόκκινο χρώμα οφείλεται στην κυριαρχία των ανθοκυανών σε σχέση με τις άλλες χρωστικές που οξειδώνονται με το πέρασμα του χρόνου. Η χλωροφύλλη μειώνεται με την ωρίμανση των καρπών και συνιστά το βασικό χρώμα του φλοιού. Οι κόκκινες, μπλε, και μοβ αποχρώσεις οφείλονται στη σύνθεση ανθοκυάνης. Το χαρακτηριστικό χρώμα των ώριμων καρπών οφείλεται στην παρουσία εστέρων της ξανθοφύλλης και της καροτίνης και το τελικό χρώμα καθορίζεται από τη σχέση των καροτινοειδών προς τις ξανθοφύλλες και την τυχόν ύπαρξη ανθοκυανών (Σφακιωτάκης, 1995). Χρωματικά όλες οι μεταχειρίσεις διατήρησαν περισσότερο ανώριμους τους καρπούς

τους με περισσότερη επίδραση αυτή των μεταχειρίσεων με DPA χωρίς θέρμανση (Fogging-DPA και Drencher-DPA). Η παρόμοια ένταση του κόκκινου χρώματος στους καρπούς που μεταχειρίστηκαν με θερμό νερό δηλώνει ότι η DPA δεν επηρεάζει σημαντικά την περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες στη φλούδα των μήλων ποικ. Starking Delicious ή ότι ο ρυθμός οξειδωσης των άλλων χρωστικών ήταν παρόμοιος.

Στην ποικ. Granny Smith τα λιγότερο πράσινα μήλα παρατηρήθηκαν στην HWT, ενώ οι άλλες μεταχειρίσεις είχαν ενδιάμεσες τιμές. Στην τελευταία δειγματοληψία (165+4dSL) τα μήλα της HWT1/3DPA ήταν καλύτερης εμφάνιση (πιο έντονου πράσινου χρώματος) σε σχέση με τα μήλα των άλλων μεταχειρίσεων ( Εικ. 4.1).



Εικ. 4.1. Διαφορά στην εμφάνιση μήλων ποικ. Granny Smith των μεταχειρίσεων HWT1/3DPA και Drencher-DPA στις 165+4dSL.

Το καθαρότερο χρώμα για την ποικ. Starking Delicious παρατηρήθηκε στα μήλα του μάρτυρα που είχαν και το εντονότερο κόκκινο χρώμα, ενώ στα μήλα της ποικ. Granny Smith στη μεταχείριση με HWT παρατηρήθηκαν τα μικρότερης έντασης πράσινα μήλα. Η υψηλή συγκέντρωση της DPA στα μήλα της HWT1/3DPA δεν επηρέασε σημαντικά την καθαρότητα του χρώματός τους και στις δύο ποικιλίες. Όλες οι μεταχειρίσεις με DPA είχαν σημαντικά μικρότερης έντασης καθαρό χρώμα σε σχέση με τον μάρτυρα μετά την παραμονή των μήλων στο ράφι. Τα μήλα της HWT στις 2 πρώτες περιόδους παραμονής στο ράφι δεν διέφεραν σημαντικά σε σχέση με τον μάρτυρα, ενώ στην τελευταία είχαν σημαντικά λιγότερο καθαρό χρώμα, πιθανώς λόγω του μεγάλου ποσοστού και της έντασης του Scald που αναπτύχθηκε στα μήλα μετά από 145ημ+4dSL.

Στην ποικ. Starking Delicious τα **σκληρότερα μήλα** παρατηρήθηκαν στην μεταχείριση HWT1/3DPA, ενώ οι άλλες μεταχειρίσεις δεν διέφεραν σημαντικά. Με την θέρμανση των μήλων η DPA εισήλθε στα βαθύτερα στρώματα του φλοιού των μήλων και πιθανόν με μείωση

τον ρυθμό παραγωγής αιθυλενίου (IEC) περισσότερο σε σχέση με τις άλλες μεταχειρίσεις ή να εμπόδιζε την μετουσίωση των πηκτινών στις κυτταρικές μεμβράνες στη σάρκα που οδηγεί σε υδρόλυση και μαλάκωμα των κυττάρων. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία ο μεταβολισμός των μήλων επηρεάζεται σημαντικά από την παρουσία της DPA: μειώνεται η αναπνοή, η IEC, παρατείνεται η ωρίμανση και ο γηρασμός των καρπών και μειώνεται η δραστηριότητα της lipoxygenase και polyphenol oxidase. Σε μήλα που μεταχειρίστηκαν με DPA παρατηρήθηκε αυξημένη σύνθεση CTs όταν το επίπεδο της  $\alpha$ -farnesene έφτασε τα  $40 \text{ mgg}^{-1}$  (Whitaker, 2000). Στην ποικ. Granny Smith τα μήλα όλων των μεταχειρίσεων είχαν παρόμοια σκληρότητα, εκτός από της HWT που ήταν μαλακότερα. Με την δράση της θερμότητας το άμυλο μεταβολίστηκε με γοργό ρυθμό σε ΔΣΣ οπότε τα μήλα μαλάκωσαν ή αυξάνεται ο ρυθμός της αναπνοής. Η χρήση DPA δεν επηρέασε σημαντικά την σκληρότητα των μήλων της ποικ. Granny Smith. Σε αντίθεση ο Spadaro *et al.* (2004) αναφέρει ότι τα μήλα που θερμαίνονται συχνά μαλακώνουν πιο αργά σε σχέση με τα αμεταχειρίιστα μήλα. Μετά την τετραήμερη παραμονή των μήλων της ποικ. Starking Delicious στο ράφι τα μήλα της HWT είχαν παρόμοια σκληρότητα σε σχέση με τον μάρτυρα. Τα μήλα που μεταχειρίστηκαν με DPA ήταν σκληρότερα. Τα μήλα ποικ. Granny Smith όλων των μεταχειρίσεων είχαν παρόμοια σκληρότητα μετά από τετραήμερη παραμονή στο ράφι. Φαίνεται, λοιπόν, ότι η χρήση DPA διατήρησε τα μήλα σκληρότερα για την ποικ. Starking Delicious μετά από παραμονή για 4dSL στις περισσότερες περιπτώσεις, ενώ στην ποικ. Granny Smith δεν τα επηρέασε σημαντικά.

Τα μήλα της ποικ. Starking Delicious όλων των μεταχειρίσεων είχαν παρόμοια **περιεκτικότητα σε ΔΣΣ** εκτός από αυτά της HWT1/3DPA, που η περιεκτικότητά τους σε ΔΣΣ ήταν μικρότερη στατιστικά αλλά όχι ουσιαστικά. Στην ποικ. Granny Smith η περιεκτικότητα των μήλων σε ΔΣΣ δεν βρέθηκε να διαφοροποιείται μεταξύ των μεταχειρίσεων. Μετά την τετραήμερη παραμονή των μήλων της ποικ. Starking Delicious στο ράφι η περιεκτικότητά τους σε ΔΣΣ αυξήθηκε σημαντικά στις μεταχειρίσεις του μάρτυρα και της HWT. Στη ποικ. Granny Smith μετά την τετραήμερη παραμονή των μήλων στο ράφι τα μήλα όλων των μεταχειρίσεων είχαν μικρότερη περιεκτικότητα σε ΔΣΣ σε σχέση με το μάρτυρα. Σημειώνεται ότι τα επίπεδα ΔΣΣ που παρατηρήθηκαν στα μήλα του μάρτυρα ήταν ιδιαίτερα υψηλά για ξινόμηλα ( Πίν. 3.9).

Το **pH** στα μήλα της ποικ. Starking Delicious αν και διαφοροποιήθηκε στατιστικά, ωστόσο δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των μεταχειρίσεων της ποικιλίας, ακόμα και μετά την τετραήμερη παραμονή των μήλων στο ράφι. Στην ποικ. Granny Smith η μεγαλύτερη τιμή pH παρατηρήθηκε στα μήλα της HWT, πιθανότατα λόγω εντονότερου ρυθμού μεταβολισμού. Στη

ποικ. Granny Smith το pH του χυμού των μήλων δεν διαφοροποιήθηκε ουσιαστικά μεταξύ των μεταχειρίσεων.

Η **ολική οξύτητα** των μήλων ποικ. Starking Delicious δεν διαφοροποιήθηκε σημαντικά μεταξύ των μεταχειρίσεων (Πίν. 3.6). Στην ποικ. Granny Smith όλες οι μεταχειρίσεις είχαν παρόμοια οξύτητα (Πίν. 3.9). Η περιεκτικότητα του χυμού των μήλων και των δύο ποικιλιών σε οξέα επηρεάστηκε ελάχιστα μετά την τετραήμερη παραμονή των μήλων των μεταχειρίσεων στο ράφι (Πίν. 3.6).

Τα **ωριμότερα** μήλα για την ποικ. Starking Delicious παρατηρήθηκαν στον μάρτυρα και στις μεταχειρίσεις HWT και Fogging-DPA. Τα μήλα της Drencher-DPA και HWT1/3DPA είχαν παρόμοια ωρίμανση (οριακά μικρότερη από τις άλλες μεταχειρίσεις). Η υψηλή συγκέντρωση της DPA μειώνει τον ρυθμό ωρίμανσης των μήλων όπως και η θέρμανσή τους. Φαίνεται λοιπόν, ότι η συγκέντρωση της DPA παίζει επίσης καθοριστικό ρόλο στη γευστικότητα των μήλων καθώς μήλα με σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων DPA βρέθηκε να έχουν υψηλότερες τιμές δείκτη ωρίμανσης σε σχέση με αυτά που είχαν σχετικά υψηλότερες συγκεντρώσεις DPA. Στην ποικ. Granny Smith τα πιο ώριμα μήλα επίσης παρατηρήθηκαν στο μάρτυρα. Η θέρμανση με νερό μείωσε τον ρυθμό της ωρίμανσης των μήλων, όπως και η παρουσία της DPA. Ο συνδυασμός θερμού νερού και DPA έδωσε μήλα με τη μικρότερη γευστικότητα (πιο τυπικά για ξινόμηλα) που μπορεί να οφείλεται στην συνδυασμένη δράση των δύο παραγόντων του πειράματος, είτε λόγω της υψηλότερης συγκέντρωσης της DPA στα μήλα της μεταχείρισης. Στα μήλα και των δύο ποικιλιών μετά την τετραήμερη παραμονή τους στο ράφι δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη περαιτέρω ωρίμανση πιθανόν εξαιτίας του μικρού χρονικού διαστήματος παραμονής στο ράφι. Αν τα μήλα έμεναν για μεγαλύτερο διάστημα στο ράφι ή αν ήταν εκτεθειμένα στο φως πιθανώς να υπήρχαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων.

Τα μήλα του μάρτυρα και στις δύο ποικ. είχαν την υψηλότερη **ένταση Scald**, όπως ήταν αναμενόμενο. Στην ποικ. Starking Delicious η εφαρμογή της DPA με υποκαπνισμό ήταν η πιο αποτελεσματική μέθοδος στη μείωση της έντασης του Scald. Η εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών δραστικών ουσιών με υποκαπνισμό δεν είναι πάντα αποτελεσματική στην προστασία των φρούτων από ασθένειες διότι δεν διαχέεται η δραστική ουσία ομοιόμορφα στον ψυχρό αέρα ή ανάμεσα στα φρούτα (Bertolini *et al.*, 1995). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στη γρήγορη εξάντληση των υπολειμμάτων της DPA από τους καρπούς ή στην ανάγκη δεύτερης εφαρμογής της ουσίας με αυτή την μέθοδο μετά τους πρώτους 2-3 μήνες ψυχοσυντήρησης. Η υψηλή συγκέντρωση της DPA στα μήλα της μεταχείρισης HWT1/3DPA δεν βρέθηκε ότι ήταν αποτελεσματικότερη από την εμβάπτιση των μήλων σε θερμό νερό στη



μείωση της έντασης του Scald. Η αποτελεσματικότερη μέθοδος μείωσης της έντασης του Scald είναι η συνήθης χρησιμοποιούμενη, δηλαδή με διαβροχή σε Drencher για την ποικ. Starking Delicious. Στην ποικ. Granny Smith η θέρμανση των μήλων μείωσε σημαντικά την ένταση του Scald στους καρπούς. Η εφαρμογή DPA είτε με Drencher, είτε με HWT1/3DPA έχει την ίδια αποτελεσματικότητα με φθηνότερη και ταχύτερη μέθοδο αυτή της διαβροχής σε Drencher, ενώ οικολογικότερη αυτή της εμβάπτισης των μήλων σε θερμό νερό και μειωμένη δόση DPA (τουλάχιστον όσο αφορά την επιβάρυνση του περιβάλλοντος από τα απόβρα μετά την χρήση της DPA).

Στα μήλα της ποικ. **Starking Delicious** στις 60ημ ψυχοσυντήρησης δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη Scald στη φλούδα τους, **ενώ μετά από τετραήμερη παραμονή στο ράφι** τόσο τα μήλα του μάρτυρα όσο και αυτά που μεταχειρίστηκαν με θερμό νερό (HWT και HWT1/3DPA) είχαν **ένταση Scald**<0,2. Θεωρείται, λοιπόν, ότι για τα μήλα που προορίζονται για εμπορική χρήση μέχρι το διάστημα αυτό (60 ημ. Ψυχοσυντήρησης) δεν απαιτείται μετασυλλεκτική μεταχείριση με χρήση DPA. Στις επόμενες, των 60 ημερών ψυχοσυντήρησης, δειγματοληψίες όλες οι μεταχειρίσεις εμφάνισαν Scald στη φλούδα των μήλων τους αλλά ή έντασή του ήταν επίσης πολύ μικρή<0,2. Μόνο τα μήλα του μάρτυρα και της μεταχείρισης με υποκαπνισμό είχαν ένταση Scald>0,2 (μέσες τιμές επαναλήψεων) (Πίν. 3.10). Στα μήλα της ποικ. **Granny Smith** έως τις 80ημ ψυχοσυντήρησης και μετά από τετραήμερη παραμονή στο ράφι δεν εμφανίστηκε Scald. Επίσης, δεν είναι απαραίτητη η μεταχείριση των μήλων με DPA αν προορίζονται για εμπορική χρήση μέχρι το χρόνο αυτό (ίσως και λίγο περισσότερο). Στις 165ημ όλες οι μεταχειρίσεις εμφάνισαν Scald στην επιφάνεια της φλούδας τους με ένταση >0,2 για τις μεταχειρίσεις του μάρτυρα και της HWT, αλλά <0,1 για τις μεταχειρίσεις με DPA (Drencher-DPA και HWT1/3DPA). Με την τετραήμερη παραμονή των μήλων στο ράφι η ένταση του Scald παρέμεινε στα ίδια επίπεδα για τις μεταχειρίσεις με DPA, αλλά αυξήθηκε σημαντικά τόσο στο μάρτυρα όσο και στην μεταχείριση HWT (στην HWT η ένταση του Scald δεν ξεπέρασε το 0,9 ενώ του μάρτυρα ξεπέρασε το 1,2). Επομένως, η μεταχείριση με θερμό νερό μείωσε την ένταση του Scald κάτω από το 25% της επιφάνειάς του, οπότε τα μήλα δεν θεωρείται ότι χάνουν την εμπορικής τους αξία μιας και οι καταναλωτές δεν μπορούν να διακρίνουν την εμφάνιση του Scald όταν αυτή έχει ένταση <1.

Τα μήλα του μάρτυρα και των δύο ποικιλιών είχαν το μεγαλύτερο ποσοστό (%) καρπών με Scald (Πίν. 3.7 και 3.10). Στην ποικ. Starking Delicious **το ποσοστό των μήλων που εμφάνισαν Scald** στις 60 ημ ήταν κάτω από 30% για τον μάρτυρα και 10% για την HWT, αρκετά αξιόλογη διαφορά. Στην δειγματοληψία των 90 ημ το ποσοστό μήλων με Scald δεν ξεπέρασε το 25% για το μάρτυρα, ενώ οι άλλες μεταχειρίσεις το ποσοστό των μήλων με Scald

ήταν κάτω από 10%, με εξαίρεση στη μεταχείριση με υποκαπνισμό που ήταν περίπου στο ενδιάμεσο (15%) . Στις 145 ημέρες το ποσοστό των μήλων του μάρτυρα και της μεταχείρισης με υποκαπνισμό ξεπέρασαν το 20% των μήλων με Scald, ενώ στις άλλες μεταχειρίσεις το ποσοστό καρπών με Scald εξακολουθούσε να βρίσκεται κάτω από 8%. (Γράφ. 3.24). Άρα η μέθοδος εφαρμογής της DPA με υποκαπνισμό ίσως να χρειάζεται περαιτέρω μελέτη και βελτίωση της αποτελεσματικότητάς της. Στην ποικ. Granny Smith το ποσοστό των μήλων με Scald του μάρτυρα ήταν περίπου 25% και της μεταχείρισης HWT 20%, ενώ, μετά την τετραήμερη παραμονή των μήλων στο ράφι, τα μήλα του μάρτυρα είχαν scald σε ποσοστό που πλησίαζε το **90%**, ενώ της μεταχείρισης HWT περίπου στο **80%**, ασήμαντη πρακτικά διαφοροποίηση και μη εμπορικά αποδεκτή σε συνδυασμό με την υψηλότερη φωτεινότητα των μήλων. Οι άλλες μεταχειρίσεις είχαν παρόμοιο ποσοστό μήλων με Scald που δεν ξεπερνούσε το 15%, ενώ δεν παρατηρήθηκε αξιόλογη μεταβολή της παραμέτρου με την παραμονή των μήλων στο ράφι.

Στη ποικιλία Starking Delicious μέχρι και την δειγματοληψία των 90ημ+4dSL το ποσοστό των μήλων με Scald>1 ήταν κάτω από το 5%. Στις 145ημ μόνο στη μεταχείριση του μάρτυρα το ποσοστό μήλων με Scald>1 ήταν πάνω από 5%, ενώ με την παραμονή των μήλων στο ράφι εκτός από τα μήλα του μάρτυρα, μόνο στη μεταχείριση με υποκαπνισμό της DPA το ποσοστό των μήλων με Scald>1 ήταν πάνω από 5%. Στην ποικ. Granny Smith μόνο οι μεταχειρίσεις του μάρτυρα και της HWT είχαν μήλα με Scald>1, αλλά μόνο μετά την τετραήμερο παραμονή τους στο ράφι και μάλιστα παρόμοιο ποσοστό (~30%). Επομένως, τα μήλα της ποικ. Granny Smith έως τις 165ημ. στη ψυχοσυντήρηση, ακόμα και χωρίς καμία μετασυλλεκτική μεταχείριση, μπορούν να είναι εμπορεύσιμα χωρίς ο καταναλωτής να μπορεί να διακρίνει την ανάπτυξη του Scald, ενώ με τη μεταχείριση με DPA η εμπορικότητα των μήλων μπορεί να παραταθεί και πέρα από τις 165ημ ψυχοσυντήρησης, αλλά πιθανόν όχι πολύ περισσότερο διάστημα!

### **4.3. ΣΧΟΛΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΕΜΒΑΠΤΙΣΗΣ**

Η θερμοκρασία εμβάπτισης 48° C για χρονικό διάστημα 3 min παρουσιάζεται να είναι η πιο ιδανική για την αντιμετώπιση του Scald με τη θέρμανση των μήλων σε υδατόλουτρο. Ο Jemric *et al.* (2006) διαπίστωσαν ότι η αποτελεσματικότερη θέρμανση για την αντιμετώπιση του Scald ήταν αυτή των 48° C για 3 min, ενώ στους 50° C για 1 min και 55° C για 30 sec ήταν αποτελεσματική μεν αλλά με μεγαλύτερο κίνδυνο H.I.(Heat Injury) σε μήλα ποικ. Granny Smith.

Η διάχυση της θερμότητας στα μήλα του πειράματός μας που μεταχειρίστηκαν με θερμό νερό ακολουθεί κανονική κατανομή (Γραφ. 3.5 & 3.6). Για θερμοκρασία εμβάπτισης 48° C στο εσωτερικό των καρπών παρατηρήθηκε μέγιστη θερμοκρασία 25,3° C μετά από 30 min από την εμβάπτιση για τα μήλα της ποικ. Starking Delicious και 31,1° C μετά από 75 min για τα μήλα ποικ. Granny Smith. Οι Jones και Waddell (1996) παρατήρησαν ότι, με θερμοκρασία στόχο 49 °C στην επιφάνεια των μήλων, παρατηρήθηκε θερμοκρασία 44-45 °C στη σάρκα, καθώς οι καρποί παρέμειναν σε εμβάπτιση για 15 min.

Για να είναι ενδεχομένως αποτελεσματική η μέθοδος για την αντιμετώπιση του Scald θα πρέπει τα μήλα να παραμένουν για μία περίπου ώρα εκτός ψυγείου μετά την εφαρμογή. Τα μήλα της ποικ. Starking Delicious είναι πιο ευαίσθητα στο H.I. από τα μήλα της ποικ. Granny Smith που δεν παρατηρήθηκαν εγκαύματα. Η χρήση DPA προστάτευσε τα μήλα ποικ. Starking Delicious από το H.I. πιθανότατα λειτουργώντας αντιοξειδωτικά την ώρα της επέμβασης. Το ποσοστό εγκαύματος στα μήλα που παρατηρήθηκε H.I. ήταν λιγότερο από το 25% της επιφάνειάς τους.

Τα μήλα της ποικ. Starking Delicious που μεταχειρίστηκαν με DPA είχαν μικρότερο ποσοστό καρπών με πικρά κηλίδωση σε σχέση με τις άλλες μεταχειρίσεις, ενώ κάτι τέτοιο δεν παρατηρήθηκε στην ποικ. Granny Smith που οι μεταχειρίσεις του πειράματος στην Αγιά φαίνεται ότι δεν επηρέασαν την εμφάνιση της ασθένειας στα μήλα.

#### **4.4. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΕΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟ**

Για τα μήλα ποικ. Starking Delicious αν και η εφαρμοζόμενη δόση της DPA για τη διαβροχή των μήλων στο Drencher στον Αγροτικό Συνεταιρισμό της Ζαγοράς είναι χαμηλότερη της συνιστώμενης (1400 mg/L αντί 2000 mg/L) η αποτελεσματικότητα της είναι ικανοποιητική, όπως προκύπτει τόσο από τα αποτελέσματα της μελέτης μας αλλά και από προφορική επικοινωνία με τους υπεύθυνους ποιότητας του Συνεταιρισμού. Θα πρέπει λοιπόν, να μελετηθεί η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής μικρότερης δόσης της DPA στα μήλα ποικ. Granny Smith ή και μεταβαλλόμενης δόσης σε κάθε ποικιλία ανάλογα με τον κίνδυνο εμφάνισης scald κάθε χρονιά ή σε κάθε περιοχή.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος δεν συνιστάται εφαρμογή DPA ή κάποιου άλλου παρεμποδιστή εμφάνισης Scald σε μήλα που πρόκειται να διατεθούν στο εμπόριο μέχρι και 60 ημέρες από τη μετασυλλεκτική τους επεξεργασία για την ποικ. Starking Delicious και 80 ημέρες για την ποικ. Granny Smith, καθόσον δεν παρατηρήθηκε εμφάνιση Scald σ' αυτό το χρονικό διάστημα και τις συνθήκες της χρονιάς των πειραμάτων.

Στα μήλα, που μεταχειρίστηκαν με DPA, τα υπολείμματα της DPA, μετά από δύο μήνες ψυχοσυντήρησης, δεν ξεπερνούσαν τα 3,5 mg/kg για την ποικ. Starking Delicious και τα 2,0 mg/kg για την ποικ. Granny Smith, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος μας. Παράλληλα, σε άλλα συντηρημένα μήλα που προορίζονται για εμπορική χρήση στους ψυκτικούς χώρους των εταιρειών που έγιναν τα πειράματα, τα υπολείμματα της ουσίας και στις δύο ποικιλίες ήταν κάτω από 3,5 mg/kg, τιμή σαφώς χαμηλότερη της τιμής MRL (ευρωπαϊκό) της DPA για τα μήλα.

Η χρήση θερμού νερού αποδείχτηκε ότι μειώνει το Scald σημαντικά σε σχέση με το μάρτυρα και στις δύο ποικιλίες, αλλά δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί εμπορικά σε συμβατικά μήλα για μακρά συντήρηση σε κοινά ψυγεία, διότι το ποσοστό των μήλων με Scald είναι υψηλό. Η μετασυλλεκτική μεταχείριση με εμβάπτιση σε θερμό νερό (σε 48°C) για χρονικό διάστημα 3 min θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην αντιμετώπιση του Scald σε μήλα βιολογικής καλλιέργειας ή σε μήλα τα οποία προορίζονται για ευαίσθητους καταναλωτές, όπως τα παιδιά. Επίσης θα μπορούσε να μελετηθεί ο συνδυασμός εμβάπτισης σε θερμό νερό και μακράς συντήρησης σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα, όταν είναι αδύνατη η εφαρμογή ULO, δηλ. ατμόσφαιρα πολύ χαμηλής συγκέντρωσης οξυγόνου.

Η μεταχείριση εμβάπτισης των μήλων σε θερμό νερό με μειωμένη δόση DPA (HWT1/3DPA), σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί εμπορικά στην ποικ. Granny Smith αλλά όχι στην ποικ. Starking Delicious. Στην ποικ. Granny Smith θα μπορούσε να μελετηθεί περαιτέρω η εμβάπτιση σε θερμό νερό με ακόμη μικρότερη δόσης DPA ή η εμβάπτιση σε υψηλότερη θερμοκρασία νερού. Στην ποικ. Starking Delicious θα μπορούσε να μελετηθεί η εφαρμογή υψηλότερης δόσης DPA (μεγαλύτερη από το 1/3 της εφαρμοζόμενης στη διαβροχή) σε χαμηλότερη θερμοκρασία νερού ή η διαφοροποίηση του χρόνου εμβάπτισης ή ακόμα και η τμηματική θέρμανση του καρπού.

Διεθνώς για την καλύτερη εξωτερική εμφάνιση των μήλων ποικ. Starking Delicious χρησιμοποιείται συχνά επικάλυψη με φυσικούς κηρούς. Θα μπορούσε να μελετηθεί η ταυτόχρονη εφαρμογή κηρών και DPA τόσο ως προς την παράμετρο του ρυθμού υποβάθμισης των υπολειμμάτων της DPA όσο και αυτή της επίδρασης στην εμφάνιση του Scald και της ποιότητας των μήλων.

## ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ◆ Abdalla, A., Gil, M., Biasi, W. and Mitcham, E. (1997). Inhibition of superficial scald in apples by wounding: changes in lipids and phenolics. **Postharvest Biol. Technol.**, 12: 203–212.
- ◆ Al-Bachir, M. (1999). Effect of gamma irradiation on storability of apple (*Malus domestica* L.). **Plant Foods for Human Nutrition**, 54: 1–11.
- ◆ Allen, J. and Hall, K. (1980). Methods for the Determination of Diphenylamine Residues in Apples. **J. Agric. Food Chem.**, 28: 255-258.
- ◆ Alwan, T. and Watkins, C. (1999). Intermittent warming effects on superficial scald development of ‘Cortland’, ‘Delicious’ and ‘Law Rome’ apple fruit. **Postharvest Biol. Technol.**, 16: 203–212
- ◆ Anderson, A. (2000). Comparison of pesticide residues in composite samples and in individual units: the Swedish approach to sampling. **Food Additives and Contaminants**, 17(7):547-550.
- ◆ Anet, 1972. Superficial scald, a functional disorder of stored apples VIII. Volatile products from the auto oxidation of a-farnesene. **J. Sci. Food Agr.**, 23: 605-608.
- ◆ Arquiza, A., Hay, A., Nock, J. and Watkins, C. (2005). 1-Methylcyclopropene Interactions with Diphenylamine on Diphenylamine Degradation, a-Farnesene and Conjugated Trienol Concentrations, and Polyphenol Oxidase and Peroxidase Activities in Apple Fruit. **J. Agric. Food Chem.**, 53: 7565-7570.
- ◆ Barden, C. and Bramlage, W. (1994). Relationships of antioxidants in apple peel to changes in a-farnesene and conjugated trienes during storage and to superficial scald development after storage. **Postharvest Biol. Technol.**, 4: 23-33.
- ◆ Bauchot, A. and John, P. (1996). Scald development and the levels of a-farnesene and conjugated triene hydroperoxides in apple peel after treatment with sucrose ester-based coatings in combination with food-approved antioxidants. **Postharvest Biol. Technol.**, 7: 41-49.
- ◆ Bauchot, A.D., P. John, Y. Soria and Recasens, I., 1995. Sucrose ester-based coatings formulation with food compatible antioxidants in the prevention of superficial scald in stored apples. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.**, 120(3): 491-496
- ◆ Bertolini, P., Guarnieri, A. and Venturi, P. (1995). Post-harvest fog treatment of apples: deposition patterns and control of *Phlyctaena vagabunda* and superficial scald. **Crop Protection**, 14(5): 345-348.
- ◆ Blanpied, G. and Little, C. (1991). Relationships among bloom dates, ethylene climacteric initiation dates, and maturity-related storage disorders of Jonathan apples grown in Australia. **Postharvest Biol. Technol.**, 1: 3-10.
- ◆ Bramlage, W., Potter, T. and Ju, Z. (1996). Detection of Diphenylamine on Surfaces of Nontreated Apples (*Malus domestica* Borkh.). **J. Agric. Food Chem.**, 44:1348-1351.
- ◆ Cabras, P., Schirra, M., Pirisi, F., Garau, V. and Angioni, A. (1999). Factors Affecting Imazalil and Thiabendazole Uptake and Persistence in Citrus Fruits Following Dip Treatments. **J. Agric. Food Chem.**, 47: 3352-3354.

- ◆ Chapon, J., Nghyen-The, C., and Bompeix, G. (1987). **Arboric. Fruit.** 34: 52-55.
- ◆ Chen, P., Varga, R. and Xiao, Y. (1993). Inhibition of a-farnesene biosynthesis and its oxidation in the peel tissue of "d'Anjou" pears by Low-O<sub>2</sub>/elevated CO<sub>2</sub> atmospheres. **Postharvest Biol. Technol.**, 3: 215-223.
- ◆ Chu, C. 1993. Strategies and Alternatives to Reduce Apple Crop Loss from Storage Scald Disorder. Grower magazine Ontario Fruit and VegetabLe Growers' Association, 1-10. February.
- ◆ Conway, W., Leverentz, B., Janisiewicz, W., Blodgett, A., Saftner, R. and Camp, M. (2004). Integrating heat treatment, biocontrol and sodium bicarbonate to reduce postharvest decay of apple caused by *Colletotrichum acutatum* and *Penicillium expansum*. **Postharvest Biol. Technol.**, 34: 11-20.
- ◆ D'Aquino, S., Schirra, M., Palma, A., Angioni, A., Cabras, P. and Migheli, Q. (2006). Residue Levels and Effectiveness of Pyrimethanil vs Imazalil When Using Heated Postharvest Dip Treatments for Control of *Penicillium* Decay on Citrus Fruit. **J. Agric. Food Chem.**, 54: 4721-4726.
- ◆ DeEll, J., Murr, D., Mueller, R. Wiley, L. and Porteous, M. (2005). Influence of 1-methylcyclopropene (1-MCP), diphenylamine (DPA), and CO<sub>2</sub> concentration during storage on 'Empire' apple quality. **Postharvest Biol. Technol.**, 38: 1-8.
- ◆ DeEll, J., Prange, R. and Murr, D. (1996). ChLorophyll fluorescence of Delicious apples at harvest as a potential predictor of superficial scald development during storage. **Postharvest Biol. Technol.**, 9: 1-6.
- ◆ Delong, J., Prange, R. and Harrison, P. (2004). The influence of pre-storage delayed cooling on quality and disorder incidence in 'Honeycrisp' apple fruit. **Postharvest Biol. Technol.**, 33: 175–180.
- ◆ Diamantidis, G., Thomai, T., Genitsariotis, M., Nanos, G., Bolla, N. and Sfakiotakis, E. (2002). Scald susceptibility and biochemical/physiological changes in respect to low preharvest temperature in 'Starking Delicious' apple fruit. **Scientia Horticulturae**, 92: 361-366.
- ◆ Drzyzga, O. (2003). Diphenylamine and derivatives in the environment: a review. **Chemosphere**, 53: 809–818.
- ◆ Ekman, J., Golding, J. and McGlasson, W. (2005). Innovation in cold storage technologies. **Stewart Postharvest Review**, 3(6): 1-14.
- ◆ Emongor, V., Murr, D. and Lougheed, E. (1994). Preharvest factors that predispose apples to superficial scald. **Postharvest Biol. Technol.**, 4: 289-300.
- ◆ Erkan, M., Pekmezci, M. and Wang, C. (2005). Hot water and curing treatments reduce chilling injury and maintain post-harvest quality of 'Valencia' oranges. **Intern. J. Food Sci. Techn.**, 40: 91–96.
- ◆ Errampalli, D. (2006). Postharvest control of blue mold of apples with reduced-risk fungicides together with anti-scald agent diphenylamine under cold and controlled atmosphere storage conditions. **J. Food, Agric. Environ.**, 4(1): 43-47.

- ◆ Fallik, E., Tuvia-Alkalai, S., Feng, X. and Lurie, S. (2001). Ripening characterisation and decay development of stored apples after a short pre-storage hot water rinsing and brushing. **Innovative Food Sci. & Emerging Technologies**, 2: 127-132.
- ◆ FAO (1981). Pesticide Residues in Food: **1984 Evaluations** 67, 355-373, 299-312
- ◆ FAO (1986). Pesticide Residues in Food: **1985 Evaluations, Part I, Residues** 72, 157-168.
- ◆ Ferguson, I., Volz, R. and Woolf, A. (1999). Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. **Postharvest Biol. Technol.**, 15: 255-262.
- ◆ Garciaa-Reyes, J.F., Ortega-Barrales, P. and Molina-Diáz, A. (2005). Rapid Determination of Diphenylamine Residues in Apples and Pears with a Single Multicommuted Fluorometric Optosensor. **J. Agric. Food Chem.**, 53: 9874-9878
- ◆ Garrido, J., Alba, M., Jimenez, I., Casado, E. and Folgueiras, M.L. (1998). Chromatographic analysis of imazalil and carbendazim in fruits. Method validation and residue monitoring program 1995. **J. Chromatography A**, 765:91-97.
- ◆ Gebhardt, S. and Matthews, R. (1989). Nutritive Value Of Foods. **U.S. Dept. of Agriculture**. 18-19.
- ◆ Golding, J., McGlasson, B., Wyllie, G. and Leach, D. (2001). Fate of Apple Peel Phenolics during Cool Storage. **J. Agric. Food Chem.**, 49: 2283-2289.
- ◆ Gong, Y. and Tian, M. (1998). Inhibitory effect of diazocyclopentadiene on the development of superficial scald in Granny Smith apple. **Plant Growth Regulation**, 26: 117-121.
- ◆ Hardernburg, R., Watada, A. and Wang, C. (1990). The commercial storage of fruits, vegetables and florist and nursery stocks. **USDA Agr. Res. Serv. Agr. Handbook No. 66**.
- ◆ Huelin, F. (1968). **J. Sci. Food Agric**. 19: 294-296.
- ◆ Jemric, T., Lurie, S., Dumija, L., Pavicic, N. and Hribar, J. (2006). Heat treatment and harvest date interact in their effect on superficial scald of 'Granny Smith' apple. **Scientia Horticulturae**, 107:155-163.
- ◆ Johnson, G., Geronimo, J. and Hughes, D. (1997). Diphenylamine Residues in Apples (*Malus domestica* Borkh.), Cider, and Pomace following Commercial Controlled Atmosphere Storage. **J. Agric. Food Chem.**, 45: 976-979.
- ◆ Johnston, L. and Redmond, R. (1997). Triplet State Mechanism for Diphenylamine Photoionization. **J. Phys. Chem. A.**, 101: 4660-4665.
- ◆ Jones, V. and Waddell, B. (1996). Hot water treatment of lightbrown apple moth eggs on apples and nectarines. **Proc. 49th NZ Plant Protection Conf.**, 71-77
- ◆ Ju, Z. and Bramlage, W. (1999). Phenolics and lipid-soluble antioxidants in fruit cuticle of apples and their antioxidant activities in model systems. **Postharvest Biol. Technol.**, 16: 107-118.
- ◆ Ju, Z., Duan, Y. and Ju, Z. (2000). Mono-, di-, and tri-acylglycerols and phospholipids from plant oils inhibit scald development in 'Delicious' apples. **Postharvest Biol. Technol.**, 19: 1-7.

- ◆ Ju, Z., Yuan, Y., Liu, C., Zhan, S. and Wang, M. (1996). Relationships among simple phenol, flavonoid and anthocyanin in apple fruit peel at harvest and scald susceptibility. **Postharvest Biol. Technol.**, 8: 83-93.
- ◆ Karabulut, O., Arslan, U. and Kuruoglu, G. (2004). Control of Postharvest Diseases of Organically Grown Strawberry with Preharvest Applications of some Food Additives and Postharvest Hot Water Dips. **J. Phytopathology**, 152: 224–228.
- ◆ Kim-Kang, H., Robinson, R. and Wu, J. (1998). Fate of [14C] Diphenylamine in Stored Apples. **J. Agric. Food Chem.**, 46: 707-717.
- ◆ Kupferman, E. (2001). Storage scald of apples. **WASHINGTON STATE UNIVERSITY - TREE FRUIT RESEARCH AND EXTENSION CENTER**. <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/EMK2000C.pdf>
- ◆ Lafuente, M. and Zacarias, L. (2006). Postharvest physiological disorders in citrus fruit. **Stewart Postharvest Review**, 2(1): 1-9.
- ◆ Lee, S., Velasquez, A. and Kaplan, H. (1984). **HortScience**, 19: 94-95.
- ◆ Looney, N. (1968). Light regimes within standard-size apple trees as determined spectrophotometrically. **Proc. Am. Soc. Hort. Sci.**, 93:1-6.
- ◆ Luke, B. and Cossens, S. (1980). Determination of Diphenylamine Residues in Apples. **Bull. Environm. Contam. Toxicol.**, 24: 746-751.
- ◆ Lurie, S. (1998). Review: Postharvest heat treatments. **Postharvest Biol. Technol.**, 14: 257–269.
- ◆ Lurie, S. and Klein, J. (2000). Temperature Preconditioning. **Volkani Res. Center, Dept. Postharvest Science**, 1-10
- ◆ Manseka, V. and Vasilakakis, M. (1994). Effect of stage of maturity, postharvest treatments and storage conditions on superficial scald and quality of apples. **Acta Horticulturae**, 326: 213-224.
- ◆ Matich, A., Banks, N. and Rowan, D. (1998). Modification of a-farnesene levels in cool-stored ‘Granny Smith’ apples by ventilation. **Postharvest Biol. Technol.**, 14: 159-170.
- ◆ McGuire, R. (1992). Reporting of objective color measurements. **HortScience**, 27:1254-55.
- ◆ Ministry of Welfare, Health and Cultural Affairs, Rijswijk-Nether lands (MWHCA), 1988. **Anal. Methods for Residues of Pesticides**. 5th edition, part I. 3-5, 53-56.
- ◆ Moggia, C. and Yuri, J. (2003). Apple postharvest practices in Chile. **Washington Tree Fruit Postharvest Conf., Wenatchee, WA**. 1-9. <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/PC2003F.pdf>
- ◆ Moggia, C., Yuri, J.A., Lolas, M. and Pereira, M. (2003). Use of thermofogging for dpa and fungicides applications in chile. **WASHINGTON TREE FRUIT POSTHARVEST CONF., Wenatchee, WA**. 1-10.
- ◆ Pavoncello, D., Lurie, S., Droby, S. and Porat, R. (2001). A hot water treatment induces resistance to *Penicillium digitatum* and promotes the accumulation of heat shock and pathogenesis-related proteins in grapefruit flavedo. **Physiologia Plantarum**, 111: 17–22.
- ◆ Pechous, S., Watkins, C. and Whitaker, B. (2005). Expression of a-farnesene synthase gene *AFSI* in relation to levels of a-farnesene and conjugated trienols in peel tissue of scald-



- susceptible 'Law Rome' and scald-resistant 'Idared' apple fruit. **Postharvest Biol. Technol.**, 35: 125-132.
- ◆ Piretti, M., Gallerani, G. and Pratella, G. (1994). Polyphenol fate and superficial scald in apple. **Postharvest Biol. Technol.**, 4:213-224.
  - ◆ Rowan, D., Hunt, M., Fielder, S., Norris, J. and Sherburn, M. (2001). Conjugated Triene Oxidation Products of  $\alpha$ -Farnesene Induce Symptoms of Superficial Scald on Stored Apples. **J. Agric. Food Chem.**, 49: 2780-2787.
  - ◆ Rudell, D., Mattheis, J. and Fellman, J. (2005a). Relationship of Superficial Scald Development and  $\alpha$ -Farnesene Oxidation to Reactions of Diphenylamine and Diphenylamine Derivatives in cv. Granny Smith Apple Peel. **J. Agric. Food Chem.**, 53: 8382-8389.
  - ◆ Rudell, D., Mattheis, J. and Fellman, J. (2005b). Evaluation of diphenylamine derivatives in apple peel using gradient reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet-visible absorption and atmospheric pressure chemical ionization mass selective detection. **J. Chromatography A**, 1081: 202-209.
  - ◆ Rudell, D., Mattheis, J. and Fellman, J. (2006). Influence of Ethylene Action, Storage Atmosphere, and Storage Duration on Diphenylamine and Diphenylamine Derivative Content of Granny Smith Apple Peel. **J. Agric. Food Chem.**, 54: 2365-2371.
  - ◆ Saad, B., Hani, N.H., Saleh, M.I., Hashim, N.H., Abu, A. and Ali, N. (2004). Determination of ortho-phenylphenol, diphenyl and diphenylamine in apples and oranges using HPLC with fluorescence detection. **Food Chem.**, 84: 313-317.
  - ◆ Schirra, M., Cabras, P., Angioni, A., D'Hallewin, G. and Pala, M. (2002). Residue Uptake and Storage Responses of Tarocco Blood Oranges after Preharvest Thiabendazole Spray and Postharvest Heat Treatment. **J. Agric. Food Chem.**, 50:2293-2296.
  - ◆ Schirra, M., Cabras, P., Angioni, A., D'Hallewin, G., Ruggiu, R. and Minelli, E. (1997). Effect of Heated Solutions on Decay Control and Residues of Imazalil in Lemons. **J. Agric. Food Chem.**, 45: 4127-4130.
  - ◆ Scott, K., Yuen, C. and Kim, G. (1995). Reduction of superficial scald of apples with vegetable oils. **Postharvest Biol. Technol.**, 6:219-223.
  - ◆ Scott, K., Yuen, C. and Ghahramani, Y. (1995b). Ethanol vapour - a new anti-scald treatment for apples. **Postharvest Biol. Technol.**, 6: 201-208.
  - ◆ Smith, K. and Lay-Yee, M. (2000). Response of 'Royal Gala' apples to hot water treatment for insect control. **Postharvest Biol. Technol.**, 19: 111-122.
  - ◆ Spadaro, D., Garibaldi, A. and Gullino, M.L. (2004). Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apple combining a biocontrol agent with hot water dipping and acibenzolar-*S*-methyl, baking soda, or ethanol application. **Postharvest Biol. Technol.**, 33: 141-151.
  - ◆ Thomai, T., Sfakiotakis, E. Diamantidis, G. and Vasilakakis, M. (1998). Effects of low preharvest temperature on scald susceptibility and biochemical changes in 'Granny Smith' apple peel. **Scientia Horticulturae**, 76: 1-15.

- ◆ Vasilakakis, M. and Thomai, T. (Δ.A). Effects of harvest date and pre-storage treatments (GA3, temperature), on superficial scald on "Imperial Double-red Delicious" apples. **CIHEAM - Options Mediterraneennes**, 77-84.
- ◆ Vasilakakis, M., Manseka, V., Gerasopoulos, D. and Olympios, C. (1995). Effect of harvest date. Antioxidants, growth regulators and storage conditions on storage performance of Granny Smith apples. **Acta Horticulture**, 379: 383-390.
- ◆ Wang, Z. and Dilley, D. (2000a). Initial low oxygen stress controls superficial scald of apples. **Postharvest Biol. Technol.**, 18: 201-213.
- ◆ Wang, Z. and Dilley, D. (2000b). Hypobaric storage removes scald-related volatiles during the low temperature induction of superficial scald of apples. **Postharvest Biol. Technol.**, 18:191–199.
- ◆ Wang, Z., Kositrakun, M. and Dilley, D. (2000). Temperature and atmosphere regimens to control a CO<sub>2</sub>-linked disorder of ‘Empire’ apples. **Postharvest Biol. Technol.**, 18: 183-189.
- ◆ Watkins, C., Nock, J., Weis, S., Jayanty, S. and Beaudry, R. (2004). Storage temperature, diphenylamine, and pre-storage delay effects on soft scald, soggy breakdown and bitter pit of ‘Honeycrisp’ apples. **Postharvest Biol. Technol.**, 32: 213–221.
- ◆ Whitaker, B. (2000). DPA treatment alters a-farnesene metabolism in peel of ‘Empire’ apples stored in air or 1.5% O<sub>2</sub> atmosphere. **Postharvest Biol. Technol.**, 18: 91–97.
- ◆ Yu, L., Schoen, R., Duikin, A., Firman, M., Cushman, H. and Fontanilla, A. (1997). Determination of o-Phem Iphenol. Diphenylamine and Propargite Pesticide Residues in Selected Fruits and Vegetables by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. **J. AOAC Intern.**: 80(3) , 651-656
- ◆ Zanella, A. (2003). Control of apple superficial scald and ripening-a comparison between 1-methylcyclopropene and diphenylamine postharvest treatments, initial low oxygen stress and ultra low oxygen storage. **Postharvest Biol. Technol.**, 27:69-78.

## ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ◆ Βασιλακάκης, Μ. και Θέριος, Ι. (1998). Μαθήματα Ειδικής Δενδροκομίας. Φυλλοβόλα Οπωροφόρα Δέντρα. Θεσσαλονίκη. σελ 1-54.
- ◆ Βασιλακάκης, Μ. (1996). Στοιχεία Γενικής και Ειδικής Δενδροκομίας. Υπηρεσία Δημοσιεύσεων Α.Π.Θ.
- ◆ Βασιλακάκης, Μ. (1999). Ποιότητα Ελληνικών Μήλων. Γεωργία Κτηνοτροφία, 3/99 Μάρτιος. Σελ. 36-38, 41-49.
- ◆ Καραουλάνης, Γ. (1976). Η διατήρηση με ψύξη των οπωροκηπευτικών στην Ελλάδα. Πρακτικά Ελλην. Επιστ. Εταιρείας Οπωροκηπευτικών 1: 37-43.
- ◆ Κουκουργιάννης, Β. (1997). Η Μηλοκαλλιέργεια. Γεωργία-Κτηνοτροφία, 9/97 Αφιέρωμα: Μηλοειδή Ι. Οκτώβριος. Σελ. 6-13, 18-20.
- ◆ Λέντζα-Ρίζου, Χ. (1994). Διεθνείς ρυθμίσεις για την προστασία καταναλωτών. Διαδικασία καθορισμού κοινοτικών ανώτατων ορίων υπολειμμάτων. Υπολείμματα γεωργικών φαρμάκων στα αγροτικά προϊόντα. Επτάλοφος, ΑΒΕΕ, Αθήνα. Σελ. 13-32, 33-57.
- ◆ Λέντζα-Ρίζου, Χ. (2000). Γεωργική Φαρμακολογία. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος. Σελ.208-210, 167-177, 180, 185-186.
- ◆ Μηλιάδης, Γ. (2001). Επικύρωση αναλυτικών μεθόδων για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Μέθοδοι και προτεραιότητες στην εργαστηριακή παρακολούθηση των περιβαντολλογικών επιπτώσεων από τη χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Σεμινάριο από το Ανθρώπινο Δίκτυο Διάδοσης της Ε&Τ Γνώσης-ΕΠΕΤ ΙΙ, 98 ΑΔ 60. Αθήνα-θεσ/νίκη. Σελ.10-11.
- ◆ Μηλιάδης, Γ. (1989). Μελέτη μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων ζιζανιοκτόνων παραγώγων της ουρίας. Διδακτορική διατριβή, Α.Π.Θ. Σελ.7-10, 33-36.
- ◆ Νάνος, Γ., Παπούλια Ι. και Μπούτλα, Ι. (2001). Μετασυλλεκτικές μεταχειρίσεις φιλικές προς το περιβάλλον στα μήλα περιοχής Κοντού Ζαγοράς. Ιούλιος. Σελ. 1-4.
- ◆ Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, Ε. (1991). Γεωργικά Φάρμακα- Διδακτικές σημειώσεις μέρος Ι. Εκδόσεις Υπηρεσίας Δημοσιεύσεων Α.Π.Θ. Θεσ/νίκη. Σελ. 121.
- ◆ Σφακιωτάκης, Μ. (2002). Ποιότητα, συλλεκτική ωρίμανση και συντήρηση μήλων. Γεωργία-Κτηνοτροφία 8: 45-46, 54, 59, 70.
- ◆ Σφακιωτάκης, Μ. (1995). Μετασυλλεκτική Φυσιολογία και Τεχνολογία Νωπών Οπωροκηπευτικών προϊόντων. Εκδόσεις τυροΜΑΝ, Θεσσαλονίκη. Σελ. 228,229, 249-253. 271-275. 333-335, 338-349.
- ◆ Σφακιωτάκης, Μ. (1993). Γενική Δενδροκομία. Εκδόσεις τυροΜαν, Θεσσαλονίκη.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ.....</b>	<b>1</b>
1.1 ΜΗΛΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ .....	1
1.1.1 Ιστορική προέλευση-Σημαντικότητα.....	1
1.1.2 Οικονομική σημασία της μηλοκαλλιέργειας .....	2
1.1.3. Σημασία της μηλοκαλλιέργειας στο ανατολικό Πήλιο και την Αγιά.....	2
1.1.4. Βοτανικά χαρακτηριστικά .....	3
1.1.5. Κλίμα-έδαφος.....	4
1.1.6. Διαμόρφωση δέντρων-Κλάδεμα καρποφορίας .....	4
1.1.7. Ανάπτυξη καρπού-Συγκομιδή .....	4
1.1.8. Ποιότητα καρπών.....	5
1.1.9. Περιβάλλον Οπωρώνα.....	8
1.1.10. Η θρεπτική αξία του μήλου για τον άνθρωπο .....	9
1.1.11. Στάδιο ωρίμανσης.....	10
1.1.12. Πρόγνωση του χρόνου συγκομιδής.....	11
1.1.13. Δείκτες ωρίμανσης για τα μήλα Ζαγοράς Πηλίου .....	13
1.1.13. Εμπορία μήλων .....	14
1.1.14. Συντήρηση με μηχανική ψύξη.....	14
1.1.15. Μεθωρίμανση των φρούτων μετά την αποθήκευση και ζωή στο ράφι.....	21
<b>1.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ</b>	
<b>ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ .....</b>	<b>22</b>
1.2.1. Γενικά .....	22
1.2.2. Μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων Φ.Π. ....	23
1.2.3. Αξιολόγηση (validation) των μεθόδων προσδιορισμού υπολειμμάτων .....	24
1.2.5. Δειγματοληψία (sampling) και διατήρηση των δειγμάτων .....	26
1.2.7. Αναλυτική διαδικασία .....	28
1.2.8. Χρωματογραφικές τεχνικές.....	31
1.2.9. Ποσοτική ανάλυση .....	33
1.2.10. Γενικές αρχές για τη μείωση της χρήσης και ανίχνευσης υπολειμμάτων Φ.Π. σε προϊόντα φυτικής προέλευσης .....	34
<b>1.3. ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟ ΕΓΚΑΥΜΑ (SCALD) .....</b>	<b>35</b>
1.3.1. Αίτια του Scald.....	35
1.3.2. Συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη του Scald .....	37
1.3.3. Μέτρα πρόληψης και ελέγχου του Scald.....	38
1.3.4. Αντιμετώπιση του Scald με χημικές ουσίες.....	41
1.3.5. Ποικιλίες και ευαισθησία στο Scald.....	42
<b>1.4. ΔΙΦΑΙΝΥΛΑΜΙΝΗ (DPA) .....</b>	<b>44</b>
1.4.1. DPA .....	44
1.4.2. Χαρακτηριστικά και φυσικοχημικές Ιδιότητες DPA .....	44

1.4.3. Μεταβολισμός και συσσώρευση της DPA στον άνθρωπο και τα ζώα .....	45
1.4.4. Μεταβολισμός της DPA σε φυτικούς ιστούς.....	45
1.4.5. Άλλες ιδιότητες της DPA .....	46
1.4.6. Συμπεριφορά & υπολειμματική δράση της DPA .....	47
1.4.7. Ανασκόπηση αναλυτικών μεθόδων (τεχνικών), για τη διερεύνηση και προσδιορισμό υπολειμμάτων της DPA.....	48
1.4.8. Ανίχνευση Υπολειμμάτων DPA σε αμεταχειρίιστα μήλα.....	50
1.4.9. Σκευάσματα και τρόποι εφαρμογής DPA .....	51
1.4.10. Δυσμενείς επιδράσεις της DPA.....	52
1.4.11. Τρόποι μείωσης της έκθεσης σε DPA στους χώρους εργασίας.....	53
<b>1.5. ΧΡΗΣΗ ΘΕΡΜΟΥ ΝΕΡΟΥ ΣΤΙΣ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ...</b>	<b>55</b>
1.5.1. Γενικά .....	55
1.5.2. Επίδραση θέρμανσης στη φυσιολογία των καρπών .....	57
1.5.3. Παραδείγματα εφαρμογής θερμού νερού - αποτελεσματικότητα.....	58
1.5.4. Άλλες τεχνικές με θερμότητα .....	58
1.5.5. Συνδυασμένη χρήση θερμότητας και φυτοπροστατευτικών προϊόντων.....	59
1.5.6. Παραδείγματα συνδυασμού μεταχειρίσεων με θερμό νερό και φυτοπροστατευτικών προϊόντων. ....	60
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....</b>	<b>61</b>
<b>2.1 ΓΕΝΙΚΑ .....</b>	<b>61</b>
<b>2.2. ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ .....</b>	<b>61</b>
<b>2.3. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ.....</b>	<b>63</b>
<b>2.4. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΗΛΩΝ .....</b>	<b>63</b>
2.4.1. Μέτρηση χρώματος .....	64
2.4.2. Σκληρότητα σάρκας.....	65
2.4.3. ΔΣΣ.....	65
2.4.4. Ενεργός οξύτητα.....	65
2.4.5. Ολική οξύτητα.....	65
2.4.6. Δείκτης ωρίμανσης.....	65
2.4.7. Ένταση Scald .....	66
2.4.8. Άλλες παρατηρήσεις .....	66
<b>2.5 ΕΛΕΓΧΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ DPA ΣΤΑ ΜΗΛΑ .....</b>	<b>66</b>
2.5.1. Χημικές ουσίες (διαλύτες και αναλυτικά πρότυπα).....	66
2.5.2 Προετοιμασία των δειγμάτων για εκτίμηση υπολειμμάτων .....	67
2.5.3. Εκχύλιση .....	67
2.5.4. Χρωματογραφική ανάλυση .....	67
<b>2.6. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ .....</b>	<b>68</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>69</b>

<b>3.1. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΙΦΑΙΝΥΛΑΜΙΝΗΣ.....</b>	<b>69</b>
<b>3.2. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΔΡΑ ΣΕ ΜΗΛΑ ΠΟΙΚ. STARKING DELICIOUS .</b>	<b>72</b>
<b>3.3. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΔΡΑ ΣΕ ΜΗΛΑ ΠΟΙΚ. GRANNY SMITH .....</b>	<b>76</b>
<b>3.4. ΓΕΝΙΚΑ ΣΧΟΛΕΙΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΗΛΩΝ .</b>	<b>79</b>
<b>3.5 ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΗΛΩΝ ΠΟΙΚ. STARKING DELICIOUS</b>	<b>81</b>
3.5.1. <i>Ένταση και ποσοστό καρπών με Scald ποικ. Starking Delicious.....</i>	<i>93</i>
<b>3.6 ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΗΛΩΝ ΠΟΙΚ. GRANNY SMITH.....</b>	<b>97</b>
3.6.1. <i>Ένταση και ποσοστό καρπών με Scald ποικ. Granny Smith .....</i>	<i>108</i>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>112</b>
<b>4.1. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΔΡΑ ΣΤΑ ΜΗΛΑ .....</b>	<b>112</b>
<b>4.2. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΗΛΩΝ .....</b>	<b>114</b>
<b>4.3. ΣΧΟΛΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΕΜΒΑΠΤΙΣΗΣ.....</b>	<b>120</b>
<b>4.4. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΕΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟ .....</b>	<b>121</b>
<b>ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>123</b>
<b>ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>129</b>