



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΠΜΣ: «ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ-ΠΟΙΟΤΗΤΑ**  
**ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**  
**ΜΑΚΡΗ ΣΩΤΗΡΙΑ**



**«Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης και διάσπασης των μυκητοκτόνων  
ortho-phenylphenol και imazalil που περιέχονται σε υγρά απόβλητα από τα  
συσκευαστήρια φρούτων από επιλεγμένα οργανικά υποστρώματα»**

**ΛΑΡΙΣΑ 2013**

**«Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης και διάσπασης των μυκητοκτόνων  
ortho-phenylphenol και imazalil που περιέχονται σε υγρά απόβλητα από τα  
συσκευαστήρια φρούτων από επιλεγμένα οργανικά υποστρώματα»**

**«Study of the depuration of efficiency of selected organic substrates against the  
fungicides ortho-phenylphenol and imazalil contained in wastewaters from the  
fruit-packaging industry»**



**Τριμελής Επιτροπή:**

- ❖ **Καρπούζας Δημήτριος, Επίκουρος Καθηγητής Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.**
- ❖ **Παπαδοπούλου Καλλιόπη, Επίκουρος Καθηγήτρια Βιοτεχνολογίας Φυτών, Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.**
- ❖ **Οιχαλιώτης Κωνσταντίνος, Επίκουρος Καθηγητής Γονιμότητας και Βιολογίας Εδάφους, Τμήματος Αξιοποίησης Φυσικών Πόρων και Γεωργικής Μηχανικής, Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.**

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2012-2013 στο Εργαστήριο της Ερευνητικής Ομάδας Βιοτεχνολογίας Φυτών και Περιβάλλοντος του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος: «Βιοτεχνολογία-Ποιότητα Διατροφής και Περιβάλλοντος». Το θέμα της μεταπτυχιακής εργασίας ήταν η μελέτη της ικανότητας επιλεγμένων οργανικών υλικών να κατακρατούν και να διασπούν τα μυκητοκτόνα ortho-phenylphenol και imazalil που περιέχονται σε υγρά απόβλητα από τα συσκευαστήρια φρούτων.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στον κ. Δημήτρη Καρπούζα, Επίκουρο Καθηγητή Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας και επιβλέποντα καθηγητή μου, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου το θέμα της παρούσας εργασίας και για την άψογη συνεργασία κατά τη διάρκεια εκπόνησής της.

Θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον υποψήφιο διδάκτορα Παναγιώτη Καραά του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας για την άψογη συνεργασία μας, την εμπιστοσύνη, την υπομονή, την επιστημονική συμβολή του και την ηθική συμπαράσταση που μου προσέφερε όλο αυτό το διάστημα. Να τον ευχαριστήσω επίσης για την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε τόσο κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, όσο και στη συγγραφή της εργασίας.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου για την βοήθεια που πρόθυμα μου προσέφεραν, την ηθική συμπαράσταση, το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας και το χρήσιμο συμβουλευτικό ρόλο που διαδραμάτισαν όλο αυτό το διάστημα.

Ευχαριστώ τους φίλους μου, Μαρία, Κώστα και Βασιλική που με στήριξαν και με βοήθησαν ηθικά τόσο κατά τη διάρκεια του μεταπτυχιακού μου, όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας διατριβής και ήταν δίπλα μου κάθε στιγμή.

Τέλος ευχαριστώ τους γονείς μου Παναγιώτη και Μαρία για την αμέριστη ηθική και οικονομική τους βοήθεια κατά τη διάρκεια φοίτησής μου στο ΠΜΣ του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

## Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ .....	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ABSTRACT.....	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
1.1. Περιβαλλοντική Ρύπανση .....	9
1.1.1. Περιβαλλοντική ρύπανση από τα γεωργικά φάρμακα .....	10
1.2. Περιβαλλοντική Τύχη Γεωργικών Φαρμάκων.....	11
1.2.1. Μη Σημειακές πηγές ρύπανσης .....	13
1.2.2. Σημειακές πηγές ρύπανσης.....	15
1.3. Ανώτατα Επιτρεπτά Όρια Γεωργικών Φαρμάκων .....	17
1.4. Συσκευαστήρια Φρούτων ως πηγές Σημειακής Ρύπανσης.....	18
1.5. Γεωργικά Φάρμακα-Χρήσεις & Γενικά Χαρακτηριστικά.....	19
1.5.1. Ortho-phenylphenol .....	19
1.5.1.1. Χρήσεις .....	19
1.5.1.2. Μηχανισμός δράσης .....	20
1.5.1.3. Τοξικολογικά χαρακτηριστικά .....	20
1.5.1.4. Περιβαλλοντική Τύχη .....	22
1.5.2. Imazalil .....	23
1.5.2.1. Εφαρμογές-Χρήσεις.....	24
1.5.2.2. Τοξικότητα .....	24
1.5.2.3. Περιβαλλοντική Τύχη .....	28
1.6. Μέθοδοι Διαχείρισης Αποβλήτων από τα Συσκευαστήρια Φρούτων.....	29
1.6.1. Control Tec Eco ® .....	30
1.6.2. Βιοκλίνες .....	31
1.6.2.1. Τι είναι η Βιοκλίνη; .....	32
1.6.2.2. Τύποι βιοκλινών .....	33

1.6.2.3. Συστατικά της βιοκλίνης.....	34
1.7. Σκοπός του πειράματος.....	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	39
2.1. Προετοιμασία Υποστρωμάτων πλήρωσης των στηλών .....	39
2.1.1. Εξαντλημένο Υπόστρωμα Μανιταριού-ΕΥΜ.....	39
2.1.2. Μίγμα Υποστρώματος-ΕΥΜ/άχυρο/έδαφος.....	40
2.1.3. Εκτίμηση Υδατοχωρητικότητας και Υγρασίας των υποστρωμάτων.....	40
2.1.3.1. Εκτίμηση Υγρασίας των υποστρωμάτων.....	40
2.1.3.2. Εκτίμηση Υδατοχωρητικότητας των υποστρωμάτων .....	40
2.2. Πειραματικός Σχεδιασμός.....	41
2.3. Μέθοδοι Ανάλυσης και Προσδιορισμού των γεωργικών φαρμάκων .....	45
2.3.1. Μέθοδος εκχύλισης OPP και IMZ.....	45
2.3.2. Σύστημα HPLC .....	45
2.3.3. Διαλύτες και γεωργικά φάρμακα .....	46
2.3.4. Καμπύλες αναφοράς.....	46
2.3.5. Ortho-phenylphenol-OPP .....	47
2.3.6. Imazalil-IMZ.....	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	48
3.1. Γενικά .....	48
3.2. Έκπλυση του OPP .....	48
3.3. Έκπλυση του IMZ .....	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	56
4.1. Συζήτηση.....	56
4.1.1. Ortho-phenylphenol .....	57
4.1.2. Imazalil .....	58
4.2. Συμπεράσματα και μελλοντικές κατευθύνσεις .....	59
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	60

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μετά την συγκομιδή τα φρούτα υφίστανται μετασυλλεκτική μεταχείριση με μυκητοκτόνα όπως τα ortho-phenylphenol (OPP) και imazalil (IMZ) για την προστασία τους από μυκητολογικές προσβολές κατά την διάρκεια της αποθήκευσης. Η εφαρμογή αυτή οδηγεί στην παραγωγή μεγάλου όγκου υγρών αποβλήτων που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις τοξικών (OPP) και υπολειμματικών (IMZ) γεωργικών φαρμάκων και η απευθείας απόρριψη τους στο περιβάλλον ενέχει σημαντικούς κινδύνους για το περιβάλλον και τους φυσικούς πόρους. Παρά την αναγνώριση αυτού του προβλήματος και από την Ευρωπαϊκή Κοινότητα σήμερα δεν υπάρχουν διαθέσιμα οικονομικά, απλά και αποτελεσματικά συστήματα επεξεργασίας των συγκεκριμένων αποβλήτων. Τα τελευταία έτη έχει προταθεί η χρήση των βιοκλινών για την επεξεργασία των αποβλήτων από τα συσκευαστήρια φρούτων. Η αποτελεσματικότητα τους έγκειται στην ικανότητα του πληρωτικού τους υλικού (βιομίγμα) να αποδομεί αποτελεσματικά τα γεωργικά φάρμακα που καταλήγουν σε αυτές. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε σε πείραμα στηλών η ικανότητα εξαντλημένου υποστρώματος μανιταριών του γένους *Pleurotus* (EYM) αυτούσιο ή σε μίγμα με άχυρο και έδαφος (50/25/25 κ.ο.) να κατακρατούν τα μυκητοκτόνα OPP και IMZ. Οι στήλες, σε ένα σενάριο που προσομοιάζει την χρήση των μυκητοκτόνων στα συσκευαστήρια εσπεριδοειδών, δέχτηκαν διαδοχικά για περιόδους 66 και 51 ημερών εφαρμογές διαλυμάτων OPP και IMZ. Κατά την περίοδο εφαρμογής των μυκητοκτόνων στις στήλες συλλέγονταν το έκπλυμα των στηλών και αναλύονταν για υπολείμματα των δύο μυκητοκτόνων. Η ανάλυση των εκπλυμάτων έδειξε ότι οι στήλες που ήταν πληρωμένες με το μίγμα υποστρώματος-EYM/άχυρο/έδαφος παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη ικανότητα κατακράτησης των δύο μυκητοκτόνων σε σχέση με το EYM. Ειδικότερα παρατηρήθηκε ότι το ποσοστό των OPP και IMZ που εκπλύθηκε από τις στήλες με το βιομίγμα ήταν 0.11 και 0.10% της ποσότητας που συνολικά εφαρμόστηκες στις στήλες συγκριτικά με τις στήλες με το EYM όπου τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 1.10% και 0.39%. Συνολικά το OPP παρουσίασε όπως αναμενόταν με βάση τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά υψηλότερη έκπλυση σε σχέση με το IMZ. Περαιτέρω μελέτες θα εστιάσουν στην ανάλυση του περιεχομένου των στηλών ώστε να υπολογιστεί το ισοζύγιο μάζας για τα δύο μυκητοκτόνα και να διερευνηθούν οι διεργασίες (προσρόφηση ή αποδόμηση) που οδήγησαν στον περιορισμό της έκπλυσης των δύο μυκητοκτόνων στις στήλες.

## **ABSTRACT**

Upon harvest fruits are subjected to postharvest treatment with fungicides like ortho-phenylphenol (OPP) and imazalil (IMZ) in order to be protected from fungal infestations during storage. This application leads to the production of copious volumes of wastewaters containing high concentrations of toxic (OPP) and persistent (IMZ) pesticides whose direct release might entail unacceptable risk for the environmental integrity and natural water resources. Despite the recognition of this problem by the European Commission currently there is no economical, simple to operate and efficient system for the depuration of these wastewaters. Recent studies have put forward the application of biobed systems for the treatment of these wastewaters. The efficacy of these systems is based on the degradation capacity of the biobed substrate against the given pesticides. The current study employed a column experiment in order to investigate the capacity of spent mushroom substrate from the edible fungus *Pleurotus* used either alone or in mixture with straw and soil (50/25/25% volumetric ratio) to dissipate OPP and IMZ contained in wastewaters from the fruit-packaging industry. Columns packed with the two different substrates were subjected to a realistic treatment scenario obtained from citrus fruits packaging plants which included irrigation for successive periods of 66 and 51 days with solutions of OPP and IMZ respectively. During fungicides application leachates were collected from the columns on a regular interval and the concentrations of the two pesticides were determined via HPLC. The results indicated that SMS when used in mixture with straw and soil provided a better dissipation efficiency for both pesticides compared with SMS. Thus, approximately 0.11 and 0.10% of the total amount of OPP and IMZ applied in the columns during the study were recovered in the leachate from the biomix columns compared to 1.10% and 0.39% recovered in the leachate of the SMS columns. Overall, OPP showed higher mobility than IMZ which was expected based on the physicochemical characteristics of the two chemicals. Further studies will focus on the analysis of the distribution of pesticide residues within columns in order to obtain the mass balance of the pesticides and to determine which process, degradation or adsorption, is controlling the dissipation of the two pesticides in the column study.



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

### **1.1. Περιβαλλοντική Ρύπανση**

Κατά τον προηγούμενο αιώνα σημειώθηκε τεράστια αύξηση στην παγκόσμια περιβαλλοντική ρύπανση. Η βιομηχανική ανάπτυξη, η αύξηση του πληθυσμού, η αστικοποίηση και η αμέλεια για τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις της απελευθέρωσης των χημικών στο περιβάλλον συντέλεσαν στην σημερινή υποβάθμιση του περιβάλλοντος. Συνεπώς το φυσικό περιβάλλον επιβαρύνεται από πολυάριθμους χημικούς ρύπους, τοξικούς για τα βιολογικά οικοσυστήματα, οι οποίοι προέρχονται τόσο από φυσικούς όσο και από ανθρωπογενείς παράγοντες.

Εξαιτίας της μεγάλης τοξικότητας των χημικών ρύπων, μεγάλη προσπάθεια έχει επικεντρωθεί στις μεθόδους με τις οποίες αυτοί μπορούν να απομακρυνθούν από το περιβάλλον. Αυτές οι τεχνικές ποικίλουν από την απλή φυσική απομάκρυνση σε χώρους υγειονομικής ταφής, για παράδειγμα, μέχρι πιο κοστοβόρες μεθόδους, π.χ η αποτέφρωση. Πολλές φορές, αυτές οι τεχνικές δεν απομακρύνουν εντελώς το ρύπο ή ακόμα μπορεί να αφήνουν ένα τοξικό υπόλειμμα το οποίο θα χρήζει περαιτέρω επεξεργασίας.

Στα πλαίσια των τροποποιήσεων του 1997 των νομοθετικών πράξεων για τη διασφάλιση καθαρού νερού, η EPA (Environmental Protection Agency) των ΗΠΑ δημιούργησε και δημοσίευσε μια λίστα με τους πιο συχνά απαντώμενους βιομηχανικούς ρύπους που προκαλούν άμεση απειλή για τη δημόσια υγεία και το περιβάλλον. Η λίστα αυτή περιέχει 114 οργανικές ενώσεις και 13 μέταλλα από ένα σύνολο 129 ρύπων, που θεωρούνται *ρύποι προτεραιότητας* (Philp *et al.*, 2005).

Με την πάροδο του χρόνου, αυτή η λίστα των παραγόμενων βιομηχανικών ρύπων μεγαλώνει συνεχώς με αποτέλεσμα να αυξάνεται διαρκώς η ρύπανση του περιβάλλοντος. Η επιβάρυνσή του, σχετίζεται άμεσα με τον τύπο και τη χημική δομή των ρύπων αυτών, αλλά και με τα επίπεδα συγκέντρωσής τους στο περιβάλλον. Η μέτρηση, λοιπόν, της συγκέντρωσης των ρύπων εξαρτάται κυρίως από την ποσότητα και το ρυθμό με τον οποίο απελευθερώνονται, την σταθερότητά τους στο περιβάλλον, την διαλυτότητα και την κινητικότητά τους και το ρυθμό της αβιοτικής και βιοτικής αποδόμησης τους (Janssen *et al.*, 2001).

### 1.1.1. Περιβαλλοντική ρύπανση από τα γεωργικά φάρμακα

Σήμερα τα γεωργικά φάρμακα κατέχουν σημαντικό κομμάτι του τομέα των αγροτικών καλλιεργειών για τη βελτίωση της απόδοσης των εκάστοτε καλλιεργούμενων ειδών με την αποτελεσματική αντιμετώπιση μυκήτων, ζιζανίων και εντόμων που προσβάλλουν το φυτό. Δυστυχώς όμως τα τελευταία χρόνια πολλές μελέτες καταδεικνύουν το μείζον πρόβλημα της μη ορθής χρήσης γεωργικών φαρμάκων κυρίως από τους αγρότες. Φυσική συνέπεια αυτού είναι η εμφάνιση υπολειμμάτων αυτών τόσο στο έδαφος όσο και στους υδάτινους συλλέκτες και ταμειυτήρες νερού και κατ' επέκταση στη χλωρίδα, στην πανίδα αλλά και στην τροφική αλυσίδα επηρεάζοντας άμεσα αλλά και έμμεσα την ανθρώπινη υγεία. Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσμοθετήσει μέγιστα όρια υπολειμμάτων με τον Κανονισμό 396/2005 και με την Οδηγία 80/778/EEC στο πόσιμο νερό. Τα παραπάνω όρια έχουν καθοριστεί με βάση τη ορθολογική χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων, όπως αυτή καθορίζεται στον κανονισμό 1107/2009.

Ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) ορίζει σαν *φυτοφάρμακο ή γεωργικό φάρμακο*:

*κάθε ουσία ή μίγμα ουσιών που προορίζεται για την πρόληψη, την καταστροφή ή τον έλεγχο κάθε παρασίτου, συμπεριλαμβανομένων των φορέων του (ζώα). Επίσης είναι ουσίες που μπορούν να χορηγούνται σε ζώα για τον έλεγχο των εντόμων, αραχνοειδών ή άλλων παρασίτων. Ο όρος περιλαμβάνει και τις ουσίες που προορίζονται ως ρυθμιστές της ανάπτυξης των φυτών, αποφυλλωτικά, ξηραντικά μέσα ή παράγοντες για την αραιώση των φρούτων ή πρόληψη της πρόωρης πτώσης του καρπού. Επίσης χρησιμοποιούνται ως ουσίες που εφαρμόζονται στις καλλιέργειες, είτε πριν είτε μετά τη συγκομιδή για την προστασία του εμπορεύματος από την υποβάθμιση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και μεταφοράς του (<http://en.wikipedia.org>).*

Οι γεωργικές βιομηχανίες αποτελούν σήμερα σημαντικές πηγές ρύπανσης των εδαφικών και υδάτινων οικοσυστημάτων. Στη σύγχρονη συμβατική γεωργία η αυξημένη παραγωγή αγροτικών προϊόντων εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από την εφαρμογή γεωργικών φαρμάκων τα οποία προστατεύουν τα φυτά ενάντια σε προσβολές από βακτήρια, μύκητες, νηματώδη και έντομα που περιορίζουν σημαντικά την αγροτική παραγωγή. Οι πιο γνωστές κατηγορίες γεωργικών φαρμάκων είναι τα εντομοκτόνα, τα ζιζανιοκτόνα και τα μυκητοκτόνα (Tortella and Diez., 2005). Η

αναγκαιότητα της χρήσης των γεωργικών φαρμάκων στην αγροτική παραγωγή, θεωρείται πλέον αναμφισβήτητη, ωστόσο η αλόγιστη χρήση τους με την πάροδο του χρόνου αποδείχθηκε να επιφέρει σοβαρές επιπτώσεις στο περιβάλλον και τη δημόσια υγεία. Γεωργικές πρακτικές που περιλαμβάνουν συστηματικές εφαρμογές γεωργικών φαρμάκων, έχουν σαν αποτέλεσμα την εισαγωγή στο περιβάλλον, ιδιαίτερα υπολειμματικών ρύπων που μπορούν να προκαλέσουν τόσο προβλήματα υγείας, όσο και οικολογικά προβλήματα (Echols *et al.*, 2008, Philp *et al.*, 2005).

## **1.2. Περιβαλλοντική Τύχη Γεωργικών Φαρμάκων**

Τα γεωργικά φάρμακα είτε τοποθετούνται κατ' ευθείαν στο έδαφος, είτε καταλήγουν σ' αυτό αφού πρώτα ψεκάστούν στα υπέργεια τμήματα των φυτών. Όπως και τα λιπάσματα, έτσι και τα γεωργικά φάρμακα ξεφεύγουν από τα όρια των αγρο-οικοσυστημάτων που εφαρμόζονται και ρυπαίνουν ευρύτερα το φυσικό περιβάλλον. Υπάρχουν διάφορες οδοί που μπορεί να ακολουθήσουν μετά την εφαρμογή τους. Είσοδος των γεωργικών φαρμάκων στα ύδατα μπορεί να γίνει με την έκπλυσή τους από το αγρο-οικοσύστημα λόγω βροχής ή άρδευσης, με εξάτμιση από το έδαφος του νερού της βροχής που περιέχει φάρμακα, ή με απ' ευθείας εφαρμογή των γεωργικών φαρμάκων στα νερά. Γεωργικά φάρμακα και ουσίες προερχόμενες από την αποδόμησή τους ανιχνεύονται σήμερα σε ποτάμια, λίμνες, θάλασσες, υπόγεια νερά, στο νερό της βροχής και το χιόνι και μάλιστα σε μέρη πολύ μακριά από τα σημεία στα οποία είχαν χρησιμοποιηθεί (π.χ στην Αρκτική και στην Ανταρκτική). Ανιχνεύονται επίσης και στον αέρα, μιας και έχει βρεθεί ότι μέσα σε 24 ώρες από την εφαρμογή τους, οι δραστικές ουσίες πολλών γεωργικών φαρμάκων μπορεί να έχουν απολύτως πτητικοποιηθεί ή μεταφερθεί από τον άνεμο με μορφή σταγονιδίων στην ατμόσφαιρα. Μέσω των ποταμών κυρίως, η ρύπανση με γεωργικά φάρμακα φθάνει και στη θάλασσα.

Πολλά γεωργικά φάρμακα διασπώνται στο έδαφος, αλλά έχει βρεθεί ότι τα προϊόντα αποικοδόμησής τους μπορεί να έχουν ακόμη πιο δυσμενείς επιδράσεις από τις μητρικές ουσίες. Κάποια άλλα γεωργικά φάρμακα δεν διασπώνται εύκολα, με αποτέλεσμα να παραμένουν για πολλά χρόνια στο περιβάλλον χαρακτηριζόμενα ως ιδιαίτερος υπολειμματικά ή έμμονα (highly persistent).

Διεργασίες που ελέγχουν την τύχη των γεωργικών φαρμάκων στο έδαφος:

### **Προσρόφηση**

Με την προσρόφηση δεσμεύονται τα μόρια των γεωργικών φαρμάκων στην επιφάνεια των εδαφικών κολλοειδών. Η οργανική ουσία παίζει το πιο σημαντικό ρόλο στην προσρόφηση των γεωργικών φαρμάκων που είναι άπολα μόρια (Kah and Brown 2006), ενώ τα ορυκτά της αργίλου έχουν σημαντικό ρόλο μόνο για γεωργικά μόρια που δρουν ως κατιόντα στο έδαφος (πχ. Paraquat) (Roberts *et al.*, 2002).

### **Έκπλυση**

Η έκπλυση μιας ένωσης από το έδαφος είναι το αντίστροφο της προσρόφησης της. Μόρια ενώσεων ισχυρά προσροφημένα είναι απίθανο να εκπλυθούν στα κατώτερα στρώματα του εδάφους. Για να πραγματοποιηθεί η έκπλυση πρέπει να υπάρχει καθοδική κίνηση νερού. Η κύρια είσοδος των γεωργικών φαρμάκων στο υδάτινο περιβάλλον γίνεται μέσω των νερών αποστράγγισης εδαφών που περιέχουν υπολείμματα και παρασύρουν εδαφικό υλικό.

### **Εξάτμιση**

Αρκετά γεωργικά φάρμακα παρουσιάζουν υψηλή πτητικότητα. Η πιθανότητα εξάτμισης ενός γεωργικού φαρμάκου καθορίζεται από την τάση ατμών του και από τον συντελεστή Henry που αποτελεί σχέση διαλυτότητας με την πτητικότητα κάθε ουσίας. Η εξάτμιση των φυτοφαρμάκων αποτελεί σημαντική διεργασία μόνο για τα γεωργικά φάρμακα που παρουσιάζουν υψηλή πτητικότητα (Leistra *et al.*, 2006). Η υψηλή πτητικότητα ορισμένων γεωργικών φαρμάκων έχει οδηγήσει στην χρήση τους, γενικότερα ως απολυμαντικά εδάφους (βρωμιούχο μεθύλιο) και ειδικότερα για την καταπολέμηση σημαντικών εδαφογενών φυτοπαρασίτων όπως το metham sodium (Caprubi *et al.*, 2007).

### **Χημική διάσπαση**

Μερικά γεωργικά φάρμακα υφίστανται χημικές μεταβολές στο μόριο τους και διασπώνται λόγω της επίδρασης της ηλιακής ακτινοβολίας (φωτόλυση), της καταλυτικής δράσης του εδάφους (χημική υδρόλυση) κ.λπ. (Burrows *et al.*, 2002)

## Μικροβιακή αποδόμηση

Πιστεύεται ότι η παρουσία συγκεκριμένων δομών στη χημική δομή των γεωργικών φαρμάκων μπορεί να τα κάνει λιγότερο ή περισσότερο επιδεκτικά στη διάσπαση τους από τους μικροοργανισμούς του εδάφους. (<http://www.env-edu.gr>)

Ένα πρόβλημα που σχετίζεται με τη συσσώρευση και την παραμονή των γεωργικών φαρμάκων στο έδαφος είναι η ανάπτυξη τοξικότητας προς τα φυτά, με αποτέλεσμα να παράγονται γεωργικά προϊόντα κακής ποιότητας. Άλλο φαινόμενο που παρατηρείται είναι η συσσώρευση υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων μέσα στα ίδια τα αγροτικά προϊόντα, οπότε αυτά γίνονται επικίνδυνα για τη δημόσια υγεία.

Επειδή το έδαφος περιέχει μεγάλο πλήθος οργανισμών και μικροοργανισμών, τα γεωργικά φάρμακα που τοποθετούνται ή φτάνουν στο έδαφος θανατώνουν παράλληλα με τους "επιβλαβείς" και ένα μεγάλο εύρος ωφέλιμων στο περιβάλλον οργανισμών.

Πολλά γεωργικά φάρμακα βρέθηκαν να έχουν δυσμενείς επιδράσεις:

- ✓ στη σύνθεση και στο ύψος των μικροβιακών πληθυσμών του εδάφους,
- ✓ στη δράση και λειτουργία των μικροοργανισμών,
- ✓ στην ταχύτητα διάσπασης των οργανικών ουσιών,
- ✓ στους κύκλους του αζώτου, του θείου και του φωσφόρου και
- ✓ στη σύσταση και δομή της μικροβιακής κοινότητας στην ριζόσφαιρα.

Όλες οι παραπάνω βιολογικές διεργασίες συμβάλλουν στη διατήρηση της γονιμότητας του εδάφους και οι δυσμενείς επιδράσεις των γεωργικών φαρμάκων σ' αυτές μπορούν να προκαλέσουν μείωση της παραγωγικότητας του.

Το περιβάλλον λοιπόν, μπορεί να επηρεαστεί αρνητικά από τη χρήση γεωργικών φαρμάκων προερχόμενα είτε από σημειακές είτε από μη σημειακές πηγές ρύπανσης, ανάλογα με τον τρόπο ελευθέρωσης των ρυπαντών στους τελικούς αποδέκτες:

### *1.2.1. Μη Σημειακές πηγές ρύπανσης*

Σαν μη σημειακή πηγή ρύπανσης ορίζεται η πηγή η οποία δεν είναι δυνατόν να εντοπιστεί σε κανένα ειδικό σημείο απορροής. Είναι συνήθως μεγάλες περιοχές που ρυπαίνουν το νερό με επιφανειακή απορροή, υπεδάφια ροή ή απόθεση στην

ατμόσφαιρα. Τέτοιες είναι, για παράδειγμα, οι απορροές χημικών στα επιφανειακά νερά και η διαρροή τους στο έδαφος μέσα από χωράφια, υλοτομημένα δάση, ζωοτροφές, δρόμους, αποχετεύσεις κ.ά. Μη σημειακή ρύπανση των φυσικών υδροφόρων από τα γεωργικά φάρμακα προκύπτει κυρίως από την γεωργική εφαρμογή τους, δηλαδή τον ψεκάσμό τους στα φυτά. Αυτές οι ρυπασμένες εκροές αποτελούν ένα από τα πιο σοβαρά προβλήματα παγκοσμίως όσον αφορά στον έλεγχο της ποιότητας του νερού. Εκτιμάται ότι σε χώρες με αγροτική παραγωγή η γεωργική ρύπανση, υπό τη μορφή στερεών αποθέσεων, ανόργανων λιπασμάτων, κοπριάς, αλάτων διαλυμένων στο νερό άρδευσης και γεωργικών φαρμάκων, είναι υπεύθυνη για πάνω από το 60% των συνολικών ρύπων που φτάνουν σε ποτάμια και λίμνες. Ο έλεγχος της ρύπανσης αυτού του τύπου είναι πολύ δυσχερής, επειδή είναι δύσκολο να εντοπιστούν οι τόσο διαφορετικές και διεσπαρμένες πηγές ρύπανσης.

Οι ρύποι των μη σημειακών πηγών μεταφέρονται κυρίως από την επιφανειακή απορροή του νερού και την κίνηση των υπόγειων υδάτων. Η ποσότητα των ρύπων που μεταφέρεται με το νερό απορροής στα επιφανειακά υδροφόρα συστήματα εξαρτάται από τις συγκεκριμένες εδαφικές (σύσταση εδάφους, υδρογεωλογικά χαρακτηριστικά) και κλιματολογικές συνθήκες (υψηλή βροχόπτωση), τις πρακτικές που χρησιμοποιούνται στην περιοχή (π.χ. επιφανειακή εφαρμογή γεωργικών φαρμάκων ή ενσωμάτωση στο έδαφος, βιομηχανική δραστηριότητα). Τέλος, σαν μη σημειακή πηγή ρύπανσης θεωρείται και η επιφανειακή απορροή που πραγματοποιείται όταν η ποσότητα νερού που εναποτίθεται στο έδαφος με την βροχόπτωση ή με την άρδευση ξεπερνά την διηθητική ικανότητα του νερού με αποτέλεσμα να απορρέει επιφανειακά. Σε περίπτωση όμως που υπάρχει βροχόπτωση αμέσως μετά την εφαρμογή, το πιο πιθανό είναι να υπάρχει έκπλυση στα βαθύτερα εδαφικά στρώματα και δη στα υπόγεια νερά.

Η εκτίμηση της ρύπανσης από μη σημειακές πηγές μπορεί να γίνει είτε έμμεσα μέσω μετρήσεων ποιοτικών παραμέτρων στα υδάτινα συστήματα και την υποθετική συσχέτισή τους με μη σημειακές πηγές ρύπανσης ή με δειγματοληψίες σε μικρές, ομογενείς λεκάνες και με μαθηματική περιγραφή των γεγονότων που προκαλούν τη ρύπανση από τις μη σημειακές πηγές. Στη δεύτερη διαδικασία θα πρέπει να συμπεριληφθούν επιπλέον σημαντικές πληροφορίες που αφορούν την περιοχή μελέτης όπως των χρήσεων και διαχειρίσεων της γης, τα παράγωγα απόβλητα (οργανικά υλικά, θρεπτικά στοιχεία, γεωργικά φάρμακα, ιζήματα κτλ), την εξάρτησή

τους από τη βροχόπτωση και την απορροή και τη μεταφορά τους στα υδάτινα συστήματα (<http://www.ecodonet.gr>).

Η ρύπανση των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων από γεωργικά φάρμακα εξ' αιτίας της ευρείας χρήσης τους στη γεωργία (μη σημειακές πηγές ρύπανσης), και η ανίχνευσή τους σε υψηλές συγκεντρώσεις, σχετίζεται με τη λανθασμένη διαχείρισή τους είτε στις καλλιεργήσιμες εκτάσεις είτε στο χώρο αποθήκευσής τους (Carter, 1999: Fait *et al.*, 2007).

### 1.2.2. Σημειακές πηγές ρύπανσης

Σαν σημειακή πηγή ρύπανσης ορίζεται η ρύπανση που προέρχεται από ρυπαντές που παροχετεύονται στον αποδέκτη σε συγκεκριμένη τοποθεσία μέσω στραγγιστικών και μη αγωγών ή υπονόμων ή τάφρων ή ελεύθερων ρίψεων αποβλήτων από αγροτικές, αστικές και βιομηχανικές δραστηριότητες (Εικόνα 1.1). Σε αυτή την κατηγορία, λοιπόν, ταξινομούνται οι βιομηχανικές μονάδες, οι μονάδες επεξεργασίας λυμάτων που απομακρύνουν μέρος των ρύπων, ενεργά η εγκαταλελειμμένα ορυχεία, πετρελαιοπηγές και τάνκερς. Λόγω του διακριτού τους χαρακτήρα και επειδή βρίσκονται σε συγκεκριμένο μέρος, μπορούν σχετικά εύκολα να ανιχνευθούν και να ελεγχθούν και κατά συνέπεια, η εξάλειψή τους ή η κατασκευή κατάλληλων έργων και φίλτρων στις εξόδους τους μπορεί να περιορίσει σημαντικά τη ρύπανση των υδάτινων οικοσυστημάτων.



Εικόνα 1.1. Σημειακή πηγή ρύπανσης

Είναι γνωστό ότι η μη ικανοποιητική διαχείριση των γεωργικών φαρμάκων και των χημικών ουσιών εν γένει μπορεί να οδηγήσει σε υπολείμματά τους σε επιφανειακά και υπόγεια ύδατα. Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε Δανία (Helweg, 1994, Spliid, *et al.*, 1999, Stenvang και Helweg, 2000), Γερμανία (Fischer, *et al.*, 1998a,

Fischer, *et al.*, 1998b, Frede, *et al.*, 1998, Seel, *et al.*, 1966) και Σουηδία (Kreuger, 1999) έχουν δείξει ότι οι σημειακές πηγές αποτελούν κυρίαρχη πηγή ρύπανσης των επιφανειακών και υπόγειων υδροφόρων συστημάτων με γεωργικά φάρμακα. Μια σημαντική πηγή/σημείο σημειακής ρύπανση αποτελεί ο καθαρισμός του ψεκαστικού εξοπλισμού. Αυτή η δραστηριότητα γίνεται συχνά στην ίδια θέση στις γεωργικές εκμεταλλεύσεις λόγω της ευκολίας της ύδρευσης. Υψηλές συγκεντρώσεις γεωργικών φαρμάκων έχουν βρεθεί σε θέσεις όπου πραγματοποιούνται τέτοιες εργασίες (Helweg, 1994). Ειδικότερα εάν οι εργασίες αυτές πραγματοποιούνται σε χώρο του αγροκτήματος όπου το επιφανειακό έδαφος έχει αντικατασταθεί από ένα στρώμα αμμοχάλικου και άμμου, είναι προφανής ο κίνδυνος σημειακής ρύπανσης των υπόγειων υδάτων.

Η ρύπανση των υδάτινων πόρων με γεωργικά φάρμακα μπορεί συχνά να συνδέεται με σημειακές και όχι διάχυτες πηγές. Παραδείγματα τέτοιων σημειακών πηγών είναι περιοχές γεωργικών εκμεταλλεύσεων και περιλαμβάνουν κάθε ρύπανση που οφείλεται σε λανθασμένες αγροτικές δραστηριότητες όπως το γέμισμα της δεξαμενής που χρησιμοποιήθηκε, η έκπλυσή της και η απομάκρυνση των απόνερων, διαρροές λόγω ελαττωματικού εξοπλισμού, διάφορα ατυχήματα κατά την αποθήκευση των γεωργικών φαρμάκων, απόρριψη αποβλήτων που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις τέτοιων ουσιών, από την αγροτική βιομηχανία (βιομηχανίες μετασυλλεκτικής μεταχείρισης φρούτων) σε επιφανειακά υδροφόρα συστήματα. (Carter 2000: Reichenberger *et al.*, 2007: De Wilde *et al.*, 2007: Candela *et al.*, 2008: Bourton *et al.*, 2009).

Οι σημειακές πηγές ρύπανσης των γεωργικών φαρμάκων, για παράδειγμα, συχνά συμβαίνουν κατά τη διάρκεια πλήρωσης του εξοπλισμού ψεκασμού και είναι ένας από τους πιο κυρίαρχους λόγους ρύπανσης των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων σήμερα. (Mason *et al.*, 1999: Helweg *et al.*, 2002: Ramwell *et al.*, 2004). Σε αυτές τις περιπτώσεις υψηλές δόσεις γεωργικών φαρμάκων απελευθερώνονται σε περιορισμένες περιοχές με την πιθανότητα έκπλυσης σε υπόγεια ύδατα. Σε γενικές γραμμές, περιοχές όπου παρατηρούνται διαρροές γεωργικών φαρμάκων ή χώρων διάθεσης των αποβλήτων χαρακτηρίζονται από την παρουσία μεγάλων ποσοτήτων αυτών των φαρμάκων που βρίσκονται συχνά σε μίγματα, σε εντοπισμένες θέσεις εδάφους (Gan και Koskinen, 1998). Πολλές μελέτες αναφέρουν ότι σε επιφανειακά αλλά και σε υπόγεια ύδατα ανιχνεύθηκαν ποσότητες ζιζανιοκτόνων (π.χ. diuron) και



εντομοκτόνων (π.χ. chlorpyrifos) που χρησιμοποιήθηκαν πριν τη συγκομιδή των φρούτων, αλλά και ποσότητες μυκητοκτόνων (π.χ. ortho-phenylphenol και imazalil) κατά τη μετασυλλεκτική μεταχείριση των φρούτων (Echols *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2009; Orteli *et al.*, 2005). Τέτοιες σημειακές πηγές ή άμεσες απορρίψεις μπορούν να μειωθούν μέχρι και 95% με την εφαρμογή των βέλτιστων πρακτικών διαχείρισης ([www.voluntaryinitiative.org.uk](http://www.voluntaryinitiative.org.uk)). Γι' αυτό το λόγο, σε μια προσπάθεια να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος για σημειακή ρύπανση από γεωργικά φάρμακα αναπτύχθηκαν συστήματα βιολογικής διήθησης ή *βιοφίλτρα* με σκοπό να μειωθούν οι διαρροές γεωργικών φαρμάκων στον υδροφόρο ορίζοντα. (Castillo and Torstensson, 2008).

Εκτός της εφαρμογής των βιοφίλτρων και άλλα μέτρα και στρατηγικές έχουν ακολουθηθεί για την ελαχιστοποίηση της σημειακής ρύπανσης των φυσικών υδάτινων πόρων με γεωργικά φάρμακα. Τέτοια είναι:

- (i) συμβουλευτικές εκστρατείες και συστήματα διαχείρισης για την εφαρμογή των βέλτιστων πρακτικών διαχείρισης κατά τη διάρκεια, αλλά και μετά τον ψεκάσμό των γεωργικών φαρμάκων (Ramwell *et al.*, 2004; Jaeken και Debaer 2005).
- (ii) η εφαρμογή προηγμένων συστημάτων απολύμανσης με φυσικές, χημικές ή βιολογικές μεθόδους (Spanoghe *et al.*, 2004; Karanasios *et al.*, 2012).

### **1.3. Ανώτατα Επιτρεπτά Όρια Γεωργικών Φαρμάκων**

Τα γεωργικά φάρμακα παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιτυχία της σύγχρονης γεωργίας και της παραγωγής τροφίμων. Ωστόσο, όπως προαναφέρθηκε, η χρήση των γεωργικών φαρμάκων δημιουργεί προβληματισμό στην κοινή γνώμη λόγω του δυνητικού κινδύνου για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον ([www.epa.gov](http://www.epa.gov)) (Rose *et al.*, 2003; Kookana and Aylmore, 1993). Μία από τις παρενέργειες της χρήσης των γεωργικών φαρμάκων είναι η ρύπανση του εδάφους και των επιφανειακών υδάτων, η οποία αποτελεί μείζον περιβαλλοντικό θέμα για την Ευρώπη (Kolpin *et al.*, 1996; Kolpin *et al.*, 1998; Kreuger, 1998).

Τα πρότυπα ποιότητας για τις συγκεντρώσεις γεωργικών φαρμάκων καθορίζονται από την οδηγία της Ευρωπαϊκής Ένωσης για το πόσιμο νερό που επιτρέπει την ανίχνευση συγκεντρώσεων ως και **0,1 µg/L** για ένα γεωργικό φάρμακο ή ως **0,5 µg/L** για το σύνολο των γεωργικών φαρμάκων που περιέχονται σε ένα δείγμα νερού

(98/83/ΕΟΚ). Οι ίδιες μέγιστες συγκεντρώσεις ισχύουν και για τα υπόγεια ύδατα. Πρόσφατα, η Οδηγία-πλαίσιο 2000/60/ΕΚ για το νερό έχει οδηγήσει προς μια μεγαλύτερη ευαισθητοποίηση όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των γεωργικών φαρμάκων στα υπόγεια και τα επιφανειακά ύδατα στην ΕΕ (De Wilde *et al.*, 2007).

#### **1.4. Συσκευαστήρια Φρούτων ως πηγές Σημειακής Ρύπανσης**

Η βιομηχανία μεταποίησης φρούτων εμπλέκεται στους μετασυλλεκτικούς χειρισμούς των φρούτων με κύριο σκοπό τον περιορισμό της υποβάθμισης της ποιότητας των αγροτικών προϊόντων κατά την αποθήκευση. Η μετασυλλεκτική μεταχείριση φρούτων όπως μήλων, αχλαδιών, εσπεριδοειδών και μπανανών περιλαμβάνει την χρήση ιδιαίτερα υπολειμματικών μυκητοκτόνων όπως imazalil (IMZ) και *ortho*-phenyl-phenol (OPP), με σκοπό να αποτρέψουν την εμφάνιση μυκήτων κατά την αποθήκευση (Ortelli *et al.*, 2005).

Κατά την αποθήκευση, τα φρούτα είναι ευάλωτα σε προσβολές από μύκητες που μειώνουν σημαντικά την αγοραστική τους αξία (El Ghaouth *et al.*, 2003). Για να ελαχιστοποιηθούν τέτοιου είδους απώλειες, τα φρούτα υποβάλλονται σε μεταχειρίσεις με μυκητοκτόνα οι οποίες περιλαμβάνουν τον ψεκασμό ή την εμφύσηση τους σε πυκνά διαλύματα μυκητοκτόνων.

Οι προτεινόμενες συγκεντρώσεις των μυκητοκτόνων κυμαίνονται από 200 mg/L στα υδατικά διαλύματα που εφαρμόζονται στα φρούτα ως και 1000 mg/L όταν η εφαρμογή συνοδεύεται από ταυτόχρονη κήρωση των φρούτων (Ritenour *et al.*, 2003; Mari *et al.*, 2003). Οι αυτοί χειρισμοί οδηγούν σε συσσώρευση μεγάλων όγκων υγρών αποβλήτων που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις, της τάξεως των 50-600 mg/L, γεωργικών φαρμάκων όπως τα IMZ και OPP.

Όπως έχει αποδειχθεί από προηγούμενες μελέτες η άμεση απελευθέρωση τέτοιων αποβλήτων σε υδάτινους αποδέκτες, χωρίς προηγούμενη επεξεργασία, αποτελεί μια σοβαρή σημειακή πηγή ρύπανσης. Κατά συνέπεια, τα υγρά απόβλητα που προκύπτουν από την μετασυλλεκτική μεταχείριση φρούτων και περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις υπολειμματικών μυκητοκτόνων θα πρέπει να υποστούν κάποια επεξεργασία πριν την απόρριψη τους στο περιβάλλον. Η εναπόθεση των συγκεκριμένων υγρών αποβλήτων χωρίς προηγούμενη επεξεργασία οδηγεί σε σημαντική επιβάρυνση των φυσικών υδάτινων πόρων και υποβάθμιση της

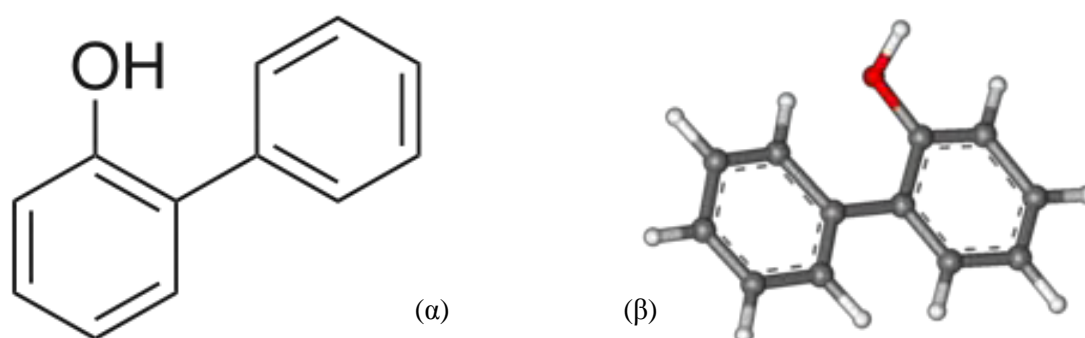
οικολογικής τους ποιότητας. Για το λόγο αυτό, η μικροβιακή αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων θεωρείται η πιο σημαντική, βιώσιμη και αποδεκτή διαδικασία για την προστασία αυτών των οικοσυστημάτων (Karpouzas and Singh, 2006).

### 1.5. Γεωργικά Φάρμακα-Χρήσεις & Γενικά Χαρακτηριστικά

Τα δυο γεωργικά φάρμακα που εξετάστηκαν στην παρούσα διατριβή, ήταν τα OPP και IMZ.

#### 1.5.1. Ortho-phenylphenol

Το ortho-phenylphenol (OPP) είναι μια οργανική ένωση που αποτελείται από δυο συνδεδεμένους δακτύλιους βενζολίου και μια φαινολική υδροξυλομάδα (Εικόνα 1.2.α-β). Είναι ένα λευκό ή κιτρινωπό, κρυσταλλικό στερεό με σημείο τήξης περίπου 57 °C. Είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μυκητοκτόνο της ομάδας των αρωματικών υδρογονανθράκων και χρησιμοποιείται και ως συστατικό απολυμαντικών προϊόντων. Είναι ένα βιοκτόνο που χρησιμοποιείται ως συντηρητικό με τα εμπορικά ονόματα Dowicide, Torsite, Preventol, Nipacide και πολλά άλλα.



Εικόνα 1.2. (α) χημική και (β) στερεοσκοπική δομή του γεωργικού φαρμάκου ortho-phenylphenol

##### 1.5.1.1. Χρήσεις

Η κύρια χρήση του OPP είναι ως μυκητοκτόνο στην αντιμετώπιση μετασυλλεκτικών ασθενειών από μύκητες (*Penicillium digitatum*, *P. Italicum*, *Botrytis cinerea* κ.α.) κυρίως στα εσπεριδοειδή. Χρησιμοποιείται, επίσης, σαν απολυμαντικό στη συσκευασία σπόρων αλλά και ως μυκητοστατικό κερι για την επικάλυψη λαχανικών για την αποφυγή μικροβιακών αλλοιώσεων κατά την αποθήκευση και μεταφορά των λαχανικών. Πρόκειται για ένα γενικό απολυμαντικό μέσον που χρησιμοποιείται στα

νοικοκυριά, νοσοκομεία, γηροκομεία, αγροκτήματα, πλυντήρια, κουρέια και τα εργοστάσια επεξεργασίας τροφίμων. Ακόμη, το OPP, ως απολυμαντικό, χρησιμοποιείται για κάθε χρήση νοσοκομειακής και υγιεινής φροντίδας στον καθαρισμό και την απολύμανση μηχανημάτων (Cnubben *et al.*, 2002; Zamora *et al.*, 2004; Ζιώγας 2007). Άλλες χρήσεις είναι στη βιομηχανία καουτσούκ και ως εργαστηριακό αντιδραστήριο. Χρησιμοποιείται, επίσης, για την παρασκευή άλλων μυκητοκτόνων, βαφών και ρητινών. Το OPP βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε ορισμένα προϊόντα οικιακής χρήσης όπως τα απολυμαντικά ψεκασμού και αεροζόλ ή σπρέι αποσμητικά μασχάλης.

#### 1.5.1.2. Μηχανισμός δράσης

Για την διερεύνηση του μηχανισμού δράσης του OPP έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες και διατυπώθηκαν πολλές θεωρίες, αλλά δεν φαίνονται να εξηγούν ικανοποιητικά την πρωταρχική δράση του μυκητοκτόνου. Μια επικρατούσα θεωρία αναφέρει ότι το OPP και γενικά οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες, προκαλούν **υπεροξείδωση των λιπιδίων** στην εσωτερική μιτοχονδριακή και πυρηνική μεμβράνη και στο ενδοπλασματικό δίκτυο των ευαίσθητων μυκήτων. Έτσι για παράδειγμα, με τη δράση του μυκητοκτόνου δημιουργούνται βλάβες στην πυρηνική μεμβράνη των μυκήτων, αφήνοντας εκτεθειμένα τα χρωμοσώματα στη δράση ελευθέρων ριζών και ενζύμων (Ζιώγας 2007).

#### 1.5.1.3. Τοξικολογικά χαρακτηριστικά

Σύμφωνα με τον οργανισμό περιβαλλοντικής προστασίας των ΗΠΑ (U.S. Environmental Protection Agency 2006), σε τοξικολογικές μελέτες που έγιναν σε εργαστηριακά ποντίκια και κουνέλια, το OPP παρουσίασε τοξικότητα μόνο σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις (περίπου 1650 mg/kg) με χορήγηση από το στόμα, οδηγώντας έτσι σε μείωση του σωματικού τους βάρους. Το OPP είναι ύποπτο να δρά ως ξενοοιστρογόνο. Αυτό μπορεί να προκαλέσει καρκίνο της ουροδόχου κύστης σε αρσενικούς αρουραίους μετά από χρόνια έκθεση σε διατροφικές δόσεις έως και 4% OPP, και την εμφάνιση όγκων στο ήπαρ ποντικών όταν τους χορηγήθηκε OPP σε δόσεις μεγαλύτερες των 200 mg/kg/ημέρα. Ο οργανισμός περιβαλλοντικής προστασίας των ΗΠΑ (United States Environmental Protection Agency, EPA ), έχει χαρακτηρίσει το OPP ως «πιθανό καρκινογόνο» σε ημερήσιες δόσεις άνω των 200mg/kg (Chunli *et al.*, 2011, EPA, Reregistration Eligibility Decision for 2-

Phenylphenol and Salts (Ortho-phenylphenol or OPP), 2006: K. Hiraga *et al.*, 1984). Από την άλλη μεριά υπάρχουν και αναφορές που αποδεικνύουν ότι το OPP δεν παρουσιάζει μεταλλαξιογόνο δράση (Tani *et al.*, 2007).

Σύμφωνα με την αναθεώρηση της Οδηγίας 2009/160/EC5 σχετικά με την ένταξη του OPP στο παράρτημα I της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ, οι ακόλουθες τιμές αναφοράς έχουν οριστικοποιηθεί ως μέρος αυτής της επαναξιολόγησης:

- ADI (Acceptable Daily Intake)-Αποδεκτή Ημερήσια Πρόσληψη: 0,4 mg/kg σωματικού βάρους / ημέρα
- ARfD (Acute Reference Dose)-Οξεία Αναφερόμενη Δόση: Δεν έχει χορηγηθεί
- AOEL (Acceptable Operator Exposure Level)-Αποδεκτό Επίπεδο Έκθεσης Χρήστη: 0,4 mg / kg σωματικού βάρους / ημέρα

Η αναθεώρηση αυτής της οδηγίας απέδειξε ότι τα υπολείμματα, που προκύπτουν από τις προτεινόμενες χρήσεις του OPP και είναι αποτέλεσμα εφαρμογής σύμφωνης με την ορθή πρακτική φυτοπροστασίας, δεν έχουν επιβλαβείς επιπτώσεις στην υγεία ανθρώπων ή ζώων. Η θεωρητική μέγιστη ημερήσια πρόσληψη (Theoretical Maximum Daily Intake-TMDI, εκτός από το νερό και τα προϊόντα ζωικής προέλευσης), για ένα παιδί είναι λιγότερο από το 5,7% της Αποδεκτής Ημερήσιας πρόσληψης (ADI), σύμφωνα με ένα μοντέλο γερμανικής διατροφής (European Food Safety Authority-EFSA μοντέλο, γερμανική διατροφή). Επιπλέον πρόσληψη από το νερό δεν αναμένεται να προκαλέσει προβλήματα (European Commission Health and Consumers Directorate-general, 2010).

Το OPP όταν αξιολογήθηκε σε θηλαστικά έδειξε χαμηλή οξεία εκ του στόματος, δερματική και διά της εισπνοής τοξικότητα (Από το στόμα Lethal Dose median-LD<sub>50</sub>=2733 mg/kg σωματικού βάρους, Δερματική LD<sub>50</sub>>2000 mg/kg, μέσω εισπνοής Lethal Concentration median-LC<sub>50</sub>>0.036 mg/L). Το OPP είναι ερεθιστικό για το δέρμα (R38, «Ερεθίζει το δέρμα») και τα μάτια (R36, «Ερεθιστικό για τα μάτια» και R41 «Κίνδυνος σοβαρής βλάβης στα μάτια») και για το αναπνευστικό σύστημα (R37 «Ερεθίζει το αναπνευστικό σύστημα»). Το δερματικό Non Observed Adverse Effect Level-NOAEL είναι 100 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα (2-phenylphenol\_DAR\_01\_Vol1\_public). Το σχετικά βραχυπρόθεσμο εκ στόματος NOAEL είναι 391 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα από μια μελέτη σε αρουραίους,

με βάση υπερπλασία στο ουροθήλιο της ουροδόχου κύστης και νεφρική βλάβη στα αρσενικά.

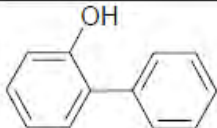
Το OPP δεν είναι γενεοτοξικό. Το NOAEL για συστηματική μακροπρόθεσμη τοξικότητα και καρκινογένεση είναι 39 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα, με βάση την αύξηση κρουσμάτων θηλωμάτων της ουροδόχου κύστης, μεταβατικά καρκινώματα, και / ή συνδυασμένα θηλώματα και / ή μεταβατικά καρκινώματα κυττάρων. Σε ποντικούς, το OPP προκάλεσε αυξημένη συχνότητα εμφάνισης αδενώματος του ήπατος, καρκίνο και ηπατοβλάστωμα στα 500 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα και 1000 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα.

Το NOAEL για τη συστηματική τοξικότητα στα ποντίκια ήταν <250 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα, ενώ το NOAEL για όγκους ήταν 250 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα (R40 Carc. Cat 3 «Υποπτο καρκινογένεσης»). Αναπαραγωγικές παράμετροι δεν επηρεάστηκαν σε οποιοδήποτε επίπεδο δόσης. Τέλος το OPP δεν έδειξε καμία αποδείξη νευροτοξικότητας. (European Food Safety Authority, EFSA Scientific Report, 2008)

#### 1.5.1.4. Περιβαλλοντική Τύχη

Σύμφωνα με την EPA το OPP είναι σταθερό σε αβιοτικές συνθήκες στο περιβάλλον. Είναι φωτολυτικά ασταθές και στην αέρια μορφή του δεν είναι υπολειμματικό. Ο κύριος τρόπος αποδόμησης του είναι η βιοαποδόμηση σε αερόβια και αναερόβια περιβάλλοντα. Οι τιμές για το χρόνο ημιζωής του OPP κυμαίνονται από τρεις ώρες ως και τρεις εβδομάδες ανάλογα με το περιβαλλοντικό υπόστρωμα που μελετήθηκε (λίμνες, ποτάμια με στάσιμα ή τρεχούμενα νερά). (U.S. Environmental Protection Agency, 2006). Ελάχιστες είναι οι αναφορές στην διεθνή βιβλιογραφία αναφορικά με την μικροβιακή αποδόμηση του OPP. Οι Sembiring και Winter (1989), απομόνωσαν το βακτηριακό στέλεχος B10 από το ίζημα υγρών αποβλήτων βιομηχανίας ζάχαρης που περιείχαν OPP. Το στέλεχος B10 είχε την δυνατότητα να διασπά το OPP (4.2 mmol/L) με ρυθμούς μέχρι και 0.4 mmol/L την ημέρα.

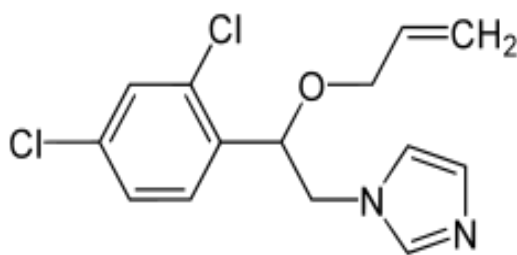
## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι της Οδηγίας 91/414/ΕΟΚ): Ταυτότητα του 2-phenylphenol

<b>Common name (ISO)</b>	2-phenylphenol (ISO 765) (a common name is not required according to ISO)  Synonyms: biphenyl-2-ol (EINECS name), ortho-phenylphenol, OPP
<b>Chemical name (IUPAC)</b>	biphenyl-2-ol
<b>Chemical name (CA)</b>	[1,1'-Biphenyl]-2-ol
<b>CIPAC No</b>	246
<b>CAS No</b>	90-43-7
<b>EEC No</b>	201-993-5
<b>FAO SPECIFICATION</b>	No data available
<b>Minimum purity</b>	998 g/kg
<b>Molecular formula</b>	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O
<b>Molecular mass</b>	170.2 g/mol
<b>Structural formula</b>	

(πηγή: European Commission Health & Consumers Directorate-General 2-phenylphenol,2010)

### 1.5.2. Imazalil

Το Imazalil (ονομασία ISO) 1-[2-(2,4-dichlorophenylethyl)-2-(2-propenyloxy) ethyl]-1H-imidazole, είναι ένα διασυστηματικό μυκητοκτόνο που αναπτύχθηκε από την βελγική εταιρεία Janssen Pharmaceutica (1969). Ανήκει στην κατηγορία των ιμιδαζολικών μυκητοκτόνων τα οποία δρουν παρεμποδίζοντας την βιοσύνθεση της εργοστερόλης στους μύκητες (Εικόνα 1.3) (Siegel *et al.*, 1977: 1978: Buchenauer *et al.*, 1977). Είναι μια ασθενής οργανική βάση και πωλείται επίσης ως άλας, νιτρικό (CAS 33586-66-2) ή θειικό (CAS 58594-72-2).



Εικόνα 1.3. χημική δομή του φυτοφαρμάκου imazalil

#### 1.5.2.1. Εφαρμογές-Χρήσεις

Το Imazalil χρησιμοποιείται για την προστασία, από μύκητες σε πατάτες, εσπεριδοειδή και άλλα φρούτα. Παρουσιάζει ευρύ φάσμα δράσης και είναι αποτελεσματικό εναντίον Ασκομυκήτων και Αδηλομυκήτων στα οπωροφόρα και τα κηπευτικά αλλά κυρίως χρησιμοποιείται κατά τη μετασυλλεκτική μεταχείριση των εσπεριδοειδών, μπανανών και άλλων φρούτων για την προστασία ενάντια σε μετασυλλεκτικές ασθένειες κυρίως από μύκητες του γένους *Penicillium*, αλλά και μύκητες του γένους *Gloeosporium*, *Fusarium* κ.α. κατά την αποθήκευσή τους (Kaplan *et al.*, 1979: Chu *et al.*, 2007: Kodama *et al.*, 2003: Maruyama *et al.*, 2007: Nunes *et al.*, 2001).

#### 1.5.2.2. Τοξικότητα

Μελέτες έχουν δείξει ότι το imazalil παρουσιάζει ανεπιθύμητες τοξικές επιδράσεις στον άνθρωπο και τα θηλαστικά και σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του σχεδίου της Υπηρεσίας Προστασίας του Περιβάλλοντος για καρκινογόνες ουσίες αξιολόγησης, έχει χαρακτηριστεί ως «πιθανό να είναι καρκινογόνο για τους ανθρώπους». Συγκεκριμένα έχει αναφερθεί ότι το imazalil παρουσίασε κυτταροτοξική δράση σε απομονωμένα ηπατικά κύτταρα αρουραίων (Nakagawa and Moore, 1995), ενώ βρέθηκε ότι επηρεάζει την δράση του κυτοχρώματος P450 (Muto *et al.*, 1997). Αυτό αποτελεί και έναν από τους μηχανισμούς δράσης του IMZ, να παρεμβαίνει δηλαδή σε ένα συγκεκριμένο ένζυμο του κυτοχρώματος P450 και έτσι να αναστέλλεται η σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος του μύκητα. Άλλες μελέτες έδειξαν ότι το imazalil έχει δυσμενείς επιπτώσεις σε αναπαραγωγικές παραμέτρους (σε ποντίκια) (Tanaka, 1995), όπως π.χ. ανασταλτική δράση εναντίον της αρωματάσης CYP19, η οποία καταλύει την μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα (Vinggaard *et al.*, 2000).



Μελέτες καρκινογένεσης σε τρωκτικά έδειξαν ότι το IMZ ήταν καρκινογόνο, βάσει της σημαντικής αύξησης ηπατικών αδενωμάτων και μεικτών αδενωμάτων/καρκινωμάτων που προκαλούσε. Σε άλλες μελέτες αξιολογήθηκε η δυνατότητα του imazalil να προκαλεί βλάβες στο DNA σε έμβρυα του ψαριού *Danio rerio* και σε ανθρώπινα λεμφοκύτταρα και αποδείχθηκε ξεκάθαρα ότι προκάλεσε αύξηση στις συχνότητες δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών και μάλιστα με τρόπο δόσοεξαρτώμενο (Sisman and Turkez, 2010). Φαίνεται δηλαδή ότι το IMZ παρουσιάζει ιδιαίτερα υψηλή τοξικότητα στους υδρόβιους οργανισμούς.

### ☞ Οξεία Τοξικότητα

Όσον αφορά την οξεία τοξικότητα, το imazalil πρέπει να χαρακτηριστεί ως επιβλαβές όταν εισπνέεται ( $LC_{50}=1,84$  mg/L) και μέσω της στοματικής οδού (lethal dose,  $LD_{50}=227$  mg/kg σωματικού βάρους). Η διαδερματική τοξικότητά του είναι χαμηλή, δεν είναι ερεθιστικό για το δέρμα, αλλά είναι σοβαρά ερεθιστικό για τα μάτια. Με βάση την οξεία τοξικότητα, η προτεινόμενη ταξινόμηση είναι «R22 Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης» και «R20 Επιβλαβές όταν εισπνέεται» και «R41 Κίνδυνος σοβαρής βλάβης στα μάτια»

### ☞ Βραχυπρόθεσμη Τοξικότητα

Μετά από επαναλαμβανόμενες από του στόματος εκθέσεις των αρουραίων, ποντικών και σκύλων σε IMZ, επιπτώσεις παρατηρήθηκαν κυρίως στο ήπαρ (τροποποιήσεις των βιοχημικών παραμέτρων, αύξηση του βάρους του οργάνου, υπερτροφία των κυττάρων και ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις). Αυτές οι επιδράσεις δεν ήταν εκφυλιστικές και μπορεί να ερμηνευθεί ως το αποτέλεσμα της χρόνιας διέγερσης των ηπατοκυττάρων, λόγω του αυξημένου μεταβολισμού. Σε κουνέλια, δεν υπάρχουν συστηματικές τοξικές επιδράσεις μετά από τρεις εβδομάδες δερματικής έκθεσης. Το σχετικό Non Observed Adverse Effect Level-NOAEL (επίπεδο που δεν παρατηρούνται δυσμενείς επιπτώσεις) σε μελέτες αρουραίων ήταν 5 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα (3 και 6 μήνες) και σε σκύλους 2,5 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα (1 έτος).

### ☞ Μακροπρόθεσμη Τοξικότητα και Καρκινογένεση

Όπως αναφέρεται και στην βραχυπρόθεσμη τοξικότητα του IMZ, τα ίδια συμβαίνουν και σε μακροπρόθεσμη τοξικότητα μετά από επαναλαμβανόμενη, από του στόματος,

έκθεση αρουραίων στο imazalil. Το σχετικό NOAEL στους αρουραίους ήταν 3,6 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα και στο ποντίκι 8,1 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα. Δεν υπάρχουν στοιχεία καρκινογένεσης του imazalil σε αρουραίους σε χαμηλές δόσεις. Σε μια μελέτη καρκινογένεσης δύο ετών σε ποντικούς, η αύξηση ηπατοκυτταρικών νεοπλασμάτων (οζίδια), βρέθηκαν σε άρρενα σε μέση και υψηλότερη δόση και σε θήλεα στην υψηλότερη δόση imazalil.

### **☞ Αναπαραγωγική Τοξικότητα**

Σε μια μελέτη δύο γενεών σε αρουραίους, το imazalil δεν προκάλεσε δυσμενείς επιδράσεις στο ζευγάρι και τη γονιμότητα, αλλά παρατεταμένη διάρκεια κύησης, σε υψηλότερη δόση του φυτοφαρμάκου, τόσο στην πρώτη, όσο και στη δεύτερη γενιά. Το σχετικό «γονικό» NOAEL ήταν 20 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα, το σχετικό NOAEL της αναπαραγωγής 80 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα και το σχετικό NOAEL στους απογόνους 20 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα.

Το imazalil δεν προκάλεσε τερατογένεση σε μελέτες που έγιναν σε αρουραίους και κουνέλια. Παρατηρήθηκε εμβρυοτοξικότητα σε τοξικές, για τη μητέρα, δόσεις σε αρουραίους. Οι επιδράσεις αυτές αποτελούνταν από μειωμένο βάρος των νεογνών και μειωμένη ή ατελής οστεοποίηση. Το σχετικό NOAEL της μητέρας ήταν 27 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα και 5 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα σε αρουραίους και κουνέλια, αντίστοιχα. Το σχετικό NOAEL όσον αφορά την ανάπτυξη, ήταν 9 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα σε αρουραίους και 5 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα σε κουνέλια.

### **☞ Νευροτοξικότητα**

Δεν έχουν υποβληθεί μελέτες νευροτοξικότητας για την αξιολόγηση του imazalil για την ένταξή του στο παράρτημα I της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ. Τα αποτελέσματα των επανειλημμένων διαθέσιμων μελετών τοξικότητας με imazalil δεν δείχνουν νευροτοξικές επιδράσεις. (imazalil assessment report\_vol.1, 2009).

Σύμφωνα με την αναθεώρηση της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ, στην οποία εντάσσεται το imazalil (παράρτημα Ι), οι ακόλουθες τιμές αναφοράς έχουν οριστικοποιηθεί ως μέρος αυτής της επαναξιολόγησης:

- ADI (Acceptable Daily Intake)-Αποδεκτή Ημερήσια Πρόσληψη: 0,025 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα
- ARfD(Acute Reference Dose)-Οξεία Αναφερόμενη Δόση: 0,05 mg/kg σωματικού βάρους
- AOEL(Acceptable Operator Exposure Level)-Αποδεκτό Επίπεδο Έκθεσης Χρήστη: 0,05 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα

Όσον αφορά ειδικότερα τα κατάλοιπα, η αναθεώρηση απέδειξε ότι τα υπολείμματα που προκύπτουν από την προτεινόμενες χρήσεις, που είναι αποτέλεσμα εφαρμογής σύμφωνης με την ορθή πρακτική φυτοπροστασίας, δεν έχουν επιβλαβείς επιπτώσεις στην υγεία ανθρώπων ή ζώων. Η Διεθνής Εκτιμώμενη Ημερήσια Πρόσληψη (IEDI) είναι 4 % της αποδεκτής ημερήσιας πρόσληψης (ADI), (EFSA). Πρόσθετη πρόσληψη από το νερό δεν αναμένεται να προκαλέσει προβλήματα. (European Commission Health & Consumers Directorate-General, 2011).

Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει επίσης ανώτατα όρια καταλοίπων (ΑΟΚ) για τη δραστική ουσία imazalil σε πολλά προϊόντα, όπως παράδειγμα για τα εσπεριδοειδή είναι 5 mg/kg. Εντούτοις, επειδή τα κατάλοιπα γεωργικών φαρμάκων, συνδεδεμένα με τη μόλυνση εσπεριδοειδών, είναι πολύ κάτω από τις συγκεντρώσεις που σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, αποτιμήθηκαν ως ασήμαντα (<http://nl.wikipedia.org>).

Η ΕΡΑ έχει θεσπίσει ισοδύναμο επίπεδο τοξικότητας για την ανθρώπινη έκθεση σε  $6,1 \times 10^{-2}$  mg / kg / ημέρα. Αυτό το επίπεδο τοποθετείται στην κατηγορία I, II και IV, για την από του στόματος, διά του δέρματος και της εισπνοής τοξικότητα. Η Κατηγορία I ταξινομείται ως εξαιρετικά ερεθιστική για τα μάτια, αλλά όχι για το δέρμα. Όσον αφορά την τοξικότητα από το στόμα, όταν το μυκητοκτόνο μεταφέρεται μέσω της τροφής στο σώμα, θα πρέπει να μεταβολίζεται πριν κάνει οποιαδήποτε ζημιά. Σύμφωνα με την ΕΡΑ, το IMZ έχει ένα πολύ λεπτό βαθμό κινητικότητας, έτσι ώστε το επίπεδο της μόλυνσης του πόσιμου νερού να είναι αρκετά χαμηλό. Η

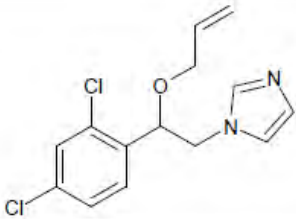
εκτιμώμενη συγκέντρωση στο περιβάλλον (ΕΟΚ) πρέπει να είναι στα επίπεδα των 0.072 ppb για τα επιφανειακά ύδατα και 500 ppb για το πόσιμο νερό.

### 1.5.2.3. Περιβαλλοντική Τύχη

Το imazalil έχει χαμηλή διαλυτότητα στο νερό, είναι πολύ σταθερό στην υδρόλυση, φωτολύεται σχετικά γρήγορα, αποδομείται πολύ αργά στο έδαφος κάτω από αερόβιες συνθήκες, είναι ελάχιστα κινητικό στα εδάφη και δεν είναι ιδιαίτερα πτητικό. Σύμφωνα με αυτές τις ιδιότητες, τις μεθόδους και την συχνότητα εφαρμογής του, η EPA υποστηρίζει ότι το imazalil δεν είναι πιθανό να βρεθεί σε σημαντικές συγκεντρώσεις στο περιβάλλον. Σύμφωνα με την Οδηγία 91/414/ΕΟΚ, για τη χρήση του μετά τη συγκομιδή σε εσπεριδοειδή, ο κίνδυνος για το έδαφος και τους υδρόβιους οργανισμούς χαρακτηρίζεται ως χαμηλός και το ενδεχόμενο ρύπανσης των υπόγειων υδάτων θεωρείται χαμηλό (European Food Safety Authority-EFSA, Conclusion On Pesticide Peer Review, 2010).

Πρόσφατη αξιολόγηση του μυκητοκτόνου imazalil από την Επιστημονική Επιτροπή Φυτών της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Scientific Committee on Plants, SCP) κατέληξε ότι η μετασυλλεκτική χρήση του συγκεκριμένου μυκητοκτόνου σε φρούτα, κηπευτικά και πατάτες θα επιτραπεί στα κράτη-μέλη μόνο υπό την προϋπόθεση ότι θα υπάρξει ολοκληρωμένο και κατάλληλο σχέδιο απορρύπανσης των υγρών αποβλήτων που παράγονται από την συγκεκριμένη χρήση. Εναλλακτικά, θα πρέπει να παρουσιάζονται μελέτες όπου τα υπολείμματα του μυκητοκτόνου δεν προκαλούν βλάβες σε χερσαία και υδάτινα περιβάλλοντα (91/414/EEC/ Imazalil-1688/VI/97-Final).

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι της Οδηγίας 91/414/ΕΟΚ): Ταυτότητα του Imazalil

<b>Common name (ISO)</b>	Imazalil
<b>Chemical name (IUPAC)</b>	( <i>RS</i> )-1-(β-allyloxy-2,4-dichlorophenethyl)imidazole or allyl ( <i>RS</i> )-1-(2,4-dichlorophenyl)-2-imidazol-1-ylethyl ether
<b>Chemical name (CA)</b>	( <i>RS</i> )-1-[2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(2-propenyloxy)ethyl]-1 <i>H</i> -imidazole
<b>CIPAC No</b>	335
<b>CAS No</b>	35554-44-0 73790-28-0 (replaced)
<b>EEC No</b>	252-615-0
<b>FAO SPECIFICATION</b>	950 g/kg: FAO Specification 335/TC (2001) Imazalil (free base) technical material
<b>Minimum purity</b>	950 g/kg (racemic)
<b>Identity of relevant impurities (of toxicological, ecotoxicological and/or environmental concern)</b>	None
<b>Molecular formula</b>	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O
<b>Molecular mass</b>	297.18
<b>Structural formula</b>	

(πηγή: European Commission Health & Consumers Directorate-General-imazalil, 2011)

### 1.6. Μέθοδοι Διαχείρισης Αποβλήτων από τα Συσκευαστήρια Φρούτων

Τα συσκευαστήρια φρούτων αποτελούν σημαντική πηγή ρύπανσης, αφού απελευθερώνουν στο περιβάλλον υγρά απόβλητα με υψηλές συγκεντρώσεις ιδιαίτερα υπολειμματικών και τοξικών γεωργικών φαρμάκων. Παραδοσιακές τεχνικές διαχείρισης επικίνδυνων αποβλήτων, όπως φυσικές, χημικές και θερμικές τεχνικές ή διήθησή τους μέσω του εδάφους, δεν είναι πάντοτε αποτελεσματικές και σε πολλές περιπτώσεις αποδεικνύονται δαπανηρές. Λαμβάνοντας υπόψη την τεράστια σημασία που έχει η διατήρηση καθαρού πόσιμου νερού και υγιούς γόνιμης γης για κάθε χώρα, αλλά και τις πολιτικές επιπτώσεις που μπορεί να επιφέρει η ρύπανση από τις παραπάνω ενέργειες όταν διασχίσει τα εθνικά σύνορα, είναι ιδιαίτερα σημαντική η

ανάγκη για την εύρεση οικονομικών και αποτελεσματικών τεχνολογιών για την απομάκρυνση τέτοιων περιβαλλοντικών ρύπων (Philp, 2005).

Δύο τέτοιες τεχνολογίες είναι:

- Το σύστημα *Control Tec Eco* ®
- Οι Βιοκλίνες

#### 1.6.1. *Control Tec Eco* ®

Το CONTROL TEC ECO-R, είναι ένα σύστημα, που δημιουργήθηκε από την εταιρία Tecnidex, το 1984 στην Ισπανία, με σκοπό την επαναχρησιμοποίηση των επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων από συσκευαστήρια φρούτων. Το σύστημα αυτό, επιτρέπει το διαχωρισμό και την εξάλειψη των στερεών και της οργανικής ύλης που περιέχονται στα απόβλητα από την μετασυλλεκτική μεταχείριση φρούτων και λαχανικών, ώστε να αποφευχθεί η απόρριψή τους σε ΧΥΤΑ (Εικόνα 1.4.α-β).

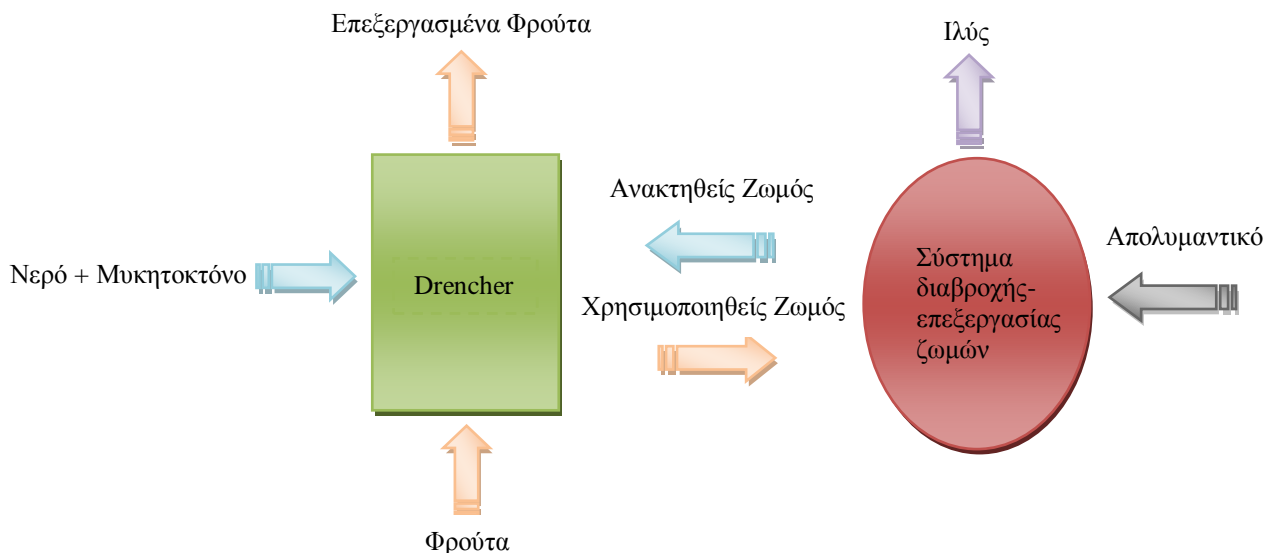


Εικόνα 1.4.(α) Σύστημα Control Tec Eco ®

#### **Πλεονεκτήματα της μεθόδου:**

- ✓ Εγγυάται τη συμμόρφωση συσκευαστηρίων φρούτων με την αυστηρή περιβαλλοντική νομοθεσία.
- ✓ Χρησιμοποιεί τις τελευταίες τεχνολογίες για την επεξεργασία του νερού, όπως το φιλτράρισμα και τη μικροδιήθηση των στερεών και της οργανικής ύλης, καθώς και την επαναχρησιμοποίηση των επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων.

- ✓ Είναι ένα εξαιρετικά αποδοτικό σύστημα για τον έλεγχο των βακτηρίων και των μυκήτων που υπάρχουν στα υγρά απόβλητα ενώ διατηρεί τη συγκέντρωση των μυκητοκτόνων σε χαμηλά επίπεδα.
- ✓ Επιτρέπει την όλη διαδικασία να ελέγχεται αυτόματα μέσω μίας οθόνης αφής συνδεδεμένης με ένα ηλεκτρικό πίνακα, βασισμένο σε μια προγραμματισμένη συσκευή όπου ελέγχεται ολόκληρη η λειτουργία του συστήματος.
- ✓ Επιτρέπει στα συσκευαστήρια φρούτων και λαχανικών να υιοθετήσουν διαδικασίες υψηλής ποιότητας και να χρησιμοποιήσουν «καθαρές» τεχνολογίες που ευνοούν την αειφόρο ανάπτυξη (<http://www.postharvest.biz/>).



Εικόνα 1.4.(β) Σχηματική απεικόνιση λειτουργίας Control Tec Eco ®

### 1.6.2. Βιοκλίνες

Τα γεωργικά φάρμακα όπως προαναφέρθηκε, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην επιτυχία της σύγχρονης γεωργίας και στην παραγωγή τροφίμων. Ωστόσο, η χρήση τους έχει δημιουργήσει μια δημόσια ανησυχία λόγω του δυνητικού κινδύνου για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον ([www.epa.gov](http://www.epa.gov)) (Rose *et al.*, 2003: Kookana and Aylmore, 1993).

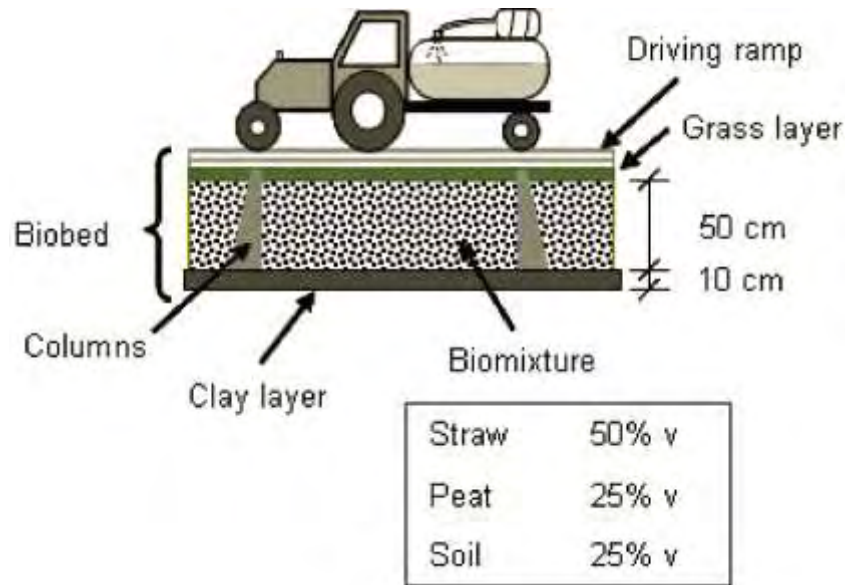
Μια διαρροή στον υδροφόρο ορίζοντα μερικών χιλιοστόλιτρων από ένα σκεύασμα γεωργικών φαρμάκων μπορεί να περιέχει ως και 1 g δραστικού συστατικού και 10.000m<sup>3</sup> νερού απαιτούνται για την αραιώση αυτής της ποσότητας σε μια αποδεκτή συγκέντρωση 0,1 µg/L για το νερό (98/83/ΕΟΚ). Μια εναλλακτική λύση του

προβλήματος είναι η χρήση συστημάτων βιολογικής αποκατάστασης για την επεξεργασία των υγρών που προέρχονται από το αγρόκτημα ή / και διαρροές από διαδικασίες πλήρωσης του μηχανήματος ψεκασμού. Το καλύτερο διεθνώς σύστημα, που έχει αναπτυχθεί και δοκιμαστεί για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων που προκύπτουν από γεωργικές δραστηριότητες στον αγρό είναι η Βιοκλίνη (Biobed). Οι Βιοκλίνες προέρχονται από τη Σουηδία, όπου και δημιουργήθηκαν για πρώτη φορά, ως απόκριση στην ανάγκη για απλές και αποτελεσματικές μεθόδους για την ελαχιστοποίηση της σημειακής ρύπανσης του περιβάλλοντος από τη χρήση γεωργικών φαρμάκων. Το σύστημα των βιοκλινών έχει ελκύσει το ενδιαφέρον σε πολλές χώρες, όπου πραγματοποιείται έρευνα, ώστε αυτά τα συστήματα να προσαρμοστούν στις τοπικές πρακτικές. Κατά συνέπεια, το σύστημα των βιοκλινών έχει τροποποιηθεί και μερικές φορές μετονομαστεί, όπως για παράδειγμα σαν *biomassbed* στην Ιταλία, *βιοφίλτρο (biofilter)* στο Βέλγιο και *Phytobac* και *Biobac* στη Γαλλία. Η αποτελεσματικότητα και η απλότητα των βιοκλινών τις καθιστούν κατάλληλες για χρήση σε αναπτυσσόμενες χώρες (π.χ. Περού, Γουατεμάλα και Εκουαδόρ). Στα πλαίσια της προσαρμογής των βιοκλινών στις εκάστοτε τοπικές συνθήκες και εφαρμογές, σημειώνονται αλλαγές κυρίως στη δομή του συστήματος και στη σύσταση του υποστρώματος-βιομιγματος, με σκοπό την καλύτερη απόδοση του συστήματος (Castillo *et al.*, 2008).

#### 1.6.2.1. Τι είναι η Βιοκλίνη;

Η αυθεντική σουηδική Βιοκλίνη είναι μια απλή και φθηνή κατασκευή που προορίζεται για τη συλλογή και την αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων που περιέχονται σε υγρά απόβλητα που προκύπτουν από μη ορθολογικές πρακτικές πριν ή μετά την διαδικασία του ψεκασμού (γέμισμα, άδειασμα και πλύσιμο ψεκαστήρα). Η βιοκλίνη στην αρχική της μορφή είναι ένα όρυγμα βάθους 0.60-1 m που αποτελείται από τρία κύρια τμήματα: (i) ένα αδιαπέραστο στρώμα αργίλου στον πυθμένα (10 cm) (ii) ένα βιομικροβιοτικό στρώμα που αποτελείται από άχυρο, τύρφη και έδαφος, σε αναλογίες 50:25:25 vol%, και με το οποίο πληρούται το όρυγμα και (iii) ένα στρώμα χλόης που καλύπτει την επιφάνεια της βιοκλίνης (Εικόνα 1.5). Η βιοκλίνη αποτελείται επίσης και από μια ράμπα ώστε να επιτρέπει στον ψεκαστήρα να σταθμεύει πάνω από αυτή (Torstensson *et al.*, 1997:2000:2002).





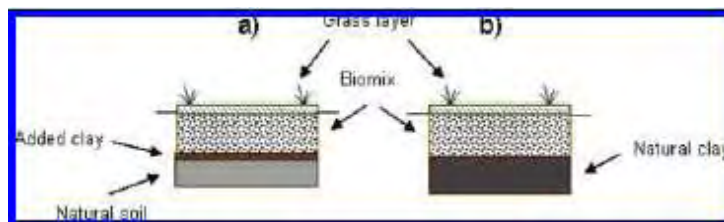
Εικόνα 1.5. Σύστημα Βιοκλίνης

#### 1.6.2.2. Τύποι βιοκλινών

Ανάλογα με το αν ο πυθμένας της βιοκλίνης είναι ή όχι μονωμένος υπάρχουν δύο τύποι βιοκλίνης: η μονωμένη και η μη μονωμένη βιοκλίνη.

##### ➤ Μη μονωμένη βιοκλίνη

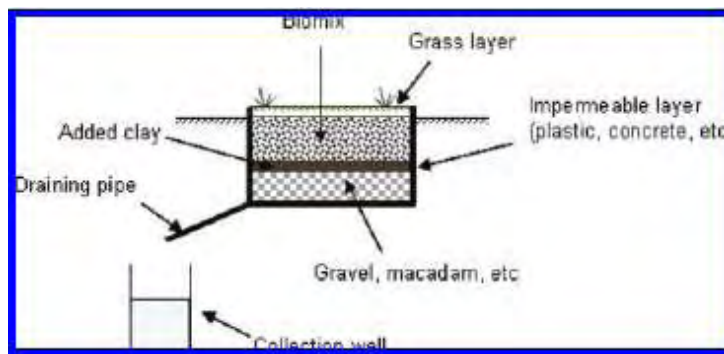
Η μη μονωμένη βιοκλίνη δεν περιλαμβάνει στον πυθμένα της αδιαπέραστο συνθετικό στρώμα που να απομονώνει το βιομίγμα από το περιβάλλον έδαφος. Η αυθεντική, πρωτότυπη, σουηδικού σχεδιασμού βιοκλίνη ανήκει σε αυτή την κατηγορία. Σε πολλές περιπτώσεις, ένα φυσικό στρώμα αργίλου υπάρχει στον πυθμένα της βιοκλίνης. Εάν αυτό δεν υπάρχει, τότε το στρώμα αργίλου προστίθεται ώστε να περιορίζεται όσο το δυνατόν περισσότερο η έκπλυση. Δεν πραγματοποιείται καμία συλλογή του νερού αποστράγγισης σε αυτό το σύστημα (εικόνα 1.6α).



Εικόνα 1.6(α). Μη μονωμένη βιοκλίνη

➤ Μονωμένη βιοκλίνη

Η μονωμένη βιοκλίνη μοιάζει με τον αρχικό σουηδικό σχεδιασμό αλλά είναι μονωμένη, καθώς είναι επενδεδυμένη με ένα συνθετικό αδιάβροχο και αδιαπέραστο στρώμα (πλαστικό, σκυρόδεμα, μουςαμά, κ.λπ.). Ο σχεδιασμός αυτός επιτρέπει τη συλλογή του νερού αποστράγγισης σε ειδικά φρεάτια που βρίσκονται στο πλάι της βιοκλίνης (εικόνα 1.6β). Τέτοιου τύπου βιοκλίνες χρησιμοποιούνται στη Μεγάλη Βρετανία και σε άλλες χώρες (Castillo *et al.*, 2008).



Εικόνα 1.6(β). Μονωμένη βιοκλίνη

1.6.2.3. Συστατικά της βιοκλίνης

Η αποτελεσματικότητα της κατακράτησης και αποδόμησης των γεωργικών φαρμάκων εξαρτάται από καθένα από τα συστατικά της βιοκλίνης: το στρώμα αργίλου, το βιομίγμα και το επιφανειακό στρώμα γρασιδιού.

➤ Το στρώμα αργίλου

Λόγω της χαμηλής διαπερατότητας και της υψηλής ικανότητας απορρόφησης, η άργιλος χρησιμοποιείται ως ένα αδιαπέραστο στρώμα για τη μείωση της ροής του νερού προς το έδαφος και την αύξηση του χρόνου παραμονής του φυτοφαρμάκου στη βιοκλίνη. Απαραίτητη προϋπόθεση για την καλή λειτουργία του στρώματος αργίλου είναι ότι το υλικό πρέπει να είναι υγρό και διογκωμένο για την αποφυγή σχηματισμού ρωγμών και επιλεκτικής ροής.

➤ Το βιομίγμα

Το βιομίγμα θα πρέπει να έχει τη δυνατότητα να κατακρατεί και να αποδομεί τα γεωργικά φάρμακα. Για να επιτευχθεί αυτό, το βιομίγμα θα πρέπει να έχει καλή ικανότητα προσρόφησης και υψηλή μικροβιακή δραστηριότητα. Και οι δύο αυτές

δυνατότητες επηρεάζονται από τη σύνθεση, την ομοιογένεια, την ηλικία, την υγρασία και η θερμοκρασία του μίγματος. Το βιομίγμα έχει αποδειχθεί ο κύριος παράγοντας ρύθμισης της αποτελεσματικότητας της βιοκλίνης. Το παραδοσιακό βιομίγμα (Σουηδία) αποτελείται από άχυρο, τύρφη και έδαφος σε αναλογίες 50:25:25 vol% (2:1:1). Το **άχυρο** είναι το κύριο υπόστρωμα και αποτελεί θρεπτικό υλικό για την υποστήριξη της υψηλής μικροβιακής δραστηριότητας. Ειδικά η παρουσία αχύρου ευνοεί τους μύκητες λευκής σήψης (ΜΛΣ) οι οποίοι παράγουν φαινολοξειδάσες (υπεροξειδάσες και λακάσες) που παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων. Έχει αποδειχθεί ότι η ικανότητα του βιομίγματος να αποδομεί τα γεωργικά φάρμακα σχετίζεται θετικά με το ποσοστό του άχυρου που περιείχε. Ως εκ τούτου, στην κατασκευή της βιοκλίνης συνιστάται ένα υψηλό ποσό άχυρου, αν και στην πράξη δεν είναι δυνατό να υπερβαίνει το 50% κ.ο. ώστε να επιτευχθεί ένα ομοιογενές μίγμα (Torstensson *et al.*, 1997:2002; Castillo *et al.*, 2007:2008).

Παρότι το άχυρο φαίνεται να είναι αποτελεσματικό συστατικό του βιομίγματος, η υψηλή διαθεσιμότητα και το χαμηλό κόστος άλλων λιγνινοκυτταρινούχων υλικών σε συγκεκριμένες περιοχές έχει οδηγήσει στη χρήση υποκατάστατων του άχυρου στα βιομίγματα. Έτσι, έχει δοκιμαστεί η αντικατάστασή του με κλαδιά αμπέλου, φλούδες εσπεριδοειδών, χιτίνη, υποπροϊόντα καρύδας, υπολείμματα ζαχαροκάλαμων κ.α. (Coppola *et al.*, 2007; Genot *et al.*, 2002; Debaer *et al.*, 2006; de Roffignac *et al.*, 2008). Παραπροϊόντα οινοποιίας αποδείχθηκαν να έχουν υψηλότερη αποτελεσματικότητα από το άχυρο ενώ λιγνινοκυτταρινούχα υλικά με υψηλό φαινολικό περιεχόμενο, όπως φύλλα ελιάς και φλούδες πορτοκαλιών, οδήγησαν σε εξαιρετικά περιορισμένη αποδομητική ικανότητα. Στην ίδια μελέτη αποδείχθηκε ότι το *εξαντλημένο υπόστρωμα μανιταριού-EYM (Spent Mushroom Substrate-SMS)* παρουσίαζε υψηλή αποδομητική ικανότητα ανάλογη με την περιεκτικότητά του στο βιομίγμα. Μάλιστα, ακόμη και σε μικρές αναλογίες του EYM (5%) ήταν αρκετές για να προάγουν την αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων σε σύγκριση με την αποδόμησή τους σε βιομίγμα που περιείχε μόνο άχυρο αντί για EYM (Karanasios *et al.*, 2010). Το EYM αποτελείται από παστεριωμένο άχυρο, εμβολιασμό με τον εδώδιμο μύκητα λευκής σήψης *Pleurotus ostreatus*. Αυτό το υπόστρωμα απομακρύνεται σε μεγάλες ποσότητες μετά την ολοκλήρωση της παραγωγής μανιταριών και μπορεί να ληφθεί απ' όλες τις μονάδες παραγωγής τους χωρία καθόλου κόστος, αφού δεν είναι πλέον χρήσιμο για περαιτέρω παραγωγή μανιταριών.

Τελικά, η ενσωμάτωση του EYM στο έδαφος αποδείχθηκε αποτελεσματική για την αποδόμηση διάφορων γεωργικών φαρμάκων σε σχέση με το άχυρο (Kadian *et al.*, 2008). Μόνο μερικές μελέτες έχουν διερευνήσει τη χρήση αυτού του υποστρώματος στις βιοκλίνες. Οι Trevisan *et al.* (2007) χρησιμοποίησαν EYM σε ένα πρότυπο σύστημα βιοκλίνης με καλά αποτελέσματα. Σε άλλες μελέτες, ο εμβολιασμός των βιομιγμάτων της βιοκλίνης με ΜΛΣ βελτίωσε την αποδόμηση γεωργικών φαρμάκων (Castillo *et al.*, 2001; Bending *et al.*, 2002).

Το **έδαφος** παρέχει ικανότητα προσρόφησης και αποτελεί σημαντική πηγή μικροοργανισμών, ιδιαίτερα βακτηρίων που αποδομούν τα φυτοφάρμακα (Torstensson, 1996). Ωστόσο, η περιεκτικότητα σε άργιλο δεν πρέπει να είναι τόσο υψηλή ώστε να μειώνει την βιοδιαθεσιμότητα των γεωργικών φαρμάκων ή να καθιστά δύσκολη την επίτευξη ενός ομοιογενούς βιομίγματος (Bergstrom L.: Stenstrom J., 1998). Η παρουσία των βακτηρίων του εδάφους στο βιομίγμα μπορεί να βελτιώσει σε σημαντικό βαθμό την αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων αποδομώντας για παράδειγμα πιο πολικούς μεταβολίτες που προκύπτουν από την αποδόμηση ορισμένων γεωργικών φαρμάκων που προκύπτουν από τον αρχικό μεταβολισμό των γεωργικών φαρμάκων από τους μύκητες λευκής σήψης (Castillo *et al.*, 2007; Torstensson *et al.*, 1996; Bergstrom *et al.*, 1998; Kotternam *et al.*, 1998).

Η **τύρφη** στο βιομίγμα συμβάλλει στην ικανότητα απορρόφησης, βελτιώνει το πορώδες του βιομίγματος και διατηρεί βέλτιστες συνθήκες υγρασίας. Συμβάλλει επίσης στην αβιοτική αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων και μειώνει το pH του βιομίγματος. Μια υψηλή περιεκτικότητα σε τύρφη δίνει ένα χαμηλό pH ευνοϊκό για την ανάπτυξη μυκήτων λευκής σήψης. Ως εκ τούτου, συνιστάται ένα επίπεδο τύρφης 25% κατ' όγκο, το οποίο δίνει ένα τελικό pH περίπου 5,9, κατάλληλο για την αποικοδόμηση των μυκητών (Castillo *et al.*, 2007). Ένας σημαντικός παράγοντας που ενεργοποιεί συχνά το λιγνολυτικό ενζυμικό σύστημα των μυκήτων είναι ο περιορισμός των θρεπτικών συστατικών και κυρίως του N, γι αυτό και η προσθήκη θρεπτικών ουσιών στο βιομίγμα δεν συνιστάται (Castillo *et al.*, 2007:2008; Coppola *et al.*, 2007; Karanasios *et al.*, 2010).

Η χρήση της τύρφης στο βιομίγμα έχει επικριθεί λόγω του σχετικά υψηλού κόστους και της χαμηλής διαθεσιμότητάς της σε χώρες της νότιας Ευρώπης. Για το λόγο αυτό, έχει διερευνηθεί η χρήση υποκατάστατων της τύρφης στα βιομείγματα (Vischetti *et*

*al.*, 2006; Karanasios *et al.*, 2010). Δοκιμάστηκαν κομποστοποιημένα αγροτικά υλικά τα οποία εκτός από πηγή ενέργειας αποτελούν και μια επιπλέον πηγή μικροοργανισμών με την ικανότητα να καταβολίζουν τα φυτοφάρμακα (Vischetti *et al.*, 2006). Σε μια μελέτη όπου διερευνήθηκε αυτή η αντικατάσταση της τύρφης με κομποστοποιημένα υλικά, το βιομίγμα που περιείχε κομποστοποιημένα φύλλα ελιάς αντί τύρφης, έδειξε την υψηλότερη αποδομητική ικανότητα μεταξύ βιομιγμάτων που περιείχαν διαφορετικά κομποστοποιημένα υλικά (Corpola *et al.*, 2007; Karanasios *et al.*, 2010). Αυτά τα υλικά διαφέρουν σημαντικά από την τύρφη σε φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών και βιολογική δραστηριότητα. Οι διαφορές αυτές μπορεί να προκαλούν διαφορές στην αποτελεσματικότητα και δραστηριότητα της μικροχλωρίδας που αποδομεί τα γεωργικά φάρμακα καθώς και τη συνολικά ικανότητα αποδόμησης του βιομιγματος μιας βιοκλίνης. Γενικά, τα βιομίγματα που περιέχουν τύρφη, παρέχουν το ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη ΜΛΣ, ενώ τα βιομίγματα με κομποστοποιημένα υλικά ευνοούν την ανάπτυξη και την αποδομητική δράση βακτηρίων (Castillo *et al.*, 2007; Karanasios *et al.*, 2010).

➤ Το στρώμα γρασιδιού.

Το επιφανειακό στρώμα γρασιδιού συμβάλλει στην αύξηση της αποτελεσματικότητας της βιοκλίνης, ιδιαίτερα στα ανώτερα στρώματα, όπου τα περισσότερα από τα γεωργικά φάρμακα συγκρατούνται και αποδομούνται. Βοηθά επίσης, στη ρύθμιση της υγρασίας της βιοκλίνης και επιπλέον, μπορεί να παράγει ριζικά εκκρίματα για την υποστήριξη συμμεταβολικών διαδικασιών (π.χ. έκκριση υπεροξειδασών).

Η απουσία του στρώματος γρασιδιού περιορίζει την εξατμισοδιαπνοή και μπορεί να οδηγήσει στην δημιουργία ενός υδρόφοβου στρώματος στην επιφάνεια της βιοκλίνης με μειωμένη μικροβιακή δραστηριότητα δημιουργώντας προβλήματα αναερόβισης στο εσωτερικό της βιοκλίνης (Fogg *et al.*, 2004; Henriksen *et al.*, 2003; Spanoghe *et al.*, 2004).

Το σύστημα της βιοκλίνης έχει αποδειχθεί ότι είναι εξαιρετικά αποτελεσματικό στη απομάκρυνση των γεωργικών φαρμάκων από υγρά απόβλητα. Για την πλειοψηφία των γεωργικών φαρμάκων, περισσότερο από το 95% συγκρατήθηκε ή αποδομήθηκε εντός της βιοκλίνης. Ως εκ τούτου, είναι ιδιαίτερα σκόπιμο να εφαρμόσει αυτό το

σύστημα στην αγροτική βιομηχανία για τη μείωση της υπόγειας ή επιφανειακής ρύπανσης του νερού (De Wilde *et al.*, 2007).

### **1.7. Σκοπός του πειράματος**

Κατά την επεξεργασία των φρούτων από τις βιομηχανίες μεταποίησης παράγονται μεγάλες ποσότητες υγρών αποβλήτων που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις πληθώρας γεωργικών φαρμάκων, μεταξύ των οποίων τα Orthophenyl-phenol (OPP) και Imazalil (IMZ) που χρησιμοποιούνται ως μυκητοκτόνα κατά την μεταποίηση, αποθήκευση και μεταφορά των φρούτων και ειδικότερα κατά τη μετασυλλεκτική επεξεργασία μηλοειδών και εσπεριδοειδών. Η διαχείριση των υγρών αποβλήτων από τις βιομηχανίες γίνεται κυρίως με την εναπόθεσή τους σε ανοιχτές δεξαμενές εξάτμισης, αλλά και με την απόρριψη τους σε επιφανειακά υδροφόρα συστήματα ή ακόμη και στα συστήματα επεξεργασίας αστικών αποβλήτων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την συσσώρευση υψηλών συγκεντρώσεων των συγκεκριμένων φυτοφαρμάκων στα επιφανειακά αλλά και υπόγεια νερά προκαλώντας σημαντική περιβαλλοντική ρύπανση. Τα OPP και IMZ ανήκουν στην κατηγορία των μυκητοκτόνων των οποίων η χρήση είναι επιτρεπτή στις χώρες-μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης υπό την προϋπόθεση να υπάρχει ένα αποτελεσματικό αλλά και λειτουργικό, από άποψη κόστους, σύστημα επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων που προκύπτουν από τη χρήση τους. Μέχρι σήμερα υπάρχει παντελής έλλειψη ερευνητικών δεδομένων για την ανάπτυξη και αξιολόγηση τέτοιων συστημάτων.

Συνεπώς, σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη της ικανότητας κατακράτησης και αποδόμησης των γεωργικών φαρμάκων imazalil (IMZ) και 2-phenyl-phenol (OPP) από επιλεγμένα υλικά με προοπτική χρήσης σε βιοκλίνες στον Ελλαδικό χώρο. Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας τους πραγματοποιήθηκε σε ένα πιλοτικό σύστημα έξι στηλών που προσομοίαζαν βιοκλίνες οι οποίες ήταν πληρωμένες με θρεπτικό υπόστρωμα EYM ή με βιομίγμα αποτελούμενο από EYM, άχυρο και έδαφος σε αναλογία 50:25:25. Στα βιομίγματα αυτά εφαρμόστηκαν για χρονικό διάστημα διαδοχικά υγρά απόβλητα που περιείχαν OPP και IMZ και οι συγκεντρώσεις τους στο έκπλυμα των στηλών αποτέλεσε δείκτη της αποτελεσματικότητας των υποστρωμάτων να κατακρατούν τα συγκεκριμένα μυκητοκτόνα και να περιορίζουν την έκπλυση τους με συνέπεια την ρύπανση των υπογείων υδροφόρων συστημάτων.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

Για την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν έξι σωλήνες PVC, διαμέτρου 12.5cm και μήκους 90 cm, από τους οποίους οι τρεις είχαν πληρωθεί με εξαντλημένο υπόστρωμα μανιταριού-EYM και οι υπόλοιποι τρεις με ένα βιομίγμα που αποτελούνταν από EYM/άχυρο/έδαφος σε ογκομετρική αναλογία 50:25:25, ώστε να μπορεί να πραγματοποιηθεί η σύγκριση μεταξύ των δυο διαφορετικών υποστρωμάτων για την απομάκρυνση των δυο γεωργικών φαρμάκων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή.

### **2.1. Προετοιμασία Υποστρωμάτων πλήρωσης των στηλών**

#### ***2.1.1. Εξαντλημένο Υπόστρωμα Μανιταριού-EYM***

Για την παρασκευή του υποστρώματος επί του οποίου εφαρμόστηκαν διαδοχικά τα δυο γεωργικά φάρμακα (OPP & IMZ) και χρησιμοποιήθηκε ως πληρωτικό υλικό για τις τρεις από τις έξι στήλες του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε υπόστρωμα για την καλλιέργεια μανιταριών, το οποίο προμηθευτήκαμε από τοπική μονάδα καλλιέργειας μανιταριών στα Τρίκαλα (Μετέωρα, του κ. Μπουλογιώργου). Το EYM που χρησιμοποιήθηκε, προήλθε μετά την ολοκλήρωση της παραγωγής μανιταριών, αφού δεν ήταν πλέον χρήσιμο για περαιτέρω παραγωγή τους. Αφού, λοιπόν, τεμαχίστηκε σε μπλέντερ όση ποσότητα ήταν απαραίτητη, χρησιμοποιήθηκε για την πλήρωση των τριών στηλών έκπλυσης (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1. Εξαντλημένο Υπόστρωμα Μανιταριού-EYM

### 2.1.2. Μείγμα Υποστρώματος-ΕΥΜ/άχυρο/έδαφος

Για την παρασκευή του δεύτερου υποστρώματος χρησιμοποιήθηκε όπως και παραπάνω ποσότητα εξαντλημένου υποστρώματος μανιταριού (ΕΥΜ), ποσότητα άχυρου και ποσότητα κοσκινισμένου εδάφους. Τα τρία διαφορετικά υλικά αναμίχθηκαν επιμελώς σε ογκομετρική αναλογία 50:25:25 αντίστοιχα (Εικόνα 2.2).



Εικόνα 2.2. Μείγμα υποστρώματος ΕΥΜ/άχυρο/έδαφος

### 2.1.3. Εκτίμηση Υδατοχωρητικότητας και Υγρασίας των υποστρωμάτων

Πριν την έναρξη του πειράματος εκτιμήθηκε η υγρασία και η υδατοχωρητικότητα του κάθε υποστρώματος

#### 2.1.3.1. Εκτίμηση Υγρασίας των υποστρωμάτων

Για να μετρήσουμε το ξηρό βάρος του ΕΥΜ και του ΕΥΜ/άχυρου/εδάφους, αρχικά ζυγίστηκαν 10g από κάθε υπόστρωμα (3 επαναλήψεις για κάθε υπόστρωμα) και τοποθετήθηκαν σε προζυγισμένα αλουμινόχαρτα. Τα αλουμινόχαρτα τοποθετήθηκαν στους 72°C για 16 ώρες στο ξηραντήριο. Μετά το πέρας των 16 ωρών έγινε ζύγιση των δειγμάτων και από την διαφορά βάρους μεταξύ των δύο διαδοχικών μετρήσεων υπολογίστηκε η υγρασία των υποστρωμάτων πριν τοποθετηθούν στις στήλες.

#### 2.1.3.2. Εκτίμηση Υδατοχωρητικότητας των υποστρωμάτων

Για τον προσδιορισμό της υδατοχωρητικότητας των δυο γεωργικών φαρμάκων που μελετήθηκαν στην παρούσα διατριβή, αρχικά ζυγίστηκαν 20 g από κάθε υπόστρωμα (3 επαναλήψεις για κάθε υπόστρωμα) και τοποθετήθηκαν σε χωνί με διηθητικό χαρτί, του οποίου το βάρος έχει καταγραφεί. Το χωνί τοποθετείται πάνω σε κωνική φιάλη.



Στη συνέχεια, η κάθε ποσότητα υποστρώματος διαβρέχεται με νερό μέχρι να εξασφαλισθεί ο κορεσμός του και καλύπτεται η επιφάνεια της κάθε κωνικής φιάλης με διηθητικό χαρτί για αποφυγή τυχόν απώλειας νερού από την εξάτμιση. Τα δύο υποστρώματα παραμένουν για να στραγγίσει η περίσσεια ύδατος για περίπου 16 ώρες και κατόπιν ξαναζυγίζεται το κάθε υπόστρωμα με το χωνί και το διηθητικό χαρτί (Εικόνα 2.3). Από τις δυο αυτές μετρήσεις προέκυψε ότι και τα δυο υποστρώματα είχαν λιγότερη υγρασία από αυτή που αντιστοιχούσε στο 50% της υδατοχωρητικότητας και για τον λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε προσθήκη νερού ώστε η υγρασία των υποστρωμάτων εντός των στηλών να φτάσει τουλάχιστον στο 50% της υδατοχωρητικότητας.



Εικόνα 2.3. Προσδιορισμός υδατοχωρητικότητας των υποστρωμάτων

## 2.2. Πειραματικός Σχεδιασμός

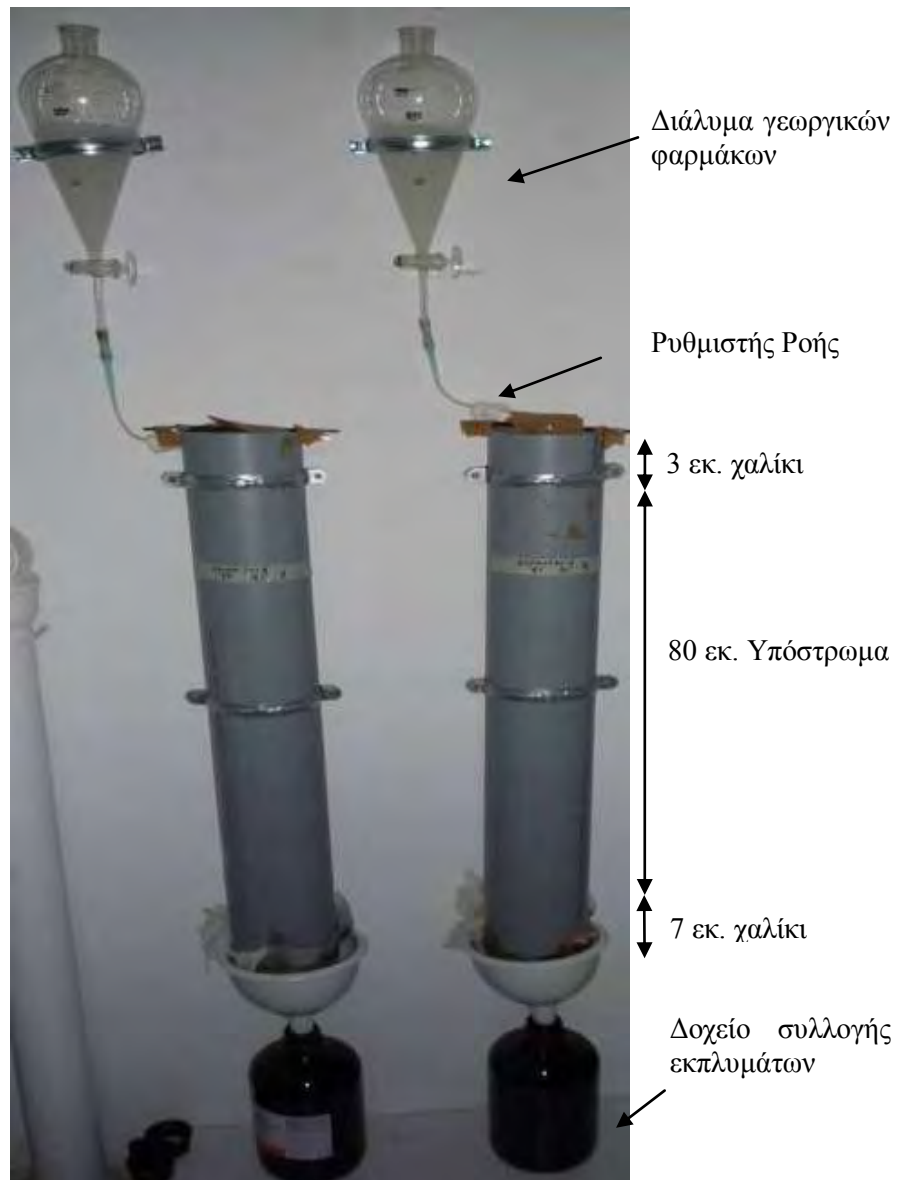
Για την αξιολόγηση των δύο υποστρωμάτων (EYM & EYM/άχυρο/έδαφος) χρησιμοποιήθηκαν έξι στήλες PVC μήκους 90cm και διαμέτρου 12.5cm. Στο εσωτερικό κάθε στήλης τοποθετήθηκαν, από κάτω προς τα πάνω και διαδοχικά:

- 7cm στρώμα χαλίκι (διαμέτρου 2-3cm), το οποίο έχει ξεπλυθεί προσεκτικά πριν για καλύτερη διάχυση του φαρμάκου
  - 3 cm στρώμα χαλίκι
- 3 στήλες με EYM  
3 στήλες με EYM/άχυρο/έδαφος 50:25:25

Ο πυθμένας της κάθε στήλης καλύφθηκε με γάζα και σύρμα για να συγκρατεί το υπόστρωμα στο εσωτερικό της κατά τη διάρκεια του πειράματος. Επάνω από κάθε στήλη τοποθετήθηκε μια διαχωριστική χοάνη η απόληξη της οποίας ήταν συνδεδεμένη με ακροφύσιο και σωληνάκι, το οποίο κατέληγε πάνω ακριβώς από το κέντρο της στήλης. Στην άκρη από το σωληνάκι, τοποθετήθηκε ρυθμιστής ροής, ώστε όλες οι χοάνες να ελευθερώνουν με τον ίδιο ρυθμό το διάλυμα των γεωργικών φαρμάκων στην επιφάνεια των στηλών. Κάτω από κάθε στήλη τοποθετήθηκαν μπουκάλια για τη συλλογή του εκπλύματος (Εικόνες 2.4 & 2.5).



Εικόνα 2.4. Το σύστημα των έξι στηλών



Εικόνα 2.5. Διάταξη του συστήματος των στηλών

Αφού λοιπόν οι ροές και από τις έξι στήλες ρυθμίστηκαν στα 12ml/h, ξεκίνησε η εφαρμογή διαλύματος OPP συγκέντρωσης 2.6 g/L για διάστημα 66 ημερών. Με βάση την ροή εφαρμογής του διαλύματος OPP στις στήλες η πλήρωση των διαχωριστικών χοανών με διάλυμα OPP (1150 ml) πραγματοποιούνταν κάθε 4 ημέρες. Για την παρασκευή των διαλυμάτων OPP χρησιμοποιήθηκε εμπορικό σκεύασμα του μυκητοκτόνου με την ονομασία FOAMER® 20% το οποίο μας παραχωρήθηκε ευγενικά από την εταιρεία FOMESA HELLAS. Θα πρέπει να τονιστεί ότι το διάλυμα OPP που τοποθετούνταν στις χοάνες παρασκευάζονταν φρέσκο ανά 10 ημέρες και η συγκέντρωση του ελέγχονταν άμεσα με συλλογή δείγματος και ανάλυση του σε σύστημα HPLC όπως περιγράφεται παρακάτω. Δείγματα εκπλύματος από τον

πυθμένα των στηλών λαμβάνονταν ανά διαστήματα 3 ημερών και αφού ογκομετρούνταν το έκπλυμα στην συνέχεια λαμβάνονταν δείγμα 100 ml του εκπλύματος σε πλαστικά μπουκαλάκια, τα οποία εν συνεχεία αποθηκεύονταν στην κατάψυξη στους -20°C για μετέπειτα ανάλυσή τους.

Μετά την πάροδο των 66 ημερών που διήρκεσε η εφαρμογή του διαλύματος OPP οι στήλες αφέθηκαν να στραγγίσουν για 4-5 ημέρες και ακολούθησε εφαρμογή του μυκητοκτόνου IMZ για τις επόμενες 51 ημέρες. Για την παρασκευή του διαλύματος imazalil συγκέντρωσης 0.25 g/L που εφαρμόστηκε στις στήλες χρησιμοποιήθηκε εμπορικό σκεύασμα FUNGAZIL® 50% EC που μας παραχωρήθηκε από την εταιρεία FOMESA HELLAS. Η κάθε διαχωριστική χοάνη γεμίζονταν με 405 ml imazalil και η ροή τους ρυθμίστηκε στα 17ml/h ώστε να αδειάζουν στη μια μέρα. Έτσι, το γέμισμά τους γινόταν μέρα παρά μέρα, ενώ το έκπλυμα συλλέγονταν από τις στήλες κάθε 3 ημέρες. Ακολουθούσε ογκομέτρηση του κάθε εκπλύματος και τέλος λήψη μιας ποσότητας δείγματος από το έκπλυμα σε πλαστικά μπουκαλάκια των 200 ml, τα οποία στη συνέχεια αποθηκεύονταν στην κατάψυξη στους -20°C για μετέπειτα ανάλυσή τους.

Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματα στα μπουκαλάκια με το έκπλυμα σημειώνονταν (α) η ημερομηνία λήψης του κάθε δείγματος και (β) ο αριθμός της κάθε στήλης και το πληρωτικό υλικό αυτών (EYM-1,2,3 & EYM/άχυρο/έδαφος-1,2,3).

Η επιλογή τόσο των ποσοτήτων εφαρμογής των δυο μυκητοκτόνων όσο και η σειρά εφαρμογής τους (αρχικά OPP και μετά IMZ) στηρίχθηκε σε πραγματικό σενάριο εφαρμογής των δύο αυτών γεωργικών φαρμάκων στα συσκευαστήρια εσπεριδοειδών σε Ελλάδα και Κύπρο. Έτσι, σε αυτά τα συσκευαστήρια, τα πορτοκάλια δέχονται εφαρμογή OPP οδηγώντας στην παραγωγή ποσοτήτων υγρών αποβλήτων τόσο από την εφαρμογή (αραιό απόβλητο-μεγάλοι όγκοι) όσο και από το ανακυκλούμενο διάλυμα εφαρμογής (πυκνό απόβλητο-χαμηλότεροι όγκοι). Ακολούθως και προς το τέλος της περιόδου, τα μανταρίνια δέχονται εφαρμογή IMZ.

## **2.3. Μέθοδοι Ανάλυσης και Προσδιορισμού των γεωργικών φαρμάκων**

### *2.3.1. Μέθοδος εκχύλισης OPP και IMZ*

Η εκχύλιση και των δυο γεωργικών φαρμάκων OPP & IMZ από το έκπλυμα που λήφθηκε από τις στήλες, πραγματοποιήθηκε με το ίδιο πειραματικό πρωτόκολλο. Τα δείγματα με το έκπλυμα από τις στήλες αφήνονταν σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να αποψυχθούν. Στη συνέχεια και αφού αναμειγνύονταν επιμελώς, λαμβάνονταν ποσότητα 2 ml από κάθε δείγμα (υγρή φάση) και μεταφέρονταν σε γυάλινα φιαλίδια. Εκεί προσθέτονταν 8 ml μεθανόλης και ακολουθούσε καλή ανάδευση σε συσκευή vortex. Μετά από αυτό, ακολουθούσε φιλτράρισμα όλων των δειγμάτων διαμέσου φίλτρου σύριγγας 0,45μm (Whatman PS). Το διηθημένο πλέον εκχύλισμα που συλλέγονταν χρησιμοποιούνταν για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των δύο γεωργικών φαρμάκων σε σύστημα HPLC όπως περιγράφεται παρακάτω αναλυτικά.

Για να ακολουθηθεί το συγκεκριμένο πειραματικό πρωτόκολλο εκχύλισης από το έκπλυμα, προηγήθηκαν δοκιμές ανάκτησης των υπολειμμάτων του OPP από το νερό (0,5, 5 και 20mg/L) συγκεκριμένα, τα επίπεδα ανάκτησής του στα δείγματα νερού σε αυτές τις συγκεντρώσεις ήταν 87,9, 92,7 και 85% αντίστοιχα. Τα επίπεδα ανάκτησης του IMZ σε υδατικά δείγματα για συγκεντρώσεις 0, 0,5 και 5mg/L ήταν 100, 94,4 και 92,1% αντίστοιχα.

### *2.3.2. Σύστημα HPLC*

Για την ανάλυση και τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των γεωργικών φαρμάκων στα εκχυλίσματα των εκπλυμάτων των στηλών, χρησιμοποιήθηκε σε όλες τις περιπτώσεις σύστημα HPLC Marathon III, που ήταν εξοπλισμένο με σύστημα αντλιών βαθμιδωτής έκλουσης, όγκο έγχυσης 20 μl, και με ανιχνευτή UV, ενώ ήταν συνδεδεμένο με ανάλογο λογισμικό Clarify® για την παραλαβή και επεξεργασία των δεδομένων (Εικόνα 2.6). Ο διαχωρισμός των δύο γεωργικών φαρμάκων και προϊόντων μεταβολισμού τους πραγματοποιήθηκε σε στήλη αντίστροφης φάσης (RP) C18, Nucleosil (150 x 4.6 mm, 5 μm id) (Macherey – Nagel GmbH, Germany) με διάφορες κινητές φάσεις που περιγράφονται παρακάτω και ροή 1ml/min.



Εικόνα 2.6. Σύστημα HPLC

### 2.3.3. Διαλύτες και γεωργικά φάρμακα

Για την προετοιμασία των προτύπων διαλυμάτων γεωργικών φαρμάκων και των κινητών φάσεων για την χρωματογραφική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν μεθανόλη (MeOH), ακετονιτρίλιο (ACN), αμμωνία (NH<sub>3</sub>) και νερό HPLC grade (Merck GmbH, Germany). Για την ανάλυση και τον περαιτέρω πειραματισμό χρησιμοποιήθηκαν αναλυτικά πρότυπα γεωργικών φαρμάκων υψηλής καθαρότητας (Riedel-del Haen GmbH, Germany), όπως ortho-phenylphenol (OPP 99.9%) και imazalil (IMZ 99.8%).

### 2.3.4. Καμπύλες αναφοράς

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των δύο γεωργικών φαρμάκων πραγματοποιήθηκε με την κατασκευή και τη χρήση πρότυπης καμπύλης αναφοράς. Για τον λόγο αυτό αρχικά παρασκευάστηκε πρότυπο διάλυμα 1000 µg/ml και για τα δυο γεωργικά φάρμακα που μελετήθηκαν σε μεθανόλη, ζυγίζοντας 0,010 g καθαρής ουσίας ortho-phenylphenol και imazalil αντίστοιχα και προσθέτοντας 10 ml MeOH. Αυτά αποτελούν και τα stock διαλύματα για καθένα γεωργικό φάρμακο. Ακολούθως παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 20, 10, 5, 2, 1, 0.5 και 0.1

mg/L σε μεθανόλη με διαδοχικές αραιώσεις και στη συνέχεια έγιναν διαδοχικές εγχύσεις 20 μl από το καθένα στο σύστημα HPLC. Το εμβαδόν της κορυφής που προέκυψε από την έγχυση καθενός από τα πρότυπα διαλύματα συσχετίστηκε με την συγκέντρωση του εκάστοτε γεωργικού φαρμάκου ώστε να κατασκευαστεί η πρότυπη καμπύλη αναφοράς. Ο ποσοτικός προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με μέτρηση του εμβαδού των κορυφών τους με την βοήθεια του λογισμικού Clarify®.

### 2.3.5. *Ortho-phenylphenol-OPP*

Η έκλυση και ο διαχωρισμός του ortho-phenylphenol πραγματοποιήθηκε ισοκρατικά με κινητή φάση σύστασης:

ACN : H<sub>2</sub>O : Υδατικό διάλυμα NH<sub>3</sub> 0,25%

70 : 29,5 : 0,5

Η ανίχνευση του OPP πραγματοποιήθηκε σε μήκος κύματος 254nm και ο χρόνος έκλουσής του ήταν 3,8 min.

### 2.3.6. *Imazalil-IMZ*

Η έκλυση και ο διαχωρισμός του imazalil πραγματοποιήθηκε ισοκρατικά με κινητή φάση σύστασης:

Μεθανόλη (MeOH) : Υδατικό διάλυμα NH<sub>3</sub> 0,25%

80 : 20

Η ανίχνευση του IMZ πραγματοποιήθηκε σε μήκος κύματος 204nm και ο χρόνος έκλουσής του ήταν 3,8min.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### **3.1. Γενικά**

Παρακάτω παρατίθενται τα αποτελέσματα της αξιολόγησης των δυο υποστρωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για καλλιέργεια μανιταριών, για την αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων orthophenylphenol και imazalil που χρησιμοποιούνται στη μετασυλλεκτική μεταχείριση φρούτων. Σε κάθε μία από έξι στήλες, που χρησιμοποιήθηκαν ως μικρά συστήματα βιοκλίνης πληρούμενα με εξαντλημένο υπόστρωμα για καλλιέργεια μανιταριών-EYM (3 στήλες) και με μείγμα υποστρώματος από EYM/άχυρο/έδαφος (3 στήλες) εφαρμόστηκε συνολική ποσότητα 38,845g OPP και 2,645g IMZ μέσα σε διάστημα 117 ημερών. Πραγματοποιήθηκε εκχύλιση και ανάλυση σε HPLC για τον ποσοτικό προσδιορισμό υπολειμμάτων των γεωργικών φαρμάκων σε εκπλύματα που λαμβάνονταν από τις στήλες. Επίσης, πραγματοποιήθηκαν εκχύλιση του OPP από το κάθε υπόστρωμα και ανάλυσή του σε HPLC για τον ποσοτικό προσδιορισμό του OPP που κατακρατήθηκε στο υπόστρωμα, σε τρεις ορίζοντες του υποστρώματος (0-30 cm, 30-60 cm, 60-90 cm), ώστε να μελετηθεί η κατανομή των υπολειμμάτων του OPP σε καθένα από τα δυο υποστρώματα εντός των στηλών. Από τα αποτελέσματα των αναλύσεων αυτών υπολογίστηκε η ποσότητα των δυο γεωργικών φαρμάκων που διασπάστηκε και λήφθηκε από τα εκπλύματα των στηλών, καθώς και η ποσότητα του OPP που κατακρατήθηκε στη στήλη.

### **3.2. Έκπλυση του OPP**

Για διάστημα 66 ημερών, σε κάθε μια από τις έξι στήλες διοχετεύονταν 1150ml OPP (orthophenyl-phenol) ανά 4 ημέρες. Ανά τρεις μέρες γινόταν δειγματοληψία και ογκομέτρηση του εκπλύματος από τις στήλες, τα αποτελέσματα της οποίας φαίνονται στον Πίνακα 3.1. Για κάθε ημέρα της δειγματοληψίας (T5-T66) αναφέρεται ο όγκος εκπλύματος (σε ml) σε κάθε μία από τις έξι στήλες.



**Πίνακας 3.1.** Ο όγκος των εκπλυμάτων που συλλέχθηκαν από κάθε στήλη για κάθε υπόστρωμα, μετά από κάθε δειγματοληψία καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου εφαρμογής του γεωργικού φαρμάκου *ortho*-phenylphenol.

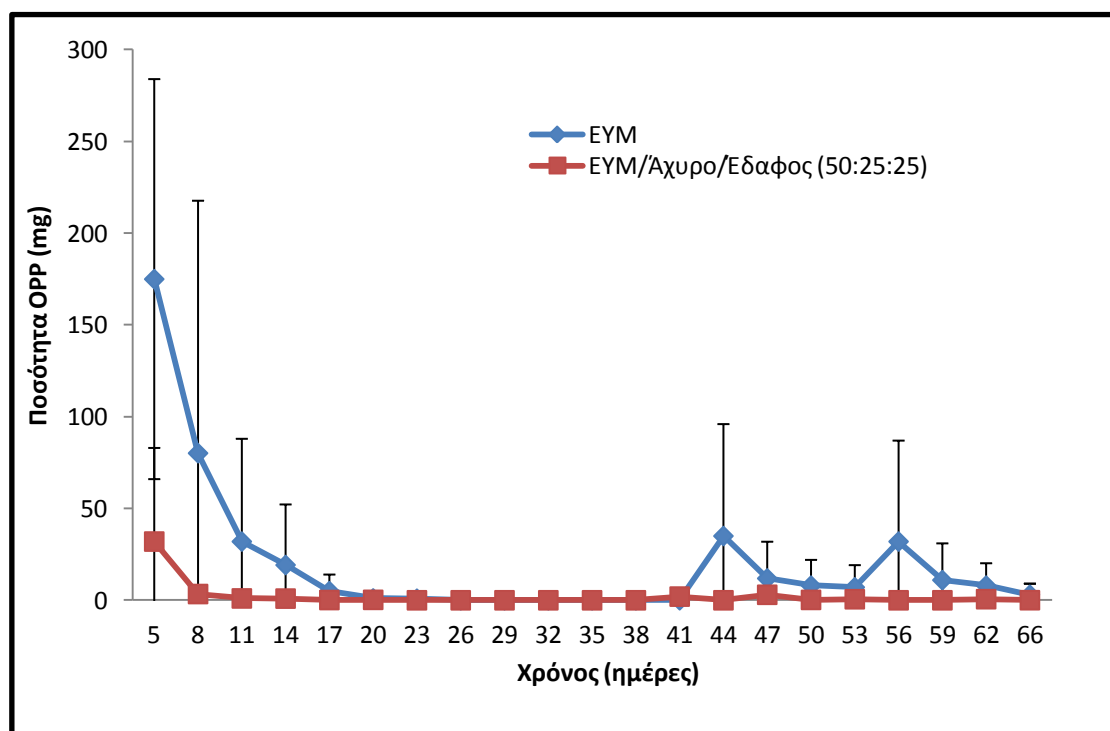
OPP Leachates (ml)		t=5	t=8	t=11	t=14	t=17	t=20	t=23	t=26	t=29	t=32	t=35	t=38	t=41	t=44	t=47	t=50	t=53	t=56	t=59	t=62	t=66
EYM	1	300	880	780	560	1070	920	670	770	565	1030	230	1100	810	1060	310	1030	210	770	850	1040	470
	2	300	920	920	540	760	1110	700	535	830	235	1240	820	680	1375	260	940	100	995	940	1070	350
	3	380	690	780	720	760	550	1050	760	750	1160	300	1010	690	1000	340	560	450	610	920	830	510
EYM/Άχυρο/Εδαφος 50:25:25	1	890	840	800	580	780	870	640	830	640	1050	200	1180	650	1260	480	540	510	700	990	1030	300
	2	510	860	620	980	550	990	470	610	685	750	530	810	850	945	630	340	525	780	950	980	390
	3	360	900	630	750	740	865	520	670	820	1030	545	715	900	960	570	520	495	690	890	910	490

Κάνοντας αναγωγή της ποσότητας του OPP που υπολογίστηκε με τη μέθοδο HPLC, στη συνολική ποσότητα του εκπλύματος από κάθε στήλη, προέκυψε η συνολική ποσότητα του OPP που εκπλύθηκε από κάθε στήλη και για τα δυο υποστρώματα:

$$[\text{Τελική συγκέντρωση OPP (mg/L)} * \text{Ποσότητα εκπλύματος OPP (ml)}] / 1000$$

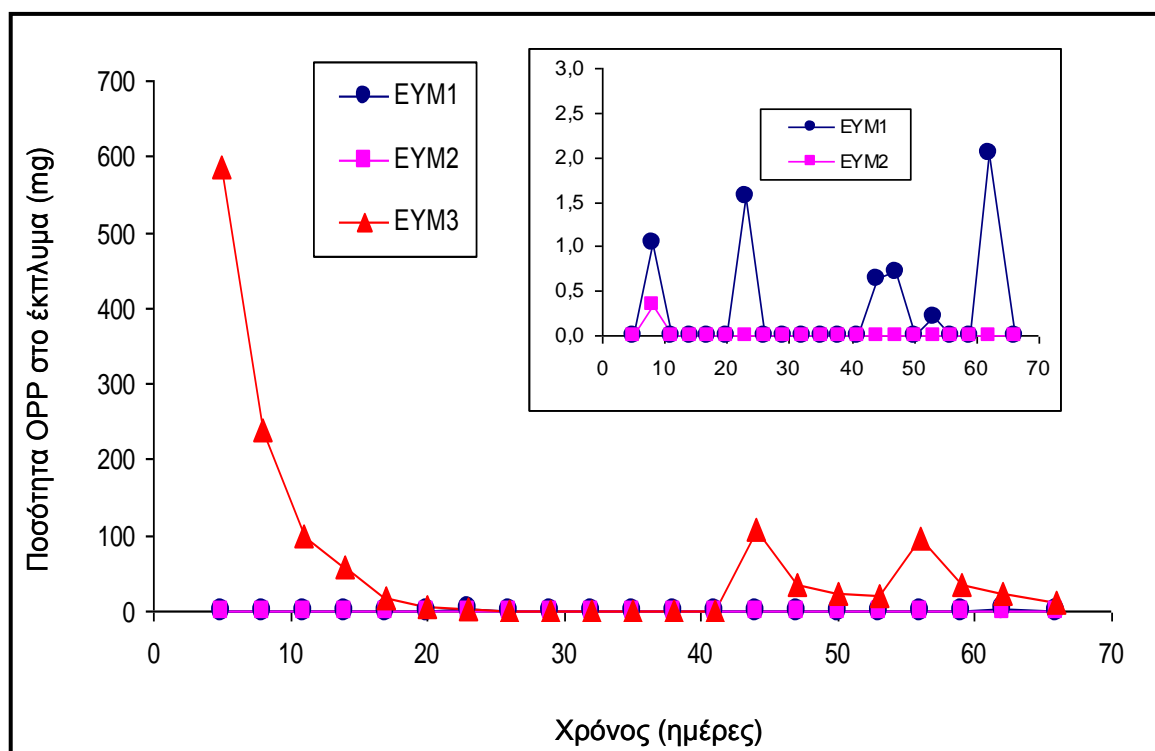
Στο Διάγραμμα 1 απεικονίζεται η ποσότητα (mg) του OPP που ανιχνεύθηκε στα εκπλύματα που συλλέχθηκαν από τις στήλες για την κάθε μέρα δειγματοληψίας. Γενικά παρατηρείται μια υψηλή τυπική απόκλιση ιδιαίτερα στα δείγματα που συλλέχθηκαν κατά την πρώτη ημέρα δειγματοληψίας εκπλύματος (5 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος) και στα δύο υποστρώματα αλλά ιδιαίτερα στο EYM.

Αυτό όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 2 οφείλεται στην ιδιαίτερα υψηλή συγκέντρωση του OPP που ανιχνεύθηκε στο έκπλυμα που συλλέχθηκε από την στήλη 3 σε σχέση με τις υπόλοιπες δύο στήλες που πληρώθηκαν με το συγκεκριμένο υλικό. Το συγκεκριμένο πρόβλημα μπορεί να οφείλεται σε μη ομοιογενή πλήρωση της στήλης καθώς φαίνεται ότι σε όλη την διάρκεια του πειράματος η συγκεκριμένη στήλη παρουσιάζει σταθερά την υψηλότερη έκπλυση OPP.



**Διάγραμμα 1.** Οι ποσότητες του *ortho*-phenylphenol στο έκπλυμα των έξι στηλών που είχαν πληρωθεί με εξαντλημένο υπόστρωμα μανιταριών-EYM και με μείγμα υποστρώματος

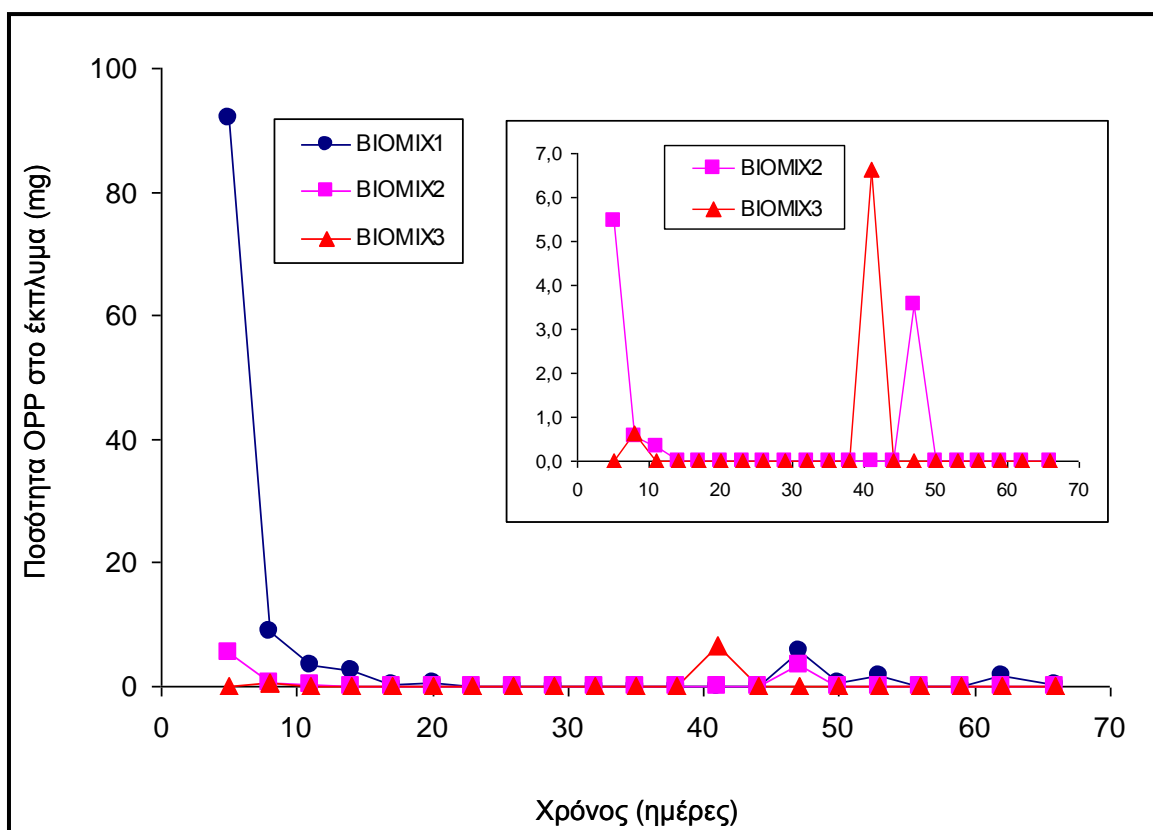
EYM/Άχυρο/Έδαφος σε αναλογία 50:25:25. Η κάθε τιμή προέκυψε από το μέσο όρο τριών επαναλήψεων για κάθε στήλη  $\pm$  τυπική απόκλιση.



**Διάγραμμα 2.** Η έκπλυση του OPP από τις στήλες που είχαν πληρωθεί με EYM. Εδώ τα αποτελέσματα παρουσιάζονται για κάθε μια στήλη ξεχωριστά ενώ στο ένθετο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα έκπλυσης από τις στήλες 1 και 2 όπου και εμφανίστηκε περιορισμένης έκτασης έκπλυση του OPP.

Συγκριτικά για τα δύο υποστρώματα παρατηρήθηκαν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις OPP στο έκπλυμα που συλλέχθηκε από τις στήλες που είχαν πληρωθεί με βιομίγμα σε σχέση με τις αντίστοιχες στήλες που πληρώθηκαν με EYM (Διάγραμμα 1). Και στις στήλες που είχαν πληρωθεί με βιομίγμα παρατηρήθηκε σημαντική παραλλακτικότητα μεταξύ των συγκεντρώσεων στο έκπλυμα που συλλέχθηκε από τις τρεις στήλες με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις να καταγράφονται στις 5 ημέρες μετά την έναρξη εφαρμογής του OPP στην στήλη 1 (Διάγραμμα 3). Πιο συγκεκριμένα στη στήλη 1 που είχε πληρωθεί με βιομίγμα ανιχνεύθηκε στο έκπλυμα που συλλέχθηκε στις 5 ημέρες ποσότητα OPP 92 mg σε σύγκριση με 5 και 0 mg που μετρήθηκαν στο έκπλυμα των άλλων δύο στηλών του ίδιου βιομίγματος στο ίδιο χρονικό σημείο. Αυτό πιθανότατα οφείλεται σε πρόβλημα στον ρυθμιστή ροής καθώς στο ίδιο χρονικό διάστημα των 5 ημερών από την στήλη 1 συλλέχθηκαν 890 ml

εκπλύματος σε σχέση με τις υπόλοιπες δύο στήλες όπου ο όγκος εκπλύματος στο ίδιο χρονικό διάστημα ήταν 510 και 380 ml αντίστοιχα.



**Διάγραμμα 3.** Η έκπλυση του OPP από τις στήλες που είχαν πληρωθεί με βιομίγμα. Εδώ τα αποτελέσματα παρουσιάζονται για κάθε μια στήλη ξεχωριστά ενώ στο ένθετο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα έκπλυσης από τις στήλες 2 και 3 όπου και εμφανίστηκε περιορισμένης έκτασης έκπλυση του OPP.

Συνολικά υπολογίστηκε ότι από τις στήλες που είχαν πληρωθεί με ΕΥΜ και βιομίγμα εκπλύθηκαν 429,2 και 44,1 mg OPP αντίστοιχα που αναλογούν στο 1,10% και 0,11% της ποσότητας του OPP που προστέθηκε συνολικά σε κάθε στήλη (38,9 g) για το χρονικό διάστημα των 66 ημερών.

### **3.3. Έκπλυση του IMZ**

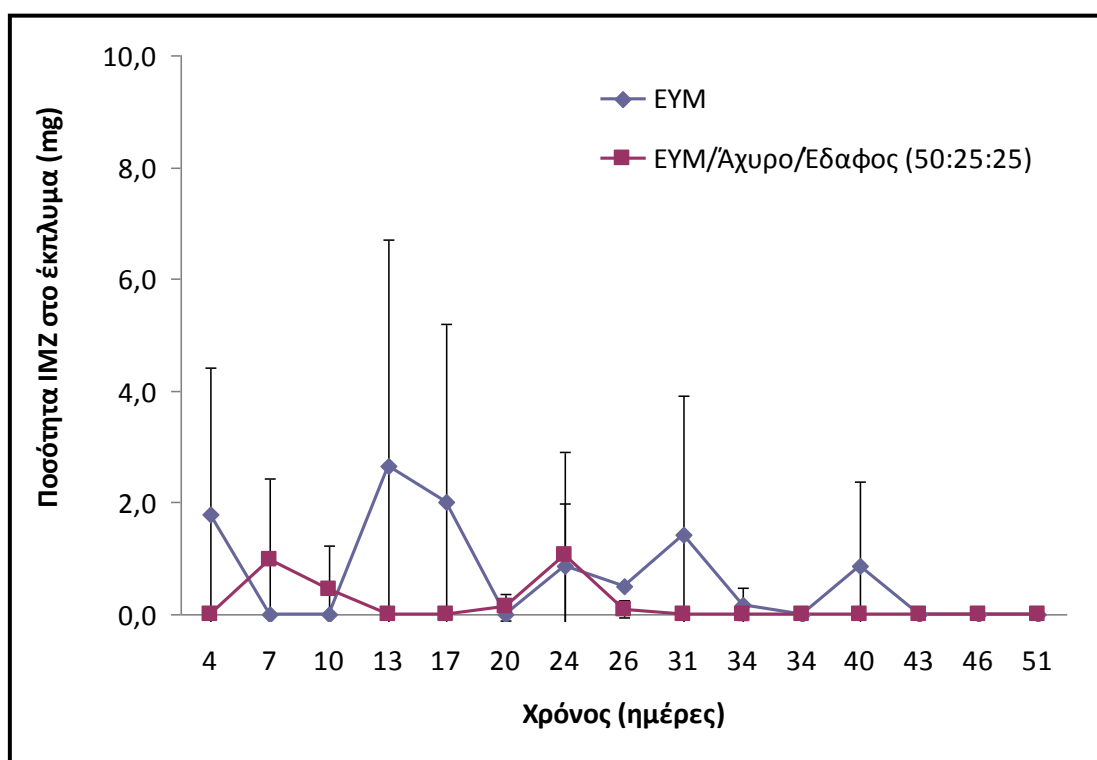
Μετά το πέρας των 66 ημερών εφαρμογής του OPP στις στήλες, το πείραμα συνεχίστηκε με την εφαρμογή διαλύματος IMZ για τις επόμενες 51 ημέρες. Ανά δύο ημέρες γινόταν εφαρμογή 405ml διαλύματος IMZ σε κάθε στήλη και σε διαστήματα των 3 ημερών συλλέγονταν από τις στήλες έκπλυμα το οποίο ογκομετρούνταν (Πίνακας 3.2.) και ακολουθούσε ανάλυση για προσδιορισμό των υπολειμμάτων του

IMZ. Συνολικά στο διάστημα των 51 ημερών εφαρμόστηκαν σε κάθε μια απ τις έξι στήλες των δυο υποστρωμάτων 2,6 g IMZ.

Κάνοντας αναγωγή της ποσότητας του IMZ που υπολογίστηκε με τη μέθοδο HPLC, στη συνολική ποσότητα του εκπλύματος από κάθε στήλη, προέκυψε η συνολική ποσότητα του IMZ που εκπλύθηκε από κάθε στήλη και για τα δυο υποστρώματα:

$$[\text{Τελική συγκέντρωση IMZ (mg/L)} * \text{Ποσότητα εκπλύματος IMZ (ml)}] / 1000$$

Στο Διάγραμμα 4 απεικονίζεται η ποσότητα (mg) του IMZ που ανιχνεύθηκε στα εκπλύματα που συλλέχθηκαν από τις στήλες για την κάθε μέρα δειγματοληψίας. Γενικά παρατηρήθηκε και πάλι υψηλή παραλακτικότητα στις ποσότητες του IMZ που ανιχνεύθηκαν σε διάφορες χρονικές στιγμές στο έκπλυμα από στήλες του ίδιου υποστρώματος. Η υψηλότερη τιμή IMZ στο έκπλυμα στηλών με EYM καταγράφηκε στις 13 ημέρες (2,64 mg) ενώ στις στήλες του βιομίγματος καταγράφηκε υψηλότερη έκπλυση στις 24 ημέρες (1 mg).



**Διάγραμμα 4.** Οι ποσότητες του imazalil στο έκπλυμα των έξι στηλών που είχαν πληρωθεί με εξαντλημένο υπόστρωμα μανιταριών-EYM και με μείγμα υποστρώματος EYM/Αχυρο/Εδαφος σε αναλογία 50:25:25. Η κάθε τιμή προέκυψε από το μέσο όρο τριών επαναλήψεων για κάθε στήλη ± τυπική απόκλιση.

Συνολικά υπολογίστηκε ότι από τις στήλες που είχαν πληρωθεί με ΕΥΜ και βιομίγμα εκπλύθηκαν 10,28 και 2,72 mg IMZ αντίστοιχα που αναλογούν στο 0,39% και 0,10% της ποσότητας του IMZ που προστέθηκε συνολικά σε κάθε στήλη (2,65 g) για το χρονικό διάστημα των 51 ημερών.

**Πίνακας 3.2.** Ο όγκος (ml) των εκπλυμάτων που συλλέχθηκαν από κάθε στήλη για κάθε υπόστρωμα, μετά από κάθε δειγματοληψία καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου εφαρμογής του γεωργικού φαρμάκου imazalil.

IMZ Leachates (ml)		t=4	t=7	t=10	t=13	t=17	t=20	t=24	t=26	t=31	t=34	t=37	t=40	t=43	t=46	t=51
ΕΥΜ	1	510	510	560	550	570	400	750	420	860	470	600	520	625	510	120
	2	500	550	560	540	560	400	720	410	820	450	550	590	600	460	120
	3	480	510	570	550	570	420	720	440	880	460	610	525	610	560	220
ΕΥΜ/Άχυρο/Εδαφος 50:25:25	1	530	545	570	560	590	440	730	440	870	450	620	500	620	520	120
	2	480	490	570	500	500	410	920	440	870	465	610	500	605	570	160
	3	520	520	590	540	610	430	750	420	870	480	630	520	660	540	140

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

### **4.1. Συζήτηση**

Τα υγρά απόβλητα που παράγονται κατά τη μετασυλλεκτική μεταχείριση φρούτων περιέχουν υψηλό φορτίο γεωργικών φαρμάκων και η απευθείας απόρριψή τους στα υδάτινα οικοσυστήματα χωρίς καμία επεξεργασία αποτελεί σημαντική σημειακή πηγή ρύπανσης. Μέχρι σήμερα, αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για την αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων σε διάφορα υποστρώματα με σκοπό να καταλήγουν λιγότερο επικίνδυνα στους υδάτινους αποδέκτες. Υπάρχουν διάφορα συστήματα που χρησιμοποιούνται για την αποδόμηση αυτών των φαρμάκων. Ένα από αυτά είναι και το σύστημα των βιοκλινών, το οποίο μέχρι σήμερα έχει κυρίως χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων που παράγονται από μη ορθολογικές γεωργικές πρακτικές και χειρισμούς πριν ή μετά τον ψεκάσμο και είναι επιβαρυνμένα με γεωργικά φάρμακα. Η μοναδική εφαρμογή των βιοκλινών για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων από τα συσκευαστήρια φρούτων καταγράφηκε από τους Ομίρου *et al.*, (2012) που έδειξαν ότι η χρήση των βιοκλινών περιόρισε απόλυτα την έκπλυση μυκητοκτόνων όπως τα IMZ, OPP και thiabendazole από αυτές και άρα περιορίζει αποτελεσματικά την πιθανότητα ρύπανσης των υπόγειων υδροφόρων από αυτά τα μυκητοκτόνα. Βασικός παράγοντας για την επιτυχή επεξεργασία των υγρών αποβλήτων από τις βιοκλίνες είναι η σύσταση του βιομίγματος με το οποίο πληρώνονται οι βιοκλίνες. Γενικότερα έχει παρατηρηθεί ότι βιομίγματα που στηρίζονται σε κομποστοποιημένα υλικά αντί τύρφης παρουσιάζουν αυξημένη ικανότητα αποδόμησης των γεωργικών φαρμάκων αλλά από την άλλη εμφανίζουν χαμηλότερη υδατοχωρητικότητα και συνεπώς η εφαρμογή των αποβλήτων σε τέτοια βιομίγμα θα πρέπει να γίνεται με χαμηλές ροές ώστε να αποφευχθεί κορεσμός του πληρωτικού υλικού και ταχεία έκπλυση των γεωργικών φαρμάκων (Karanasios *et al.*, 2012: Ομίρου *et al.*, 2012). Στην συγκεκριμένη διατριβή αξιολογήσαμε την ικανότητα δύο βιομιγμάτων που μπορούν να παραχθούν με χαμηλό κόστος και ευκολία στην Ελλάδα για την κατακράτηση και αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων IMZ και OPP που περιέχονται στα υγρά απόβλητα από τα συσκευαστήρια φρούτων. Το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το εξαντλημένο υπόστρωμα μανιταριού του μύκητα *Pleurotus ostreatus* (EYM) που αξιολογήθηκε ως πληρωτικό υλικό των βιοκλινών τόσο μόνο του όσο και σε μίγμα με άχυρο και έδαφος σε



αναλογίες 50/25/25 κ.ο. καθώς προηγούμενες μελέτες από τους Karanasios *et al.*, (2010) αλλά και πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής του Π. Καρά έδειξαν την αυξημένη αποδομητική ικανότητα του συγκεκριμένου βιομίγματος έναντι διαφορετικών γεωργικών φαρμάκων αλλά και των δύο μυκητοκτόνων που εξετάστηκαν στην παρούσα διατριβή. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκε πείραμα έξι στηλών για την αξιολόγηση των δυο υποστρωμάτων (EYM & EYM/άχυρο/έδαφος) ως βιοτεχνολογική προσέγγιση για την αποτοξικοποίηση υγρών αποβλήτων από συσκευαστήρια φρούτων που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις μυκητοκτόνων όπως orthophenylphenol και imazalil. Οι στήλες αυτές ήταν μια προσομοίωση του συστήματος των βιοκλινών.

#### 4.1.1. *Ortho-phenylphenol*

Το OPP είναι ένα μυκητοκτόνο που χρησιμοποιείται ευρέως στα συσκευαστήρια φρούτων κατά τη μετασυλλεκτική μεταχείριση των εσπεριδοειδών. Συνεπώς, είναι δυνατόν να ανιχνεύεται σε μεγάλες ποσότητες και υψηλές συγκεντρώσεις στα υγρά απόβλητα των συσκευαστηρίων φρούτων. Καθίσταται αναγκαίο λοιπόν, να βρεθεί μια μέθοδος διαχείρισης και απορρύπανσης των αποβλήτων αυτών από τέτοιου είδους γεωργικά φάρμακα, ώστε να καταλήγουν πιο ασφαλή στον υδροφόρο ορίζοντα. Για να είναι αποτελεσματική μια τέτοια μέθοδος επεξεργασίας αποβλήτων θα πρέπει να παρουσιάζει: α). όσο το δυνατόν μεγαλύτερα ποσοστά διάσπασης και συγκράτησης του ρύπου στο εκάστοτε υπόστρωμα και β). όσο το δυνατόν μικρότερα ποσοστά έκπλυσης του φαρμάκου από το υπόστρωμα.

Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι και τα δύο υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν έδειξαν >99% αποτελεσματικότητα στην κατακράτηση και περιορισμό της έκπλυσης του μυκητοκτόνου OPP. Συγκριτικά όμως όταν το EYM χρησιμοποιήθηκε σε ανάμιξη ως βιομίγμα με άχυρο και έδαφος περιόρισε πιο αποτελεσματικά την έκπλυση του OPP σε σύγκριση με την περίπτωση που το EYM χρησιμοποιήθηκε μόνο του ως πληρωτικό υλικό των στηλών. Γενικά, σε προηγούμενες μελέτες σε πειράματα στηλών με διάφορα βιομίγματα, οι Omirou *et al.* (2012) παρατήρησαν ότι το OPP αποτέλεσε το πιο κινητικό γεωργικό φάρμακο από αυτά που δοκιμάστηκαν (imazalil, thiabendazole και άλλα εντομοκτόνα, πυρεθροειδή και οργανοφωσφορικά). Σε σύγκριση με το πείραμα των Omirou *et al.* (2012) στην παρούσα διατριβή παρατηρήθηκε ότι το βιομίγμα που χρησιμοποιήθηκε περιόρισε πιο αποτελεσματικά

την έκπλυση του OPP σε σχέση με το βιομίγμα που χρησιμοποιήθηκε στα συγκεκριμένα πειράματα παρά το ότι ο όγκος και η μέθοδος εφαρμογής του αποβλήτου στην περίπτωση του Ομίρου *et al.* (2012) ήταν λιγότερο επιβαρυντική για την έκπλυση του OPP σε σχέση με την δική μας μελέτη. Η περιορισμένη έκπλυση του OPP στο βιομίγμα που περιείχε EYM σε σχέση με το EYM αυτούσιο μπορεί να αποδοθεί γενικότερα στην αυξημένη αποδομητική ικανότητα του EYM παρουσία φρέσκης οργανικής ύλης που παρέχεται από το άχυρο στο βιομίγμα παράλληλα με την αυξημένη βιολογική δραστηριότητα των μικροοργανισμών του εδάφους που περιέχεται στο βιομίγμα.

#### 4.1.2. Imazalil

Το imazalil είναι ένα μυκητοκτόνο που χρησιμοποιείται ευρύτατα στην μετασυλλεκτική μεταχείριση φρούτων και λαχανικών και κυρίως εσπεριδοειδών. Έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικότερο σε σχέση με την πλειοψηφία αντίστοιχων γεωργικών φαρμάκων και κατά συνέπεια η χρήση του είναι ευρέως διαδεδομένη. Επίσης έχει αποδειχθεί ότι είναι εξαιρετικά υπολειμματικό (EPA, 2003) με αποτέλεσμα να ανιχνεύονται σημαντικές ποσότητες του συγκεκριμένου μυκητοκτόνου στους αποδέκτες του περιβάλλοντος. Καθίσταται λοιπόν, επιτακτική η ανάγκη εύρεσης μιας αποτελεσματικής μεθόδου αποτοξικοποίησης των υγρών αποβλήτων της βιομηχανίας μετασυλλεκτικής μεταχείρισης φρούτων από το μυκητοκτόνο imazalil.

Σε αντιστοιχία με τα αποτελέσματα για το OPP, η χρήση του βιομίγματος EYM/άχυρο/έδαφος περιόρισε σε πολύ υψηλό βαθμό την έκπλυση του IMZ σε σχέση με την περίπτωση όπου το EYM χρησιμοποιήθηκε από μόνο του ως πληρωτικό υλικό των στηλών. Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και από τους Ομίρου *et al.*, (2012) που παρατήρησαν περιορισμένη έκπλυση του IMZ σε πείραμα στηλών.

Συγκριτικά με το OPP το IMZ έδειξε χαμηλότερη έκπλυση κάτι που ήταν αναμενόμενο λόγω α) της γενικά χαμηλότερης ποσότητας του IMZ που διοχετεύτηκε διαμέσου των στηλών σε σχέση με το OPP αλλά και β) λόγω της χαμηλότερης κινητικότητας του IMZ στο έδαφος αλλά και σε οργανικά υλικά καθώς παρουσιάζει υψηλότερη προσρόφηση ( $K_f$  IMZ = 111.2 ml/g) σε σχέση με το OPP ( $K_f$  OPP = 8.68 ml/g). (EC 2008, EC 2009).

#### 4.2. Συμπεράσματα και μελλοντικές κατευθύνσεις

Λαμβάνοντας υπ' όψιν όλα τα αποτελέσματα που προαναφέρθηκαν, μπορούμε να καταλήξουμε στα εξής συμπεράσματα:

- Το EYM σε ανάμιξη με άχυρο και έδαφος περιόρισε σε σημαντικό βαθμό την έκπλυση των μυκητοκτόνων OPP και IMZ σε σύγκριση με την αυτοτελή χρήση του σε βιοκλίνες αποδεικνύοντας ότι αποτελεί ιδιαίτερα αποτελεσματικό πληρωτικό υλικό βιοκλινών για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων από τα συσκευαστήρια φρούτων που περιέχουν τα μυκητοκτόνα OPP και IMZ συγκριτικά.
- Το OPP έδειξε υψηλότερη έκπλυση σε σχέση με το IMZ που μπορεί να οφείλεται εκτός της γενικότερα υψηλότερης κινητικότητας του και στις υψηλότερες ποσότητες του OPP που εφαρμόστηκαν στις στήλες σε σχέση με το IMZ

Περαιτέρω μελέτες που βρίσκονται σε εξέλιξη ή έχουν ήδη ολοκληρωθεί θα εστιάσουν στην μέτρηση των επιπέδων των OPP και IMZ που κατακρατήθηκαν στο πληρωτικό υλικό των στηλών με την ολοκλήρωση των πειραμάτων ώστε να υπολογιστεί το ισοζύγιο μάζας και να διευκρινιστούν οι διεργασίες που οδήγησαν στην περιορισμένη έκπλυση των δύο μυκητοκτόνων (αποδόμηση ή κατακράτηση). Αυτή η περαιτέρω διερεύνηση αποκτά ιδιαίτερη σημασία για το IMZ που είναι ιδιαίτερα υπολειμματικό μόριο, συγκριτικά με το OPP, με χρόνους ημιζωής στο έδαφος που κυμαίνονται από 44 – 128 ημέρες (EPA, 2003) και προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι περισσότερο κατακρατείται και λιγότερο αποδομείται εντός των βιοκλινών (Omirou *et al.*, 2012).

## **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### Διεθνής

- Bending G.D., Friloux M. and Walker A. (2002). Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with ligninolytic potential. *FEMS Microbiology Letters*, **212**:59-63.
- Bergstrom L., Stenstrom J. (1998). Environmental fate of chemicals in soil. *Ambio*, **27**:16-23.
- Bourton O., Gouy V., Touze-Foltz N., Benoit P., Chovelon M.J. and Margouma C. (2009) Geotextile fibres retention properties to prevent surface water non-point contamination by pesticides in agricultural areas. *Geotextiles and Geomembranes*, **27**:254-261.
- Buchenauer, H. (1977). Mechanism of action of the fungicide imazalil in *Ustilago avenae*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **84**:440-450.
- Burrows H.D., Canle L. M., Santaballa J.A., Steenken S. (2002). Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **67**:71–108
- Camprubí A. , V. Estaún, M. A., El Bakali F., Garcia-Figueres C. (2007). Alternative strawberry production using solarization, metham sodium and beneficial soil microbes as plant protection methods. *Agronomy for Sustainable Development*, **27**:179-184
- Candela L., Wallis J.K. and Mateos M.R. (2008). Non-point source pollution of groundwater from agricultural activities in Mediterranean Spain: the Balearic Islands case study. *Environmental Geology*, **54**:587-595.
- Carter A.D. (1999). Pesticide contamination of water sources and the monitoring data across the E.U. XI Symposium on Pesticide Chemistry. La Goliardica Pavese: Cremona, Italy, pp 11-20.
- Carter AD. (2000) How pesticides get into water – and proposed reduction measures. *Pesticide Outlook*, **11**:149–157.

- Castillo M.d.P., Torstensson L. (2008). Biobeds-Biotechnology for environmental protection from pesticide pollution. In *Methods and Techniques for Cleaning-up Contaminated Sites*, Anable, M. D., Teodorescu, M., Hlavinek, P., Diels, L., Eds.; Springer: Berlin.
- Castillo M.d.P; Andersson A.; Ander P.; Stenstrom J; Torstensson L. (2001) Establishment of the white rot fungus *Phanerochatae chrysosporium* on unsterile straw of solid substrate fermentation systems intended for degradation of pesticides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **17**:627-633.
- Castillo, M.d.P.; Torstenson, L. and Stenstrom J. (2008). Review: Biobeds for Environmental Protection from Pesticide Use. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**:6206-6219.
- Castillo, M.d.P; Torstensson L. (2007). Effect of biobed composition, moisture and temperature on the degradation of pesticide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**:5725-57-33.
- Chu B.L, Guo B.L., Peng Z., Wang Z., Guo G. and Lin J.M. (2007). Studies on degradation of imazalil enantiomers in soil using capillary electrophoresis. *Journal of Separation Science*, **30**:323-329.
- Cnubben N., Elliot G.R., Hakkert B.C., Meuling W.J. and van de Sandt J.J. (2002). Comparative in Vitro- in Vivo Percutaneous Penetration of the Fungicide ortho-phenylphenol. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **35**:198-208.
- Coppola L., Castillo M.d.P., Monaci E. and Vischetti C. (2007). Adaptation of the Biobed Composition for Chlorpyrifos Degradation to Southern Europe Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**:396-401.
- De Roffignac. L., Cattan. P., Mailloux. J., Herzog. D., Le Bellec. F., (2008). Efficiency of a bagasse substrate in a biological bed system for the degradation of glyphosate, malathion and lambda-cyhalothrin under tropical climate conditions. *Pest Management Science*, **64**:1303–1313.

- De Wilde T., Spanoghe P., Debaer P., Ryckeboer J., Springael D. and Jaeken P. (2007). Review: Overview of on-farm bioremediation systems to reduce the occurrence of point source contamination. *Pest Management Science*, **63**:111-128.
- Debaer, C.; Jaeken, P. (2006) Modified biofilters to clean up leftovers from spray loading and cleaning; experience from pilot installations. *Aspects of Applied Biology*, **77**:247-252.
- Echols R.K., Brumbaugh W.G., Orazio C.E., May T.W., Poulton B.C. and Peterman P.H. (2008). Distribution of Pesticides, PAHs, PCBs, and Bioavailable Metals in Depositional Sediments off the Lower Missouri River, USA. *Archives in Environmental Contamination and Toxicology*, **55**:161-172.
- El Ghaouth A., Drobya S., Wisniewskib M., Wilson C. (2003). Influence of food additives on the control of postharvest rots of apple and peach and efficacy of the yeast-based biocontrol product aspire. *Postharvest Biology and Technology*, Elsevier **27**:127-135
- European Commission 2008. Draft assessment report – Initial risk assessment by the rapporteur member state Spain for the existing active substance 2-phenylphenol, Volume 3, Annex B, Part 4, B8.
- European Commission 2009. Draft assessment report and proposed decision of the Netherlands prepared in the context of the inclusion of imazalil in Annex I of Council Directive 91/414/EC.
- European Commission Health & Consumers Directorate-General, imazalil-2011
- European Commission Health and Consumers Directorate-General, 2-phenylphenol-2010
- European Food Safety Authority, EFSA Scientific Report, 2008
- European Food Safety Authority-EFSA, Conclusion On Pesticide Peer Review, 2010

- Fait G., Nicelli M., Fragoulis G., Trevisan M., Capri E. (2007). Reduction of point contamination sources of pesticide from a vineyard farm. *Environmental Science and Technology*, **41**:3302-3308.
- Fischer P., Hartmann H., Bach M., Burhenne J., Frede H.G. & Spiteller M. (1998b). Reduktion des Gewässerreintrags von Pflanzenschutzmitteln aus Punktquellen durch Beratung. *Gesunde Pflanzen* 50.
- Fischer P., Hartmann, H., Bach, M., Burhenne, J., Frede, H.G. & Spiteller, M. (1998a). Gewässerbelastung durch Pflanzenschutzmittel in drei Einzugsgebieten. *Gesunde Pflanzen*, **50**:142-147.
- Fogg P., Boxall ABA, Walker A. and Jukes A. (2004). Leaching of pesticides from biobeds: effect of biobed depth and water loading. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:6217–6227. Degradation and leaching potential of pesticides in biobed systems. *Pest Management Science* **60**:645–654.
- Frede H.G., Fischer P. & Bach M. (1998). Reduction of herbicide contamination in flowing waters. *Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde*, **161**:395-400.
- Gan, J.Y., Koskinen, W.C. (1998). Pesticide fate and behavior in soil at elevated concentrations. In: Kearney, P.C., Roberts, T.R. (Eds), *Pesticide Remediation in soil and water*. Wiley, Chichester, pp. 59-84.
- Genot, P.; Huynh, N. v.; Debongnie, P.; Pussemier, L. (2002). Effects of addition of straw, chitin and manure to new or recycled biofilters on their pesticides retention and degradation properties. *Mededelingen-Faculteit Landbouwkundigen Toegepaste Biologische Wetenschappen*, **67**:117-128.
- Helweg A. (1994). Threats to water quality from pesticides—Case histories from Denmark. *Pesticide Outlook*, **5**:12-18.
- Helweg A.; Bay H.; Hansen H.P.B.; Raboelle M.; Sonnenborg A.; Stenvang L.; (2002). Pollution at and below sites used for mixing and loading of pesticides. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, **82**:583-590.

- Henriksen VV, Helweg A, Spliid NH, Felding G and Stenvang L, (2003). Capacity of model biobeds to retain and degrade mecoprop and isoproturon. *Pest Management Science*, **59**:1076–1082.
- Hiraga K., Fujii T. (1984). Introduction of tumours of the urinary bladder in F344 rats by dietary administration of o-phenylphenol. *Food Chemistry and Toxicology*, **22**:865-870.
- Hu W., Lu Y., Wang G., Wang T., Luo W., Shi Y., Zhang X. and Jiao W. (2009). Organochlorine Pesticides in Soils around Watersheds of Beijing Reservoirs: A Case Study in Guanting and Miyun Reservoirs. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology*, **82**:694-700.
- Hu Y., Yang X., Wang C., Zhao J., Li W. and Wang Z. (2009). A sensitive determination method for carbendazim and thiabendazole in apples by solid phase microextraction high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Food Additives and Contaminants*, **25**:314-319.
- imazalil assessment report\_vol.1, 2009
- Jaeken P. and Debaer C. (2005). Risk of water contamination by plant production products (PPP) during pre- and post treatment operations. *Annual Review of Agricultural Engineering*, **4**:93–113.
- Janssen D.B., Oppentocht J.E. and Poelarends G. (2001). Microbial dehalogenation. *Current Opinion in Biotechnology*, **12**:254-258.
- Kadian N., Gupta A., Satya S., Mehta R. K., Malik A. (2008). Biodegradation of herbicide (atrazine) in contaminated soil using various bioprocessed materials. *Bioresource Technology*, **99**:4642-4647.
- Kah M. and Brown C.D. (2006) Adsorption of Ionisable Pesticides in Soils. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **188**:149-217
- Kaplan J.H., Dave B.A. (1979). The current status of imazalil: A post harvest fungicide for citrus. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, **92**:37-43.qq



- Karanasios, E., Tsiropoulos, N., Karpouzas, D.G., Ehaliotis C., (2010) Degradation and adsorption of pesticides in compost-based biomixtures as potential substrates for biobeds in south Europe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58 (16)**: 9147-9156.
- Karanasios E., Tsiropoulos N. G., Karpouzas D. G. and Menkissoglu-Spiroudi U. (2010). Novel biomixtures based on local Mediterranean lignocellulosic materials: Evaluation for use in biobed systems. *Chemosphere*, **80**:914-921.
- Karanasios E., Papadi-Psyllou A., Karpouzas D.G., Tsiropoulos N. (2012) Optimization of water management and biomixture composition for maximizing the pesticide depuration of peat-free biobed systems. *Journal of Environmental Quality* **41(6)**:1787-1795
- Karanasios E., Papadi-Psyllou A., Karpouzas G.D. and Tsiropoulos G. N. (2012). Optimization of Biomixture Composition and Water Management for Maximum Pesticide Dissipation in Peat-Free Biobeds TECHNICAL REPORTS, Bioremediation and Biodegradation, *Journal of Environmental Quality*, doi:10.2134/jeq2012.0093
- Karanasios E., Tsiropoulos N. G., Karpouzas D. G. (2012). On-farm biopurification systems for the depuration of pesticide wastewaters: recent biotechnological advances and future perspectives. *Biodegradation*, **23**:787-802
- Karas P.A., Perruchon C., Exarhou K., Ehaliotis C., Karpouzas D.G. (2011). Potential for bioremediation of agro-industrial effluents with high loads of pesticides by selected fungi. *Biodegradation*, **22**:215-228
- Karpouzas D. and Singh B. K. (2006). Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: metabolic pathways and molecular basic. *Advances in Microbial Physiology*, **51**:119-185.
- Kodama S., Yamamoto A., Ohura T., Matsunaga A. and Kanbe T. (2003). Enantioseparation of imazalil residue in orange by Capillary Electrophoresis with 2-hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin as a chiral selector. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, **51**:6128-6131.

- Kolpin DW., Barbash JE. and Gilliom RJ. (1998). Occurrence of pesticides in shallow groundwater of the United States: initial results from the National Water-Quality Assessment Program. *Environmental Science and Technology*, **32**:558–566.
- Kolpin DW., Thurman EM. and Goolsby DA. (1996). Occurrence of selected pesticides and their metabolites in near-surface aquifers of the Midwestern United States. *Environmental Science and Technology*, **30**:335–340.
- Kookana RS. and Aylmore LAG. (1993). Retention and release of diquat and paraquat herbicides in soils. *Australian Journal of Soil Research*, **31**:97–109
- Kotterman, M. J. J.; Vis, E. H.; Field, J.A. (1998). Successive mineralization and detoxification of benzo[a]pyrene by the white rot fungus *Bjerkandera sp.* Strain BOS55 and indigenous microflora. *Applied and Environmental Microbiology*, **64**:2853-2858.
- Kreuger J. (1998). Pesticides in stream water within an agricultural catchment in southern Sweden, 1990–1996. *Science of the Total Environment*, **216**:227–251.
- Kreuger J. (1999). Pesticides in the environment - atmospheric deposition and transport to surface waters. PhD.
- Leistra M., Smelt JH., Weststrate JH., van den Berg F., Aalderink R. (2006). Volatilization of the pesticides chlorpyrifos and fenpropimorph from a potato crop. *Environmental Science and Technology*, **140**(1):96-102.
- Mari M., Bertolini P. and Pratella G.C. (2003). Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases: a review. *Journal of Applied Microbiology*, **94**:761-766.
- Maruyama T., Komatsu C., Michizoe J., Sakai S. and Goto M. (2007). Laccase-Mediated degradation and reduction of toxicity of the postharvest fungicide imazalil. *Process Biochemistry*, **42**:459-461.
- Mason P.J., Foster I.D.L., Carter A.D., Walker A., Higginbotham S., Jones R.L., Hardy I.A.J. (1999) Relative importance of point source contamination of surface

waters: river Cherwell catchment monitoring study. In *XI Pesticide Chemistry Conference*, pp 405-412.

- Muto N., Hirai H., Tanaka T., Itoh N. and Tanaka K. (1997). Induction and inhibition of cytochrome P450 isoforms by imazalil, a food contaminant, in mouse small intestine and liver. *Xenobiotica*, **27**:1215-1223.
- Nakagawa Y. and Moore G.A. (1995). Cytotoxic effects of post-harvest fungicides, ortho-phenylphenol, thiabendazol and imazalil, on isolated rat hepatocytes. *Life Sciences*, **57**:1433-1440.
- Nunes C., Usall J., Teixido N. and Vinas I. (2001). Biological control of postharvest pear diseases using a bacterium, *Pantoea agglomerans* CPA-2. *International Journal of Food Microbiology*, **70**:53-61.
- Omirou M, Dalias P., Costa C., Papastefanou C., Dados A., Ehaliotis C., Karpouzas D.G., (2012) Exploring the potential of biobeds for the depuration of pesticide-contaminated wastewaters from the citrus production industry: laboratory, column and field studies. *Environmental Pollution* **166**:31-39
- Orтели D., Edder P. and Corvi C. (2005). Pesticide residues survey in citrus fruits. *Food Additives and Contaminants*, **22**:423-428.
- Philp C.J., Bamforth M.S., Singleton I. and Atlas M.R. (2005). Environmental pollution and restoration: a role for bioremediation. In: *Bioremediation: Applied microbial solution for real-world environmental cleanup*. Atlas M.R. and Philp J. (ed), ASM press Washington, 1-48.
- Ramwell C.T.; Johnson P.D.; Boxal A.B.A.; Rimmer D.A. (2004) Pesticide residues on the external surfaces of field-crop sprayers: environmental impact. *Pest Management Science*, **60**:795-802.
- Reichenberger S., Bach M., Skitschak A. and Frede H.G. (2007). Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness: A review. *Science of the Total Environment*, **384**:1-35.

- Ritenour M.A., Zhang J., Wardowski F.W. and Brown G.E. (2003). Postharvest Decay Control Recommendations for Florida Citrus Fruit. University of Florida IFAS extension, circular 359A.
- Roberts TR., Dyson JS., Lane MC. (2002). Deactivation of the biological activity of paraquat in the soil environment: a review of long-term environmental fate. *J Agric. Food Chemistry*, **50(13)**:3623-31
- Rose SC., Basford WD and Carter AD. (2003). On-farm bioremediation systems to limit point source pesticide pollution. *Proc XII Symposium on Pesticide Chemistry*, pp. 20–24.
- Seel P., Knepper T.P., Gabriel S., Weber A. & Haber K. (1966). Kläranlagen als Haupteintragspfad für Pflanzenschutzmittel in ein Fließgewässer - Bilanzierung der Einträge. *Vom Wasser*, **86**:247-262.
- Sembiring T., Winter J. (1989). Anaerobic degradation of *o*-phenylphenol by mixed and pure cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology* **31**:89-92
- Siegel M. R. and Ragsdale N.N. (1978). Antifungal mode of action of imazalil. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Elsevier **9**:48-56.
- Siegel M.R., A. Kerkenaar and A.K. Sijpesteijn. (1977). Anti-fungal activity of the systemic fungicide imazalil. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **83**:121-133.
- Sisman T. and Turkez H. (2010). Toxicologic evaluation of imazalil with particular reference to genotoxic and teratogenic potentials. *Toxicology and Industrial Health*, **26**:641-648.
- Spanoghe P., Maes A. and Steurbaut W. (2004). Limitation of point source pesticide pollution: results of bioremediation system. *Med Fac Landbouww Ghent University* , **69**:4–16.
- Spanoghe, P., Maes, A., Steurbaut, W., (2004). Limitation of point source pesticide pollution: results of a bioremediation system. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, Ghent University **69 (4)**:1–13.

- Spliid N.H., Brüsch W., Jacobsen O.S. & Hansen S.U. (1999). Pesticide point sources and dispersion of pesticides from a site previously used for handling of pesticides DJF Report 9.
- Stenvang L. & Helweg A. (2000). Minimizing pollution risk at filling and washing sites for sprayers DJF report 23.
- Tanaka T. (1995). Reproductive and neurobehavioural toxicity study of imazalil administered to mice. *Reproductive Toxicology*, **9**:281-288.
- Tani S., Yonezawa Y., Morisawa S. and Nishioka H. (2007). Development of a new E. coli strain to detect oxidative mutation and its application to the fungicide o-phenylphenol and its metabolites. *Mutation Research*, **628**:123-128.
- Torstenson, L. Experiences of biobeds in practical use in Sweden. (2000). *Pesticide Outlook*, **11**:206-212.
- Torstenson, L.; Borjesson, E. Elvarmd biobadd skyddar grundvatten vid vaxthuset. (2002). *Fakta Tradgard 1*; Swedish University of Agricultural Sciences: Uppsala, Sweden.
- Torstenson, L.; Castillo M.d.P. (1997). Use of biobeds in Sweden to minimize environmental spillages from agricultural spraying equipment. *Pesticide Outlook*, **8**:24-27.
- Torstenson, L.; Castillo, M.d.P. (1996). Biobeds minimize environmental risks when filling agricultural spraying equipment. Proceedings of the COST 66 Workshop, Stratford on Avon, May 13-15, U.K.; pp 223-224.
- Torstensson, L. (1996). Herbicides in the environment. *Proceedings of the Second International Weed Control Congress*, Copenhagen, Denmark, 25-28 June, **1-4**:267-274.
- Tortella R. G. and Diez M. C. (2005). Fungal Diversity and Use in Decomposition of Environmental Pollutants. *Critical Reviews in Microbiology*, **31**:197-212.

- Trevisan M., Capri E., Fait G., Merli A. (2007). An improved prototype of biomassbed, Preliminary evaluation in lab conditions. In: 2<sup>nd</sup> European Biobed Workshop, Ghent, Belgium.
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA), 2003. Reregistration Eligibility Decision for imazalil Case No. 2325. p. 74.
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Registration Eligibility Decision for imazalil (IMZ). 738-F-04-011, February 2005.
- U.S. Environmental Protection Agency, EPA. Registration Eligibility Decision for 2-phenylphenol and Salts (Orthophenylphenol or OPP). 739-R-06-004, July 2006.
- Vingaard A.M., Hnida C., Breinholt V. and Larsen J.C. (2000). Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity *in vitro*. *Toxicology in Vitro*, **14**:227-234.
- Vischetti C., Coppola L., Monaci E., Cardinali A. and Castillo M.d.P. (2006). Microbial impact of the pesticide chlorpyrifos on Swedish and Italian biobeds. *Agronomy for Sustainable Development*, **27**:267-272.
- Zamora T., Hidalgo C., Lopez F.J. and Hernandez F. (2004). Determination of fungicide residues in fruits by coupled-column liquid chromatography. *Journal of Separation Science* **27**:645-652.
- Zheng C., Focks A., Ellebrake K., Eggers T., Fries E. (2011). Research Article- Sorption of ortho-Phenylphenol to Soils. *Clean – Soil, Air, Water*, **39** (2):116–120
- 2-phenylphenol\_DAR\_01\_Vo11\_public
- 91/414/EEC/ Imazalil-1688/VI/97-Final

## Ηλεκτρονική

- <http://en.wikipedia.org>
- <http://nl.wikipedia.org>
- <http://www.biobeds.org>
- <http://www.ecodonet.gr>
- <http://www.env-edu.gr>
- <http://www.epa.gov>
- <http://www.postharvest.biz>
- <http://www.voluntaryinitiative.org.uk>

## Ελληνική

- Ζιώγας Β. και Μαρκόγλου Α. (2007). Γεωργική Φαρμακολογία. Βιοχημεία, φυσιολογία, μηχανισμοί δράσης και χρήσεις των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, Αθήνα.