



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

Πτυχιακή διατριβή

«Μελέτη της προσρόφησης μυκητοκτόνων που χρησιμοποιούνται στα συσκευαστήρια φρούτων σε οργανικά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται ως πληρωτικά υλικά βιοκλινών»

ΑΜΠΑΤΖΗ ΜΑΡΙΑ

ΛΑΡΙΣΑ 2015

«Μελέτη της προσρόφησης μυκητοκτόνων που χρησιμοποιούνται στα συσκευαστήρια φρούτων σε οργανικά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται ως πληρωτικά υλικά βιοκλινών»

"Study of the adsorption of fungicides used in fruit packaging organic substrates used for the packing of biobeds"

Υπεύθυνος Καθηγητής

Καρπούζας Δημήτριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας, του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Τριμελής Επιτροπή:

- Καρπούζας Δημήτριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- Κωνσταντίνος Οιχαλιώτης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήματος Γεωργικής Μηχανικής και Αξιοποίησης Φυσικών Πόρων, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών
- Νίκος Τσιρόπουλος, Καθηγητής Χημείας, Ανάλυσης και Προσδιορισμού Οργανικών Ουσιών, Τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Αφιερώνεται στους γονείς μου

Αναστάσιο και Αφροδίτη

και στην αδερφή μου

Γεωργία

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των προπτυχιακών μου σπουδών με τίτλο «Μελέτη της προσρόφησης μυκητοκτόνων που χρησιμοποιούνται στα συσκευαστήρια φρούτων σε οργανικά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται ως πληρωτικά υλικά βιοκλινών», στο Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η πτυχιακή μου διατριβή υπήρξε απαραίτητη για την απόκτηση γνώσεων, εμπειριών, αλλά και προϋπόθεση για την ολοκλήρωση των σπουδών μου.

Πριν την συνοπτική αναφορά στους στόχους και στο περιεχόμενο της παρούσας εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους αυτούς που βοήθησαν στην πραγματοποίηση αυτής καθώς και όσους κουράστηκαν μαζί μου για την ολοκλήρωση της.

Ευχαριστώ θερμά τον Επιβλέπων καθηγητή κ. Δημήτριο Καρπούζα, γιατί μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με ένα ιδιαίτερα ενδιαφέρον θέμα, για την αμέριστη και ουσιαστική επιστημονική βοήθεια και καθοδήγηση που μου παρείχε. Τον ευχαριστώ θερμά για τις εξαιρετικά ωφέλιμες κριτικές παρατηρήσεις του στην επεξεργασία του θέματος αυτού.

Επίσης, ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στον υποψήφιο διδάκτορα Παναγιώτη Καρρά για την ανυπολόγιστη βοήθεια και συμβολή του σε όλα τα στάδια της πειραματικής διαδικασίας. Ακόμα, ευχαριστώ όλα τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου για την άψογη συνεργασία και ψυχολογική υποστήριξη κατά την παραμονή μου σε αυτό.

Τέλος, το πιο μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου για τη συνεχή υποστήριξη σε όλους τους τομείς καθ' όλη τη διάρκεια φοίτησης μου στο τμήμα καθώς και την συμφοιτήτρια μου-καρδιακή φίλη Ολυμπία Τσιλιγκιρίδου για την αμέριστη υποστήριξη όλα αυτά τα χρόνια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μετασυλλεκτική μεταχείριση φρούτων οδηγεί στην παραγωγή μεγάλου όγκου υγρών αποβλήτων που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις μυκητοκτόνων και χρήζουν επεξεργασίας, σύμφωνα με την κοινοτική νομοθεσία, πριν την οριστική περιβαλλοντική τους απόρριψη. Η έλλειψη μεθόδων για την επεξεργασία των συγκεκριμένων αποβλήτων έχει οδηγήσει στην αναζήτηση τεχνολογιών αποτελεσματικών και χαμηλού κόστους για την επεξεργασία των συγκεκριμένων αποβλήτων. Οι βιοκλίνες αποτελούν μια τέτοια μέθοδο. Η αποτελεσματικότητα των συστημάτων αυτών στηρίζεται σε σημαντικό βαθμό στην ικανότητα του πληρωτικού τους υλικού (βιομίγμα) να αποδομεί και να προσροφά υψηλές συγκεντρώσεις γεωργικών φαρμάκων που περιέχονται στα εν λόγω απόβλητα. Στην παρούσα εργασία εστιάσαμε στην μελέτη ενός εκ των δύο παραπάνω διεργασιών και ειδικότερα στην προσρόφηση των μυκητοκτόνων imazalil (IMZ) και thiabendazole (TBZ) στο έδαφος και σε διάφορα βιομίγματα αποτελούμενα από άχυρο, εξαντλημένο υπόστρωμα μανιταριών και έδαφος αναμεμιγμένα σε διάφορες αναλογίες. Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι και τα δύο μυκητοκτόνα που μελετήθηκαν παρουσίαζαν ισχυρή προσρόφηση στα βιομίγματα που παρουσίαζαν και υψηλότερη περιεκτικότητα σε οργανική ουσία σε σχέση με το έδαφος που αποτέλεσε το υλικό με την χαμηλότερη περιεκτικότητα σε οργανικό C. Το IMZ εμφάνισε υψηλότερη προσρόφηση σε σχέση με το TBZ. Τα αποτελέσματα μας αποτελούν ένδειξη ότι τα συγκεκριμένα δύο μυκητοκτόνα δεν αναμένεται να είναι ιδιαίτερα κινητικά στο εσωτερικό των βιοκλινών και η επιτυχής απομάκρυνση τους από τα υγρά απόβλητα εξαρτάται από την βιοαποδόμηση τους.

ABSTRACT

Postharvest treatment of fruits results in the production of high wastewater volumes containing high concentrations of fungicides, thus requiring treatment prior to their environmental release, in accordance with the relevant EU legislation. The lack of treatment methods for those wastewaters have forced us to seek novel technologies characterized by low cost and high efficiency in order to resolve this problem. Biobed systems are known to have those two characteristics. The depuration efficiency of those systems is based on the capacity of its organic packing material called biomixture to degrade and adsorb high amounts of pesticides contained in those effluents. In this study we focused on one of those two key processes, in the adsorption of the fungicides imazalil (IMZ) and thiabendazole (TBZ) in soil and in various biomixtures composed of straw, spent mushroom substrate and soil mixed at different volumetric ratios. The results of our study showed that both fungicides are strongly adsorbed on organic biomixtures compared to soil which was characterized by the lowest organic C content. IMZ showed higher adsorbance affinity compared to TBZ in most of the substrates studied. Our results provide first indications that the two fungicides studied are not expected to be particularly mobile in the biobed systems and their effective removal from wastewaters discharged into biobeds will depend on their biodegradation.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

1. Εισαγωγή

1.1. Η μετασυλλεκτική μεταχείριση φρούτων ως πρόβλημα ρύπανσης.....	10
--	----

2. Βιοκλίνες

2.1. Κατασκευή βιοκλινών.....	13
2.2. Σύσταση.....	14
2.3. Είδη βιοκλινών.....	16
2.4. Παράγοντες που επηρεάζουν τη λειτουργία των βιοκλινών....	17
2.4.1. Σύνθεση του βιομίγματος.....	17
2.4.2. Όγκος υγρών αποβλήτων που δέχεται η βιοκλίνη.....	17
2.5. Φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες που καθορίζουν την τύχη των γεωργικών φαρμάκων στο περιβάλλον και εντός των βιοκλινών.....	17
2.5.1 Προσρόφηση.....	17
2.5.2 Μικροβιακή αποικοδόμηση των γεωργικών φαρμάκων.....	22

3. Γεωργικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στα συστήματα

3.1 Imazalil.....	22
3.2 Thiabendazole.....	24

4. Σκοπός του πειράματος.....

25

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

1. Υλικά και μέθοδοι

1.1	Οργανικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν.....	26
1.2	Αναλυτικές μέθοδοι προσδιορισμού των υπολειμμάτων των γεωργικών φαρμάκων.....	28
1.2.1	Εκχύλιση imazalil και TBZ.....	28
1.2.2	Μέθοδος ανάλυσης υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC).....	28
1.3	Προσδιορισμός προσρόφησης των γεωργικών φαρμάκων.....	29
1.3.1	Κινητική προσρόφησης.....	29
1.3.2	Πείραμα προσρόφησης.....	30
2.	Αποτελέσματα	
2.1	Προσρόφηση imazalil.....	31
2.2	Προσρόφηση του TBZ.....	35
3.	Συζήτηση.....	40
4.	Βιβλιογραφία.....	41

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η μετασυλλεκτική μεταχείριση φρούτων ως πρόβλημα ρύπανσης

Από την παραγωγή στην κατανάλωση μεσολαβεί ένα μικρό ή μεγάλο χρονικό διάστημα όπου τα προϊόντα δεν είναι ούτε στον αγρό ούτε στο ράφι. Η ενδιαμέση αυτή διαδικασία της συντήρησης και επεξεργασίας προϊόντων εξαρτάται στο μεγαλύτερο μέρος της από τη δομή και φυσιολογία, αλλά και δευτερευόντως από διάφορους παράγοντες όπως κλιματικοί. Η επιστήμη που μελετά τη μεταχείριση των προϊόντων μετά τη συγκομιδή και μέχρι να φτάσουν στον καταναλωτή ονομάζεται μετασυλλεκτική τεχνολογία.

Οι μετασυλλεκτικές διαδικασίες περιλαμβάνουν τις ολοκληρωμένες λειτουργίες της συγκομιδής, τον καθαρισμό, τη διαλογή, την ψύξη, την αποθήκευση, τη συσκευασία, τη μεταφορά και την εμπορία. Η μετασυλλεκτική τεχνολογία γεφυρώνει το χάσμα μεταξύ του παραγωγού και του καταναλωτή.

Ωστόσο, τόσο ποιοτικές όσο και ποσοτικές απώλειες συμβαίνουν σε κηπευτικά εμπορεύματα μεταξύ της συγκομιδής και της κατανάλωσης. Οι παγκόσμιες απώλειες στη μετασυλλεκτική μεταχείριση των φρούτων και λαχανικών κυμαίνονται μεταξύ 30 και 40% και είναι ακόμη υψηλότερες σε ορισμένες αναπτυσσόμενες χώρες. Επομένως, ο περιορισμός των μετασυλλεκτικών απωλειών αποτελεί σημαντικό στόχο ώστε να εξασφαλιστεί επάρκεια τροφίμων, τόσο σε ποιότητα όσο και σε ποσότητα στον πλανήτη (Farzana Panhwar, 2006). Αυτό διασφαλίζεται με τη εφαρμογή γεωργικών φαρμάκων που έχουν παίξει καθοριστικό ρόλο στην επιτυχία της σύγχρονης γεωργίας και την παραγωγή τροφίμων.

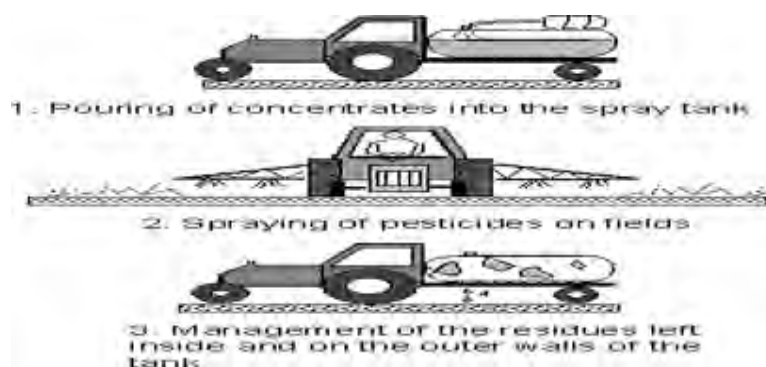
Παρ' όλα αυτά, η χρήση γεωργικών φαρμάκων προκαλεί παγκόσμια ανησυχία τόσο για τις αρνητικές επιπτώσεις που έχει στην υγεία του ανθρώπου όσο και για τις επιπτώσεις στο περιβάλλον, για παράδειγμα η ρύπανση των υπόγειων και επιφανειακών υδάτων. Η μετασυλλεκτική

μεταχείριση φρούτων αποτελεί σημαντική πηγή σημειακής ρύπανσης λόγω της εφαρμογής πυκνών υδατικών διαλυμάτων γεωργικών φαρμάκων όπως τα imazalil και thiabendazole στα φρούτα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μεγάλου όγκου υγρών αποβλήτων επιβαρυσμένων με γεωργικά φάρμακα. Για την επεξεργασία των συγκεκριμένων αποβλήτων που σύμφωνα με την κοινοτική νομοθεσία χρήζουν επεξεργασίας πριν την τελική διάθεση τους στο περιβάλλον (EC 2000) έχει προταθεί η χρήση των βιοκλινών (Karanasios et al. 2012) .

2. ΒΙΟΚΛΙΝΕΣ

Μη ικανοποιητική διαχείριση των γεωργικών φαρμάκων μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση υπολειμμάτων τους στα επιφανειακά και υπόγεια ύδατα αλλά και στο έδαφος όπου πιθανό να καταλήγουν απόβλητα που περιέχουν γεωργικά φάρμακα. Μια πηγή της ρύπανσης είναι η χρήση των γεωργικών φαρμάκων στη γεωργία και είναι σημαντικό να εντοπιστούν ορθολογικές πρακτικές που να περιορίζουν τον κίνδυνο περιβαλλοντικής ρύπανσης. Τα τρία κρίσιμα βήματα που συνήθως εμπλέκονται κατά το χειρισμό των γεωργικών φαρμάκων και τα οποία μπορούν να οδηγήσουν σε περιβαλλοντική ρύπανση είναι:

1. Η προετοιμασία του ψεκαστικού υγρού
2. Η εφαρμογή των γεωργικών φαρμάκων
3. Η διαχείριση των υπολειμμάτων των γεωργικών φαρμάκων μετά την ολοκλήρωση της εφαρμογής

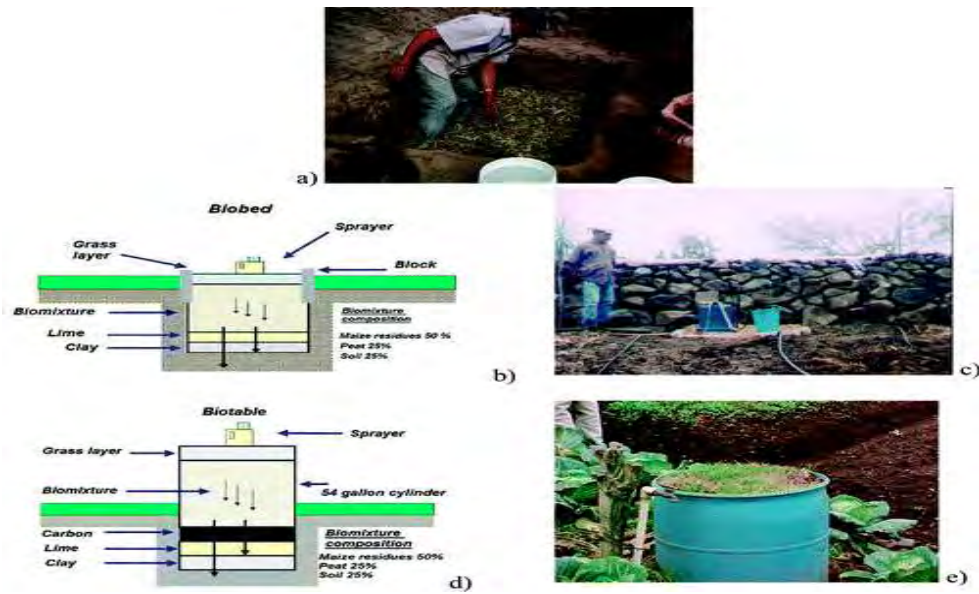


Εικόνα 1: Χειρισμός γεωργικών φαρμάκων στις γεωργικές εκμεταλλεύσεις.

Αν τα γεωργικά φάρμακα χρησιμοποιούνται στις συνιστώμενες δόσεις και εφαρμόζονται με τη χρήση σύγχρονων τεχνικών σύμφωνα με τις ορθές γεωργικές πρακτικές, ο κίνδυνος ρύπανσης του περιβάλλοντος είναι περιορισμένος. Ωστόσο, ο κίνδυνος περιβαλλοντικής ρύπανσης είναι υψηλότερος κατά την προετοιμασία του ψεκαστικού υγρού αλλά και μετά την ολοκλήρωση του ψεκασμού και την διαχείριση του ψεκαστήρα. Ο ψεκαστήρας συνήθως γεμίζεται στην ίδια θέση στο αγρόκτημα κάθε φορά κοντά σε μια πηγή νερού και όπου η επιφάνεια του εδάφους γενικά έχει αφαιρεθεί και έχει αντικατασταθεί με ένα στρώμα από χαλίκι και άμμο. Η περιορισμένη αποδόμηση και προσρόφηση των γεωργικών φαρμάκων σε αυτά τα υλικά αυξάνουν τον κίνδυνο της έκπλυσης των γεωργικών φαρμάκων (Castillo et al. 2008). Ένα σύστημα χαμηλού κόστους όπως οι βιοκλίνες μπορεί να ελαχιστοποιήσει τους κινδύνους σημειακής ρύπανσης που απορρέουν από την εφαρμογή μη ορθολογικών χειρισμών πριν και μετά την εφαρμογή των γεωργικών φαρμάκων.

Οι βιοκλίνες προέρχονται από τη Σουηδία και αναπτύχθηκαν ως απάντηση στην ανάγκη για απλές και αποτελεσματικές μεθόδους για να ελαχιστοποιηθεί η ρύπανση του περιβάλλοντος από τη χρήση γεωργικών φαρμάκων (Torstensson 2000). Είναι μια κατασκευή όπου μπορεί να λειτουργήσει μέσα σε καλλιεργούμενες εκτάσεις για να υποδέχεται το περιεχόμενο ή το υπόλοιπο των ψεκαστικών και τα κατάλοιπα της πλύσης τους και έχει ως στόχο τον περιορισμό της έκπλυσης των γεωργικών φαρμάκων και της σημειακής ρύπανσης των φυσικών υδάτινων πόρων. Η αποτελεσματικότητά τους οφείλεται στην αυξημένη μικροβιακή δραστηριότητα που εμφανίζει το πληρωτικό υλικό των βιοκλινών και η οποία οδηγεί σε αποδόμηση των περισσοτέρων γεωργικών φαρμάκων (Castillo et al. 2008). Το σύστημα βιοκλινών έχει προσελκύσει την προσοχή αρκετών χωρών, όπου διεξάγονται εργασίες για την προσαρμογή τους στις τοπικές συνθήκες και πρακτικές. Κατά συνέπεια, το σύστημα βιοκλινών έχει λιγότερο ή περισσότερο τροποποιηθεί και ενίοτε μετονομαστεί, για παράδειγμα όπως *biomassbed* στην Ιταλία, *biofilter* στο Βέλγιο και *Phytobac* και *biobac* στη Γαλλία (De Wilde et al. 2007). Η αποτελεσματικότητά και το χαμηλό κόστος των βιοκλινών τις καθιστά κατάλληλες για χρήση και σε αναπτυσσόμενες χώρες (Castillo et al. 2008).

Εικόνα 2: Απεικόνιση βιοκλινών σε Δανία και Α. Αμερική



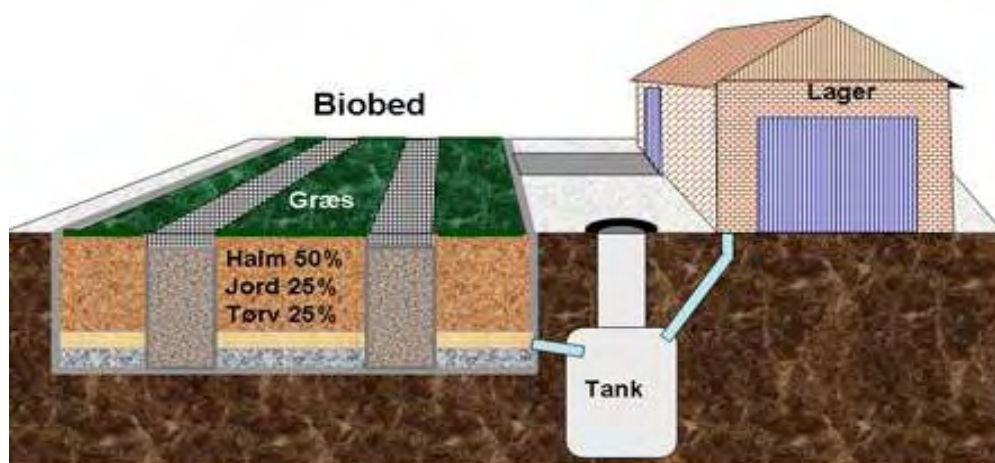
Η ανάγκη δημιουργίας βιοκλινών εξαρτάται από τη συχνότητα ψεκασμών σε μια περιοχή. Τα συσκευαστήρια φρούτων χρησιμοποιούν υδατικά διαλύματα μυκητοκτόνων για συντήρηση- αποθήκευση των φρούτων και λόγω των προδιαγραφών λειτουργίας τους η κατασκευή βιοκλινών στα όρια της εγκατάστασης τους εμφανίζεται σήμερα ως η ιδανικότερη λύση για την τελική εξουδετέρωση των αποβλήτων.

2.1.Κατασκευή βιοκλινών

Στην απλούστερη μορφή τους οι βιοκλίνες είναι ένα όρυγμα στο έδαφος της οποίας ο πυθμένας μονώνεται με κατάλληλες μεμβράνες και πλαστικά και πληρούται με οργανικό υλικό ποικίλης σύστασης που ονομάζεται βιομίγμα (Torstensson 2000). Οι βιοκλίνες συνήθως φυτοκαλύπτονται για την καλύτερη υγρασιακή κατάσταση του βιομίγματος στο εσωτερικό της βιοκλίνης. Στην αρχική της μορφή η βιοκλίνη περιλαμβάνει μια ράμπα που υποστηρίζει το ψεκαστήρα που τοποθετείται επί της επιφάνειας της βιοκλίνης. Όλα τα υγρά που εκρέουν

από τον ψεκαστήρα πριν ή μετά τον ψεκασμό καταλήγουν στην επιφάνεια της βιοκλίνης όπου και προσροφώνται ή αποδομούνται.

Εικόνα 3: Απεικόνιση βιοκλίνης



2.2 Σύσταση των βιομιγμάτων που χρησιμοποιούνται στις βιοκλίνες

Το βιομίγμα με το οποίο πληρούνται οι βιοκλίνες αποτελείται από ένα μίγμα άχυρου ή κάποιου άλλου λιγνινοκυτταρινούχου υλικού, εδάφους και τύρφης ή κομπόστ αγροτικής προέλευσης. Δεδομένου ότι η τύρφη είναι ιδιαίτερα ακριβή στις παραμεσόγειες χώρες έχει αντικατασταθεί από κομποστοποιημένα υλικά δίνοντας ταυτόχρονα μεγαλύτερη αποδομητική ικανότητα στο βιομίγμα (Karanasios et al. 2010). Τα κομπόστ που έχουν χρησιμοποιηθεί αποτελούνται κυρίως από υπολείμματα της τοπικής αγροτικής παραγωγής όπως ελαιόφυλλα ή εναλλακτικά εξαντλημένο υπόστρωμα καλλιέργειας εδώδιμων μανιταριών του είδους *Pleurotus ostreatus*. Το κάθε υλικό έχει το ρόλο του στις βιοκλίνες. Το έδαφος προσφέρει τους μικροοργανισμούς, το άχυρο είναι πηγή άνθρακα για αυτούς και το κομποστοποιημένο υλικό μικροοργανισμούς και οργανική ουσία. Επιπλέον, το υπόστρωμα από μονάδες καλλιέργειας μανιταριών έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνει σημαντικά την αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων έναντι των γεωργικών φαρμάκων (Karanasios et al. 2012α). Η αναλογία των συστατικών του βιομίγματος είναι συνήθως άχυρο (50%), έδαφος (25%)

και κομπόστ ή τύρφη (25%) αλλά και παραλλαγές των συγκεκριμένων ογκομετρικών αναλογιών έχουν καταγραφεί ανάλογα με τις ανάγκες και τις χρήσεις κάθε βιοκλίνης (Castillo et al., 2008).

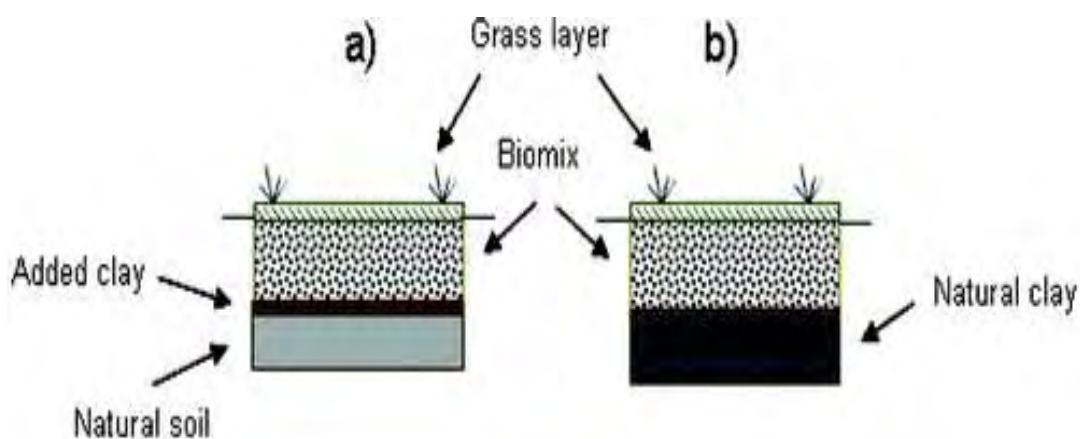
Παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα του βιομίγματος:

- ✓ **Υγρασία:** Θα πρέπει να είναι αρκετά υψηλή για να προωθηθεί η μικροβιακή δραστηριότητα και η διαλυτοποίηση των γεωργικών φαρμάκων διατηρώντας το πορώδες ώστε να επικρατούν αερόβιες συνθήκες. Υψηλά επίπεδα υγρασίας κοντά στον κορεσμό αυξάνουν τον κίνδυνο έκπλυσης των γεωργικών φαρμάκων και προωθείται η επικράτηση αναερόβιων συνθηκών με καταστρεπτικές συνέπειες για την μικροβιακή αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων
- ✓ **Θερμοκρασία:** Η αποικοδόμηση των γεωργικών φαρμάκων επηρεάζεται από την θερμοκρασία. Σε εργαστηριακές δοκιμές, στους 20°C υπήρξαν αυξημένα ποσοστά διάσπασης σε σύγκριση με του 2°C και τους 10°C, για όλα τα γεωργικά φάρμακα που μελετήθηκαν εκτός του chloridazon. Αυξημένες θερμοκρασίες οδηγούν αυξημένη μικροβιακή και ενζυματική δραστηριότητα αλλά επίσης, μπορεί να αυξήσουν και τη διαλυτότητα των γεωργικών φαρμάκων.
- ✓ **Ηλικία βιομίγματος:** Η προοδευτική αποσύνθεση του οργανικού υλικού μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία της βιοκλίνης διαμέσου
 - i. μείωσης της αποδομητικής ικανότητας του βιομίγματος που οδηγεί σε βραδύτερη αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων και συσσώρευση προϊόντων μεταβολισμού που πιθανό να δημιουργούν μεγαλύτερα περιβαλλοντικά πρόβλημα σε σχέση με την μητρική ουσία
 - ii. επηρεάζοντας την ικανότητα προσρόφησης, η οποία με τη σειρά της θα μπορούσε να αυξήσει την κινητικότητα των γεωργικών φαρμάκων στην βιοκλίνη.

2.3. Είδη βιοκλινών

Ανάλογα με το εάν ή όχι ο πυθμένας της βιοκλίνης είναι μονωμένος υπάρχουν δυο τύποι βιοκλινών:

1. Μη μονωμένες βιοκλίνες. Ο συγκεκριμένος τύπος βιοκλινών δεν είναι μονωμένος στον πυθμένα αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις εγκαθίσταται ή υπάρχει στον πυθμένα ένα φυσικό στρώμα αργίλου. Στις συγκεκριμένες βιοκλίνες δεν υπάρχει σύστημα αποστράγγισης και χρησιμοποιούνται κυρίως στην Σουηδία. Ο συγκεκριμένος τύπος βιοκλινών δεν δέχεται απόνερα από το πλύσιμο του ψεκαστήρα.
2. Μονωμένες βιοκλίνες: Μοιάζει με την αρχική Σουηδική βιοκλίνη αλλά είναι επενδυμένη με συνθετικό αδιάβροχο στρώμα που το απομονώνει από το έδαφος. Αυτός ο σχεδιασμός επιτρέπει τη συλλογή των υδάτων αποστράγγισης.



Εικόνα 4: Σχηματική απεικόνιση μη μονωμένων βιοκλινών

2.4. Παράγοντες που επηρεάζουν τη λειτουργία των βιοκλινών

2.4.1. Σύνθεση του βιομίγματος

Η σύνθεση του βιομίγματος παίζει καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα των βιοκλινών καθώς επηρεάζει τόσο την προσρόφηση όσο και την μικροβιακή αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων που καταλήγουν σε αυτές. Γενικότερα διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η χρήση κομποστ αντί τύρφης βελτιώνει την αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων αλλά από την άλλη μειώνει την ικανότητα κατακράτησης νερού από τις βιοκλίνες (Corolla et al., 2011, Karanasios et al., 2012β).

2.4.2. Όγκος υγρών αποβλήτων που δέχεται η βιοκλίνη

Οι βιοκλίνες μπορούν να δέχονται συγκεκριμένο όγκο αποβλήτων που εξαρτάται από το μέγεθος τους. Η εφαρμογή όγκου αποβλήτων μεγαλύτερων από αυτούς που μπορεί να διαχειριστεί η βιοκλίνη μπορεί να οδηγήσει σε εκτεταμένη έκπλυση των γεωργικών φαρμάκων, άρα μειωμένη απόδοση, αλλά και επικράτηση αναερόβιων συνθηκών που οδηγεί σε περιορισμό της βιολογικής αποδομητικής ικανότητας των βιοκλινών (Torstensson 2000). Για τον λόγο αυτό έχει δοκιμαστεί η εγκατάσταση μεταξύ του σημείου συλλογής των υγρών αποβλήτων και της βιοκλίνης η ύπαρξη μιας ενδιάμεσης δεξαμενής όπου θα αποθηκεύεται το απόβλητο και στην συνέχεια θα μπορεί να εφαρμόζεται με κατάλληλες ροές στην επιφάνεια της βιοκλίνης (De Wilde et al. 2007).

2.5. Φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες που καθορίζουν την τύχη των γεωργικών φαρμάκων στο περιβάλλον και εντός των βιοκλινών

2.5.1 Προσρόφηση

Η προσρόφηση είναι μια αντιστρεπτή φυσικοχημική διεργασία, κατά την οποία μια χημική ουσία προσκολλάται στην επιφάνεια ενός στερεού σώματος. Τα γεωργικά φάρμακα συγκρατούνται και συνδέονται με τα οργανικά και ανόργανα κolloειδή του εδάφους. Η προσρόφηση θεωρείται ως μια από τις σημαντικότερες διεργασίες φυσικής

απομάκρυνσης των γεωργικών φαρμάκων από το έδαφος, επειδή επηρεάζει τη συγκέντρωσή τους στο εδαφικό διάλυμα και κατ' επέκταση τη μετακίνησή τους στο έδαφος, την εξάτμιση ή την πτητικοποίηση τους καθώς και τη διάσπαση τους. Τα προσροφημένα γεωργικά φάρμακα είναι ουσιαστικά ανένεργα και γίνονται ενεργά μόνον όταν παύσουν να είναι προσροφημένα στα εδαφικά κολλοειδή. Η διεργασία εκρόφησης των γεωργικών φαρμάκων από τα εδαφικά κολλοειδή στο εδαφικό διάλυμα είναι συνήθως βραδύτερη διαδικασία (Κοτρίλα, 2000).

Οι σημαντικότεροι μηχανισμοί προσρόφησης των γεωργικών φαρμάκων στο έδαφος είναι:

1. Ιονικοί δεσμοί (ή ηλεκτροστατικής φύσεως Coulomb): λαμβάνουν χώρα μεταξύ των ιοντικά φορτισμένων γεωργικών φαρμάκων και φορτισμένων εδαφικών σωματιδίων. Η προσρόφηση των γεωργικών φαρμάκων πραγματοποιείται είτε με απευθείας έλξη των ιόντων τους με τα αντίθετα φορτισμένα κολλοειδή του εδάφους είτε με ιονική ανταλλαγή, όπου η ιονική μορφή του γεωργικού φαρμάκου αντικαθιστά κάποιο ήδη προσροφημένο ιόν. Οι δεσμοί του τύπου αυτού επηρεάζονται σημαντικά από το pH του εδαφικού διαλύματος και από το είδος και την ποσότητα των κολλοειδών του εδάφους. Η ενέργεια των δεσμών αυτών είναι μεγαλύτερη από 10 Kcal/mol.
2. Δεσμοί υδρογόνου: σχηματίζονται όταν το υδρογόνο που είναι ενωμένο ομοιοπολικά με ένα από τα ηλεκτροαρνητικά στοιχεία φθόριο, άζωτο ή οξυγόνο έλκεται από ηλεκτροαρνητικό άτομο άλλου μορίου με αποτέλεσμα τη δημιουργία δεσμού μεταξύ των δυο μορίων. Η ισχύς των δεσμών αυτών είναι της τάξης των 1-15 Kcal/mol. Οι δεσμοί υδρογόνου είναι βασικής σημασίας για την προσρόφηση μη ιονιζόμενων πολικών γεωργικών φαρμάκων που έχουν στο μόριο του τις ομάδες $-COOH$, $-OH$ και $-NH_2$. Η προσρόφηση των γεωργικών φαρμάκων με δεσμούς υδρογόνου επηρεάζεται κυρίως από την υγρασία του εδάφους, αφού τα μόρια του νερού ανταγωνίζονται τα μόρια των γεωργικών φαρμάκων για τις ίδιες θέσεις προσρόφησης.
3. Υδρόφοβοι δεσμοί: αναπτύσσονται μεταξύ μη πολικών μορίων των γεωργικών φαρμάκων και των υδρόφοβων επιφανειών των οργανικών κολλοειδών. Η προσρόφηση των γεωργικών φαρμάκων με υδρόφοβο δεσμό δεν επηρεάζεται από την υγρασία και το pH

του εδάφους, αλλά αυξάνεται με την αύξηση της επιφάνειας των οργανικών κολλοειδών.

4. Δυνάμεις London- Van der Waals: προκαλούνται από διακυμάνσεις στην κατανομή του ηλεκτρικού φορτίου με αποτέλεσμα τη δημιουργία δίπολων που έλκονται μεταξύ τους. Η ισχύς των δεσμών μέσω των δυνάμεων αυτών είναι περίπου ίση με την ισχύ των δεσμών υδρογόνου. Οι δυνάμεις αυτές είναι αθροιστικές, αυξάνονται όσο αυξάνεται το μοριακό βάρος του γεωργικού φαρμάκου, αλλά ελαττώνονται δραστικά με την αύξηση της απόστασης των μορίων.

Γενικά το πόσο αποτελεσματικά προσροφάται μια οργανική ένωση στο έδαφος καθορίζεται από διάφορες φυσικές και χημικές ιδιότητες της ίδιας της οργανικής ουσίας αλλά και του εδάφους επί του οποίου προσροφάται η ένωση. Η τάση προσρόφησης των διαφόρων χημικών ενώσεων συμπεριλαμβανομένων και των γεωργικών φαρμάκων μπορεί να εκφραστεί με τον συντελεστή προσρόφησης K_d (Waunchope et al. 2002). Ο συντελεστής αυτός είναι το μέτρο της κατανομής μίας χημικής ένωσης ανάμεσα στο στερεό (έδαφος ή ίζημα) και στη υδατική φάση και είναι ανεξάρτητος των ιδιοτήτων του εδάφους και του ιζήματος. Ο συντελεστής K_d κανονικοποιημένος ως προς την περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανικό άνθρακα ονομάζεται K_{oc} και ορίζεται ως ο λόγος του προσροφηθέντος χημικού προϊόντος ανά βάρος οργανικού άνθρακα προς την συγκέντρωση του χημικού προϊόντος στο υδατικό διάλυμα.

$$K_{oc} = \frac{\text{μg προσροφούμενης ένωσης / gr οργανικού άνθρακα}}{\text{μg προσροφούμενης ένωσης / ml διαλύματος}}$$

Οι συντελεστές προσρόφησης K_d και K_{oc} χρησιμοποιούνται ως βασικοί παράμετροι σε μαθηματικά μοντέλα προσομοίωσης της περιβαλλοντικής τύχης των γεωργικών φαρμάκων.

Η ένταση της προσρόφησης ενός γεωργικού φαρμάκου καθορίζει σε σημαντικό βαθμό την κινητικότητα, την πτητικότητα την αβιοτική και βιοτική αποδόμηση της. Για να μπορούμε να προσδιορίσουμε την τύχη ενός γεωργικού φαρμάκου στο περιβάλλον είναι επομένως σημαντικό να γνωρίζουμε την τιμή του συντελεστή K_{oc} . Επειδή οι μέθοδοι εκτίμησης είναι αρκετά προσεγγιστικές είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται πειραματικές τιμές K_{oc} . Ο πιο αποτελεσματικός τρόπος για την μέτρηση των συντελεστών K_{oc} είναι μέσω κατασκευής ισόθερων προσρόφησης. Ως ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης χαρακτηρίζεται η γραφική απεικόνιση της σχέσης μεταξύ της ποσότητας της χημικής ένωσης που έχει προσροφηθεί ανά μονάδα βάρους προσροφητή και της συγκέντρωσης της στο διάλυμα σε κατάσταση ισορροπίας. Μελέτη της σχέσης μεταξύ των μηχανισμών προσρόφησης και των τύπων των ισόθερων προσρόφησης που παίρνουμε οδήγησε στην ανάπτυξη μιας εμπειρικής ταξινόμησης των ισόθερων προσρόφησης σε 4 κύριες κατηγορίες. Έχουν γίνει διάφορες προσπάθειες για να αποδοθούν θεωρητικά μοντέλα που να προβλέπουν τις παραπάνω ισόθερμες όπως i) του Freundlich, ii) του Langmuir, iii) του Temkin, iv) των Brunauer-Emmett-Teller (BET) και v) του γραμμικού. (βλ. Κεφ. 4). Για την μελέτη της προσρόφησης των γεωργικών φαρμάκων στο έδαφος αλλά και σε λοιπά οργανικά υλικά χρησιμοποιούνται συνήθως η γραμμική συσχέτιση και σε περιπτώσεις που η ισόθερμη δεν μπορεί να περιγραφεί από το γραμμικό μοντέλο χρησιμοποιείται η εξίσωση του Freundlich. Η τελευταία έχει την γενική μορφή

$$C_S = K_F C_W^{1/n}$$

όπου:

C_S = η συγκέντρωση ισορροπίας της προσροφούμενης ένωσης στο προσροφητικό μέσο (μg/g)

K_F = συντελεστής προσρόφησης Freundlich

C_W = συγκέντρωση ισορροπίας της προσροφούμενης ένωσης στο διάλυμα (μg/ml)

n = παράμετρος που σχετίζεται με την ένταση προσρόφησης. Το $1/n$ παίρνει τιμές 0.7-1.1, έχουν όμως μετρηθεί και τιμές 0.3-1.7.

Για τον προσδιορισμό αυτών των εμπειρικών συντελεστών τα δεδομένα προσαρμόζονται στην λογαριθμική μορφή της παραπάνω εξίσωσης:

$$\log(C_s) = \log K_F + 1/n \log C_w$$

Για την σύγκριση της προσροφητικότητας διαφόρων ενώσεων μπορεί να χρησιμοποιηθεί η τιμή του K_F , θεωρώντας ότι οι τιμές του λόγου $1/n$ είναι ίσες και η σύγκριση να γίνεται για τις ίδιες συγκεντρώσεις. Αφού προσδιοριστεί η τιμή του K_F τότε υπολογίζεται το K_{oc} ως εξής:

$$K_{oc} = \frac{K_F}{\%OC} 100$$

όπου %OC είναι η περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα του προσροφητικού υλικού.

Όταν η σχέση μεταξύ συγκέντρωσης του γεωργικού φαρμάκου στο διάλυμα και της συγκέντρωσης του γεωργικού φαρμάκου που έχει προσροφηθεί ακολουθεί ευθύγραμμη συμμεταβολή τότε για το προσδιορισμό της προσρόφησης χρησιμοποιείται ο συντελεστής K_d που προσδιορίζεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$C_s = K_d C_w \quad (1)$$

όπου K_d είναι ο συντελεστής προσρόφησης (cm^3/g).

Ακολούθως μπορεί να προσδιοριστεί ο συντελεστής K_{oc} σύμφωνα με την εξίσωση

$$K_d = f_{oc} K_{oc} \quad (2)$$

όπου f_{oc} είναι το κλάσμα του οργανικού άνθρακα του προσροφητικού υλικού

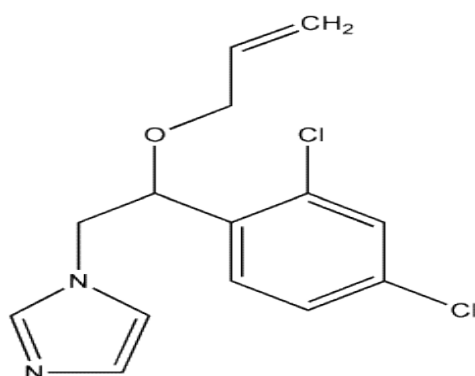
2.5.2 Μικροβιακή αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων

Είναι μια διαδικασία μετασχηματισμού, με την οποία οι μικροοργανισμοί του εδάφους μεταβολίζουν μερικώς ή ολικώς ένα γεωργικό φάρμακο. Οι πιο πολλοί μικροοργανισμοί του εδάφους, όπου το οξυγόνο είναι άφθονο αποδομούν τα γεωργικά φάρμακα μέσω του αερόβιου μεταβολισμού. Όταν ένα γεωργικό φάρμακο υφίσταται πλήρη αερόβιο μεταβολισμό, μετατρέπεται σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Υπό συνθήκες αναερόβιου μεταβολισμού, η αποδόμηση από τους μικροοργανισμούς μπορεί να παράγει πρόσθετα προϊόντα όπως μεθάνιο. Η οργανική ουσία, η δομή, η υγρασία, ο αερισμός, και το pH του εδάφους παίζουν σημαντικό ρόλο στην μικροβιακή αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων με έμμεσο και άμεσο τρόπο.

3. Γεωργικά φάρμακα που μελετήθηκαν

3.1. Imazalil

Είναι ένα διασυστηματικό μυκητοκτόνο της ομάδας των αναστολέων βιοσύνθεσης της εργοστερόλης, με προληπτική, θεραπευτική και αντισπορογόνο δράση. Σε βιοχημικό επίπεδο δρα παρεμποδίζοντας τη βιοσύνθεση της εργοστερόλης στο στάδιο της απομεθυλίωσης του C-14. Εφαρμόζεται αποκλειστικά μετά τη συγκομιδή των εσπεριδοειδών για την αποφυγή των σήψεων από *Penicillium*. Η χημική δομή του IMZ παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.



Εικόνα 5: Χημική δομή imazalil

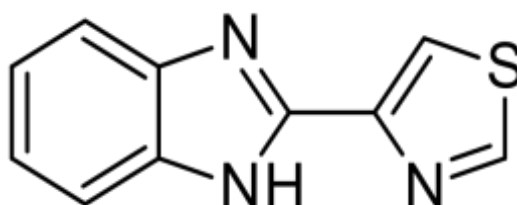
Καταπολέμα ευρύ φάσμα μυκήτων που προκαλούν ασθένειες σε οποροφόρα, λαχανικά και καλλωπιστικά όπως π.χ. ωίδια σε αγγούρια και τριανταφυλλιά. Επίσης, χρησιμοποιείται σαν προστατευτικό σπόρων στα σιτηρά και για την καταπολέμηση, μετά από εμβάπτιση, σήψεων της αποθήκης σε καρπούς εσπεριδοειδών, μπανάνας και άλλα φρούτα (EXTOXNET). Χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις όπου οι μύκητες έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στα μυκητοκτόνα της ομάδας των αρωματικών υδρογονανθράκων (διφαινύλιο) και στα βενζιμιδαζολικά.

Περιβαλλοντική Τύχη και Συμπεριφορά: Αποτελεί ιδιαίτερα υπολειμματική ουσία στο έδαφος με DT₅₀ που κυμαίνονται από 44 ως 137 ημέρες (US EPA 2003, US EPA 2009). Οι Omirou et al (2012) ανέφεραν τιμές DT₅₀ για το IMZ στο έδαφος 29 ημέρες, ενώ οι Kreuzig et al. (2010) ανέφεραν τιμές DT₅₀ για το ίδιο μυκητοκτόνο 83 ημέρες. Στο έδαφος το IMZ μεταβολίζεται σε IMZ-ethanol που αποδομείται σχετικά γρήγορα (EC, 2009). Το IMZ δεν είναι ιδιαίτερα κινητικό στο έδαφος και δεν αναμένεται να εκπλυθεί. Σε αυτό καταλήγουν και μελέτες προσρόφησης που πραγματοποιήθηκαν σε διάφορα εδάφη και έδειξαν τιμές συντελεστή προσρόφησης K_{foc} από 4059 ως και 4357 ml/g (EC 2009, Kreuzig et al. 2010).

Τοξικότητα και Οικοτοξικότητα: Το IMZ έχει χαρακτηριστεί ως ύποπτο για καρκινογένεση σε ανθρώπους (US EPA 2003). Το IMZ είναι μετρίως τοξικό στα πουλιά ((LD₅₀ acute = 510 mg/kg, LD₅₀ short term dietary > 5620 mg/kg feed) μετρίως του ιδιαίτερα τοξικό στα θηλαστικά (LD₅₀ acute rats = 227 mg/kg και NOEL short term dietary = 2.5 mg/kg diet). Το IMZ θεωρείται ιδιαίτερα τοξικό στους υδρόβιους οργανισμούς όπως και αποδεικνύεται από τις ιδιαίτερα χαμηλές τιμές των συντελεστών τοξικότητας για τους διάφορους οργανισμούς - δείκτες όπως ψάρια (LC₅₀ acute *Onchorynchus mykiss* = 1.48 mg/l; NOEC chronic = 0.043 mg/l) ασπόνδηλα (EC₅₀ *Daphnia magna* 3.5 mg/l), και άλγη (*Pseudokirch subcapitata* E_bC₅₀ = 0.87 mg/l and E_rC₅₀ = 1.20 mg/l) (EC 2009)

3.2. Thiabendazole

Είναι μυκητοκτόνο που χρησιμοποιείται κυρίως για το έλεγχο μετασυλλεκτικών σήψεων στα φρούτα. Δρα αναστέλλοντας τη μίτωση των μυκήτων και ειδικότερα αναστέλλοντας την βιοσύνθεση της β-τουμπουλίνης. Η χημική του δομή παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.



Εικόνα6: Χημική δομή thiabendazole

Περιβαλλοντική Τύχη και Συμπεριφορά: Το TBZ είναι ιδιαίτερα υπολειμματικό στο έδαφος με τιμές DT50 833-1100 ημέρες σε καλλιεργούμενα εδάφη και 1093-1444 ημέρες σε μη καλλιεργούμενα εδάφη (US EPA, 2002). Παρόμοιες μελέτες στην Ευρώπη έδειξαν επίσης ότι το TBZ ήταν πολύ υπολειμματικό στο έδαφος με DT50 > 1 έτος σε μελέτες εργαστηρίου υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες (EC, 2001). Σε παλαιότερες μελέτες οι Kesavan et al. (1976) ανέφεραν DT50 τιμές για το TBZ στο έδαφος 17 εβδομάδες. Στην ίδια εργασία αποστείρωση του εδάφους οδήγησε σε μεγαλύτερη υπολειμματικότητα καταδεικνύοντας το ρόλο της μικροχλωρίδας του εδάφους στην αποδόμηση του TBZ. Σύμφωνα με το τεστ ικανότητας βιοαποδόμησης το TBZ έχει κατηγοριοποιηθεί ως 'μη βιοαποδομήσιμο'. Το TBZ προσροφάται ισχύρα στα κolloειδή του εδάφους με τιμές K_{oc} που κυμαίνονται από 1104 ως 22467 ml/g. Τέτοιες τιμές αποτελούν ένδειξη για χαμηλή κινητικότητα του TBZ στο έδαφος όπως αποδείχθηκε και από άλλες μελέτες (Solel et al., 1979; Omirou et al., 2012).

Τοξικότητα και Οικοτοξικότητα: Το TBZ εμφανίζει χαμηλή οξεία και χρόνια τοξικότητα από δέρματος και διαμέσου της στοματικής οδού (Category III). Δεν προκαλεί ερεθισμό σε μάτια και δέρμα ούτε ευαισθησία στο δέρμα. Το TBZ έχει κατηγοριοποιηθεί ως μόνο σε δόσεις που μπορούν να προκαλέσουν παρεμβολή στην λειτουργία του θυροειδούς αδένου (US EPA, 2002). Το TBZ δεν είναι μεταλαξιγόνο,

τερατογόνο, νευροτοξικό και γενετοξικό και δεν προκαλεί τοξικότητα στην αναπαραγωγή. Εμφανίζει χαμηλή οξεία και μεσοπρόθεση τοξικότητα σε ποντίκια και πουλιά (LC50 ποντίκια = 3100 mg/kg bw; LC50 πουλιά acute >2250 mg/kg bw; LC50 short-term πουλιά >5620 mg/kg diet). Αντίθετα είναι πολύ τοξικό στους υδρόβιους οργανισμούς όπως είναι ξεκάθαρο και από τους ιδιαίτερα χαμηλούς δείκτες τοξικότητας σε οργανισμούς δείκτες (EC50 *Daphnia magna* = 0.81 mg/l, NOEC 21 days *D. magna* = 0.084 mg/l; LC50 rainbow trout = 0.55 mg/l; EC50 algae (96h) 9.0 mg/l) (EC, 2001).

4. Σκοπός του πειράματος

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της ικανότητας προσρόφησης των μυκητοκτόνων imazalil και thiabendazole, τα οποία χρησιμοποιούνται στα συσκευαστήρια φρούτων, σε οργανικά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται ως πληρωτικά υλικά στις βιοκλίνες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1 Οργανικά υποστρώματα

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε η προσρόφηση των γεωργικών φαρμάκων imazalil και thiabendazole στα παρακάτω οργανικά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται ως υλικά ή ως μίγματα στην πλήρωση των βιολινών:

- ✓ Έδαφος
- ✓ Εξαντλημένο Υπόστρωμα Μανιταριών (SMS)
- ✓ Εξαντλημένο Υπόστρωμα Μανιταριών/Άχυρο/Έδαφος (SMS/Straw/Soil) (50/25/25 κατ' όγκο)
- ✓ Άχυρο/Εξαντλημένο Υπόστρωμα Μανιταριών/Έδαφος (Straw/SMS/Soil) (50/25/25 κατ' όγκο)
- ✓ Εξαντλημένο Υπόστρωμα Μανιταριών/Έδαφος (SMS/Soil) (50/50 κατ' όγκο)
- ✓ Άχυρο/Έδαφος (Straw/Soil) (50/50 κατ' όγκο)

Το έδαφος συλλέχθηκε από αγρόκτημα του Εθνικού Ιδρύματος Αγροτικών Ερευνών από την περιοχή της Λάρισας. Το έδαφος μετά την συλλογή του αεροξηράνθηκε μερικώς και ακολούθησε κοσκίνηση (2 mm). Το άχυρο κόπηκε σε τμήματα μήκους 1-3 cm και στην συνέχεια κοσκινίστηκε και αυτό από κόσκινο οπών 4.75 mm. Τέλος το εξαντλημένο υπόστρωμα μανιταριών συλλέχθηκε από μονάδα μανιταροκαλλιέργειας στην περιοχή των Τρικάλων. Μετά την συλλογή του το συγκεκριμένο υλικό τεμαχίστηκε σε λεπτό διαμερισμό και αποθηκεύτηκε στους 4°C μέχρι την περαιτέρω χρήση του. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των παραπάνω υλικών και των βιομιγμάτων που προέκυψαν από την ανάμιξη τους σε διάφορες ογκομετρικές αναλογίες παρουσιάζονται στο παρακάτω Πίνακα 1.

Υλικά	pH	Οργανικός (%)	C N (%)	Συνολικό C/N	Λόγος
Έδαφος	7.55	1.05	0.13	8.1	
Άχυρο	7.15	79.2	0.81	97.8	
SMS	6.83	71.0	1.2	59.2	
SMS/Soil (50:50%)	7.2	16.9	0.33	51.2	
SMS/Straw/Soil (50:25:25)	7.1	29.3	0.30	97.7	
Straw/Soil (50:50)	7.4	6.6	0.13	50.8	
Straw/SMS/Soil (50:25:25)	7.2	23.5	0.20	117.5	

Πίνακας 1. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των υλικών που μελετήθηκαν στη παρούσα εργασία

1.2 Διαλύτες, χημικά αντιδραστήρια και γεωργικά φάρμακα

Για τις εκχυλίσεις και την χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν μεθανόλη, ακετονιτρίλιο, νερό HPLC grade (Merck) και NH₃, χλωριούχο νάτριο (NaCl AppliChem 99,5%), και PSA (Agilent Technologies).

1.2 Αναλυτικές μέθοδοι προσδιορισμού των υπολειμμάτων των γεωργικών φαρμάκων

1.2.1. Εκχύλιση imazalil και thiabendazole

Για την εκχύλιση των IMZ και TBZ από τα υδατικά διαλύματα, με την ολοκλήρωση του πειράματος προσρόφησης το δείγμα φυγοκεντρήθηκε για 5 min σε 4500 rpm και το καθαρό υπερκείμενο παραλήφθηκε. Ακολούθως 2 ml από το υπερκείμενο αναμίχθηκαν με 8 ml μεθανόλη και ακολούθησε έντονη ανάδευση για 30 sec σε σύστημα vortex. Για τη διασφάλιση της καθαρότητας των προς ανάλυση δειγμάτων, πριν την έγχυση στο χρωματογράφο, τα δείγματα της κάθε μεταχείρισης διηθούνταν από ειδικά φίλτρα σύριγγας 0.45μm (Syringe Filters, LabSolution).

1.2.2. Μέθοδος ανάλυσης υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC)

Ο προσδιορισμός των γεωργικών φαρμάκων πραγματοποιήθηκε με ανάλυση των εκχυλισμάτων σε σύστημα HPLC Marathon III, με UV ανιχνευτή και στήλη C18 GraceSmart (4.6 mm x 150mm, 5 μm). Η έκλουση τόσο του IMZ όσο και του TBZ πραγματοποιήθηκε ισοκρατικά. Οι συνθήκες χρωματογραφικής ανάλυσης περιγράφονται συνοπτικά στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Συνθήκες ανάλυσης των υπό μελέτη γεωργικών φαρμάκων σε σύστημα HPLC

Γεωργικά φάρμακα	Κινητή φάση	Αναλογία διαλυτών κινητής φάσης	Μήκος κύματος (nm)
Imazalil	MeOH:H ₂ O +0,25% NH ₃	85:45	204
TBZ	ACN:H ₂ O	60:40	254

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των υπολειμμάτων των γεωργικών φαρμάκων στα δείγματα εδάφους ήταν απαραίτητη η κατασκευή και η χρήση πρότυπης καμπύλης αναφοράς. Για το λόγο αυτό, παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα 1000 µg/ml σε μεθανόλη για το imazalil και το TBZ. Ακολούθησαν διαδοχικές αραιώσεις σε μεθανόλη και τα διαλύματα που παρασκευάστηκαν χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς. Για καθένα από τα παραπάνω διαλύματα έγινε έγχυση 20 µl σε σύστημα HPLC και το εμβαδόν της κορυφής που προέκυψε συσχετίστηκε με την συγκέντρωση του γεωργικού φαρμάκου ώστε να κατασκευαστεί η πρότυπη καμπύλη αναφοράς για το κάθε γεωργικό φάρμακο.

1.3. Προσδιορισμός προσρόφησης των γεωργικών φαρμάκων

Η προσρόφηση των IMZ και TBZ στα διάφορα οργανικά υλικά προσδιορίστηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο του OECD (OECD 2000).

1.3.1. Κινητική προσρόφησης

Αρχικά μελετήθηκε η κινητική της προσρόφησης στα διάφορα υποστρώματα ώστε να διαπιστωθεί σε ποίο χρόνο επέρχεται ισορροπία

μεταξύ της συγκέντρωσης των γεωργικών φαρμάκων που βρίσκονται προσροφημένα και της συγκέντρωσης που παραμένει στο υδατικό διάλυμα. Ο χρόνος ισορροπίας για τα δύο γεωργικά φάρμακα προσδιορίστηκε σε έδαφος και SMS και έγινε η υπόθεση ότι παραμένει ο ίδιος και τα υπόλοιπα υλικά που θα μελετηθούν. Έτσι προετοιμάστηκαν για κάθε γεωργικό φάρμακο 8 κωνικές φιάλες στις οποίες προστέθηκε 1 g ξ.β. εδάφους ή SMS. Σε κάθε φιάλη προστέθηκαν 50 ml διαλύματος 0.01 M CaCl_2 και τα δείγματα αφέθηκαν στην επώαση για 12-14 ώρες. Ακολούθως προστέθηκε σε κάθε φιάλη 1ml διαλύματος IMZ (1000 mg/L) και 44 ml διαλύματος CaCl_2 και τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ψυχόμενο επωαστικό θάλαμο με επώαση στους 25°C. Μετά από 4, 8, 24, 48 ώρες δύο φιάλες κάθε φορά απομακρύνθηκαν από την επώαση. Ακολούθησε φυγοκέντρηση των δειγμάτων και το καθαρό υπερκείμενο αφού παραλήφθηκε αναμίχθηκε με οργανικό διαλύτη για την εκχύλιση του IMZ όπως έχει ήδη περιγραφεί. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε για το TBZ με την μόνη διαφορά ότι αυτή την φορά η διαδικασία πραγματοποιήθηκε με ανάμιξη 2 g ξ.β. υλικού και 100 ml διαλύματος CaCl_2 0.01M.

1.3.2. Πείραμα προσρόφησης

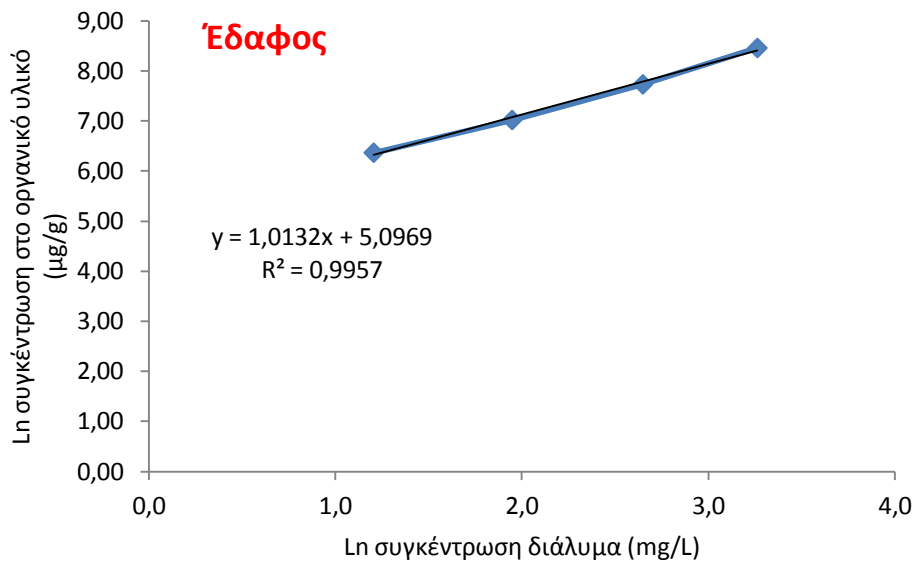
Αφού επιλέχθηκαν τόσο η αναλογία οργανικού υλικού προς υδατικό διάλυμα (1:100 και 1:50 για IMZ και TBZ αντίστοιχα) αλλά και ο χρόνος που απαιτείται για την ισορροπία του συστήματος ακολούθησε η πραγματοποίηση του κυρίως πειράματος προσρόφησης. Έτσι για κάθε γεωργικό φάρμακο και υλικό που αξιολογήθηκε προετοιμάστηκαν 15 φιάλες στις οποίες τοποθετήθηκε 1 g ξ.β υποστρώματος. Σε κάθε φιάλη προστέθηκαν 90 ml διαλύματος 0.01 M CaCl_2 και αφέθηκαν στην επώαση με ανακίνησης για περίπου 12-14 ώρες. Με την ολοκλήρωση του αρχικού σταδίου στις πρώτες τρεις φιάλες προστέθηκε 1 ml διαλύματος

IMZ σε ακετόνη (1000 mg/L) + 9 ml διαλύματος CaCl₂ ως τελικό όγκο 100 ml. Με την ίδια λογική σε ομάδες των τριών στις επόμενες φιάλες προστέθηκαν 2, 4, και 8 ml διαλύματος IMZ και αντίστοιχες ποσότητες CaCl₂ (8, 6 και 2 ml). Η παραπάνω πειραματική διαδικασία οδήγησε στην παρασκευή δειγμάτων για κάθε οργανικό υλικό με συγκέντρωση IMZ 10, 20, 40, 80 mg/L στο υδατικό διάλυμα. Για κάθε επίπεδο συγκέντρωσης υπήρξαν τρεις επαναλήψεις. Παράλληλα οι τελευταίες τρεις φιάλες δεν δέχτηκαν προσθήκη IMZ και αποτέλεσαν του μάρτυρες. Ακολούθως όλα τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο με ανάδευση για 24 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (22±2°C). Με το πέρας της επώασης τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και το υπερκείμενο εκχυλίστηκε και αναλύθηκε όπως έχει ήδη περιγραφεί. Για τον προσδιορισμό της προσρόφησης του TBZ ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία με την μόνη διαφορά ότι αυτή την φορά χρησιμοποιήθηκαν 2 g οργανικού υλικού που αναμίχθηκαν με 100 ml διαλύματος CaCl₂.

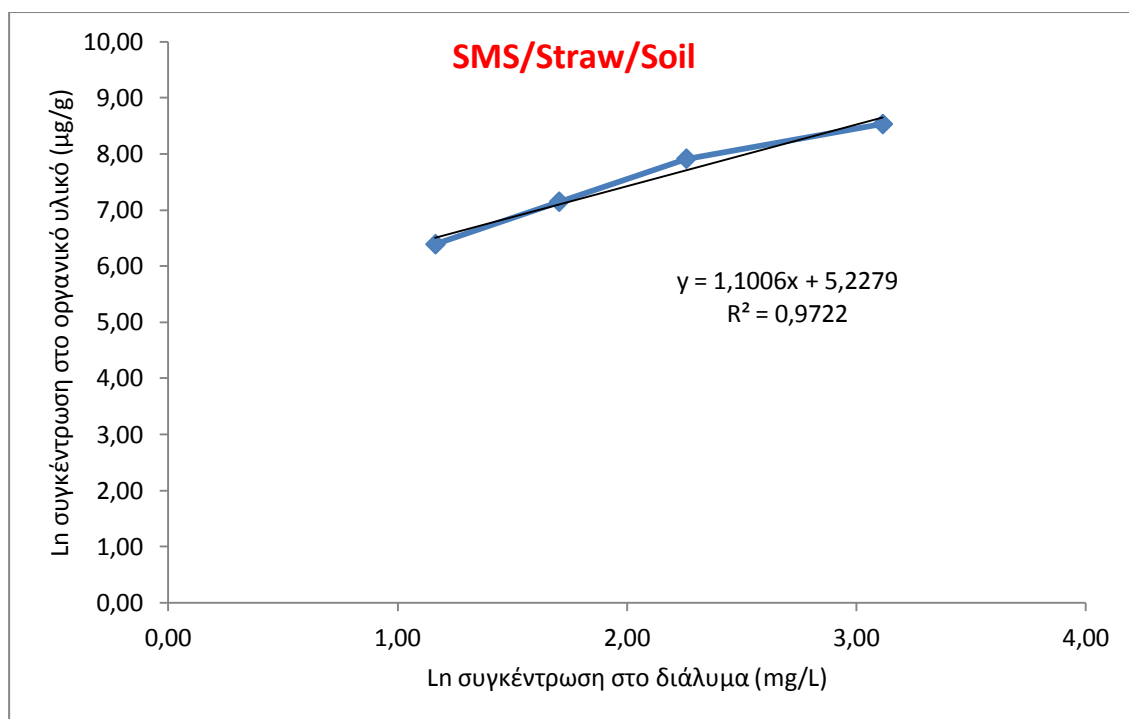
2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1 Προσρόφηση imazalil

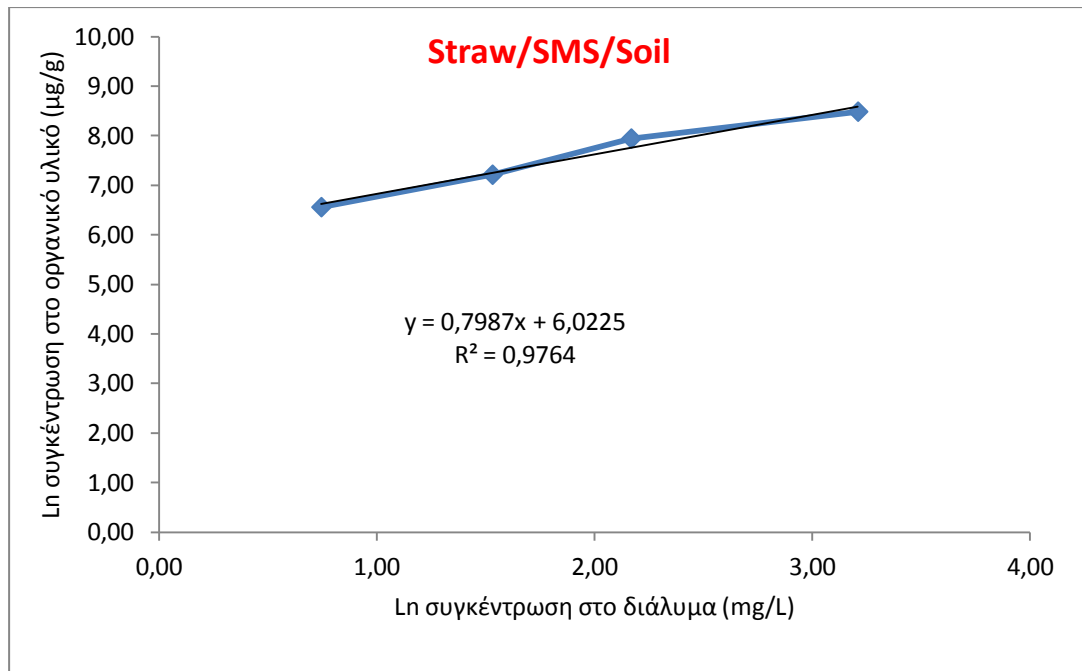
Από το πείραμα κινητικής προσρόφησης προέκυψε ότι ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη ισορροπίας μεταξύ της ποσότητας του IMZ που προσροφάται και της ποσότητας του IMZ που παραμένει διαλυμένο στο υδατικό διάλυμα επέρχεται εντός 8 ωρών. Παρόλα αυτά για τεχνικούς λόγους η προσρόφηση του IMZ προσδιορίστηκε στο ακόλουθο πείραμα στις 24 ώρες. Οι ισόθερμες προσρόφησης για το IMZ στα διάφορα οργανικά υλικά παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 1 ως 5.



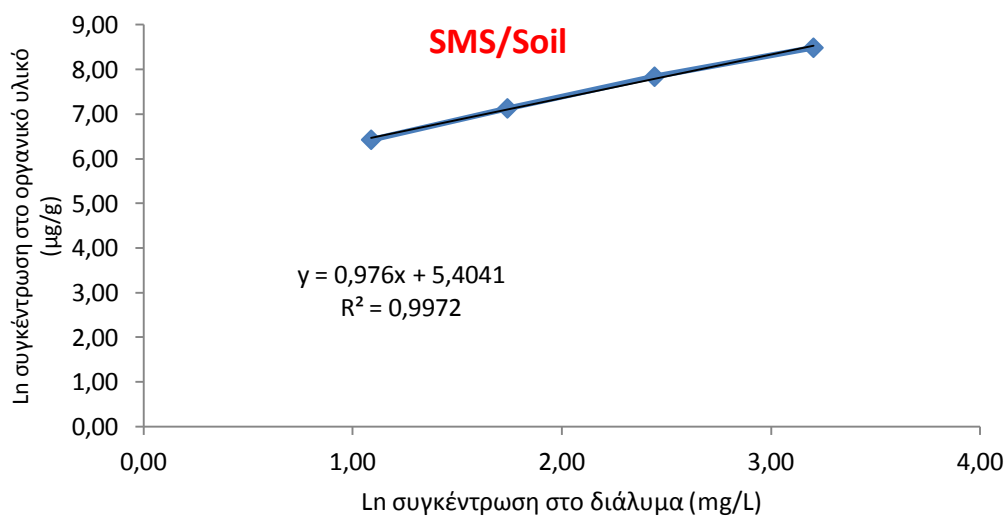
Διάγραμμα 1. Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης του IMZ στο έδαφος



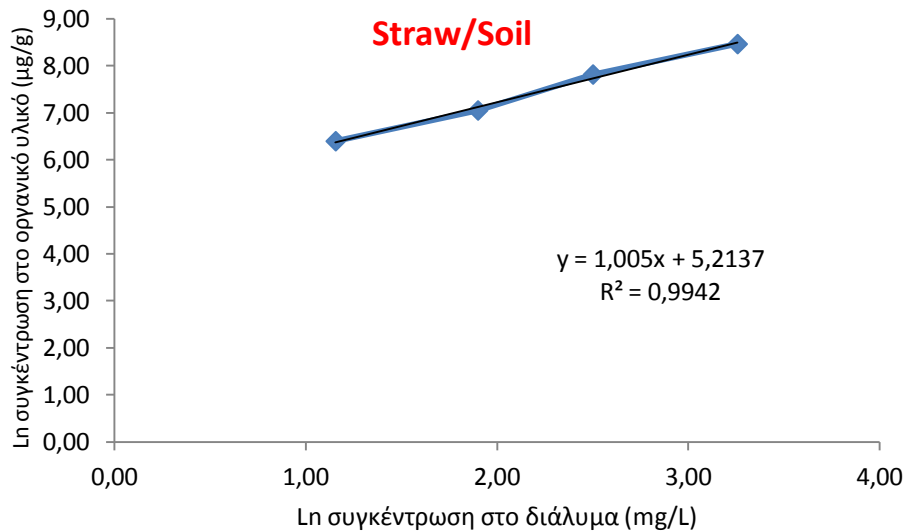
Διάγραμμα 2. Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης του IMZ σε βιομίγμα SMS/Straw/Soil



Διάγραμμα 3. Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης του IMZ σε βιομίγμα Straw/SMS/Soil



Διάγραμμα 4. Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης του IMZ σε βιομίγμα SMS/Soil



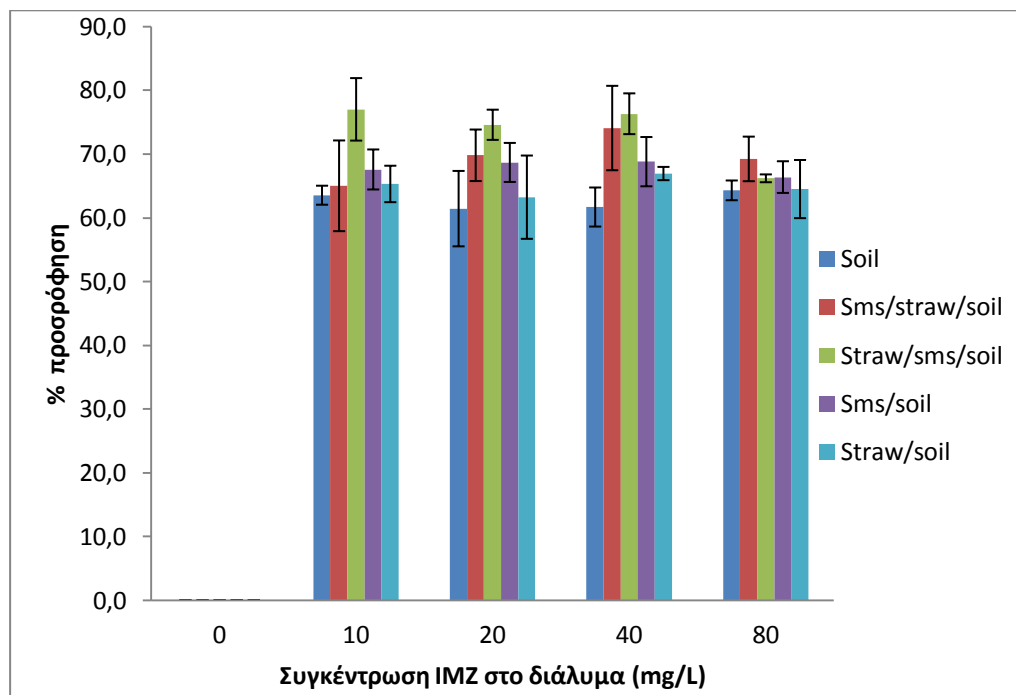
Διάγραμμα 5. Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης του IMZ σε βιομίγμα Straw/Soil.

Η γραμμική μορφή της εξίσωσης freundlich χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του συντελεστή προσρόφησης K_f για το IMZ στα διάφορα υποστρώματα και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Πίνακα 3. Ακολούθως η τιμή του K_f για το IMZ στα διάφορα υποστρώματα κανονικοποιήθηκε ως προς την περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα και υπολογίστηκε το K_{oc} (Πίνακας 3). Γενικότερα, η χαμηλότερη προσρόφηση για το IMZ καταγράφηκε στο έδαφος που έχει ως υλικό την χαμηλότερη περιεκτικότητα σε οργανικό C. Αντίθετα η υψηλότερη προσρόφηση για το IMZ καταγράφηκε στο βιομίγμα με την δεύτερη υψηλότερη περιεκτικότητα σε οργανικό C (Straw/SMS/Soil). Παρόλα αυτά δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ οργανικού άνθρακα και συντελεστή προσρόφησης για το IMZ που καταδεικνύει ότι εκτός από την περιεκτικότητα των υλικών σε οργανικό C και η ποιότητα του οργανικού άνθρακα επηρεάζει την προσρόφηση του IMZ.

Υπόστρωμα	K _f (g/ml)	K _{foc} (g/ml)	N (I/n)
Soil	83.4	7942.9	1.013
SMS/Straw/Soil	186.2	635,0	1.100
Straw/SMS/Soil	412.4	1754,9	0.798
SMS/Soil	222.3	1315,4	0.976
Straw/Soil	183.6	2769,2	1.005

Πίνακας 3. Οι τιμές των συντελεστών προσρόφησης K_f, K_{foc} και N για το IMZ στα διάφορα υλικά που αξιολογήθηκαν.

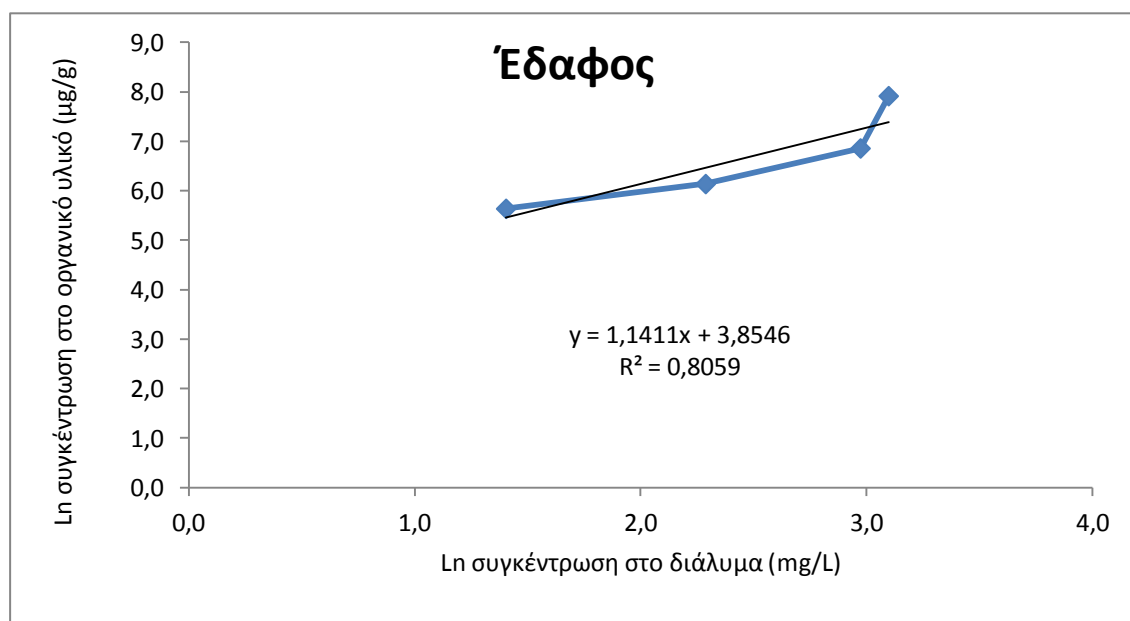
Θα πρέπει να τονίσουμε ότι το % προσρόφησης του IMZ στα διάφορα βιομείγματα στις συνθήκες που επιλέχθηκαν κυμάνθηκαν από 60 ως 80% (Διάγραμμα 6) που βρίσκονται εντός των επιπέδων που θεωρούνται ως επιτρεπτά από την οδηγία του OECD (OECD 2000).



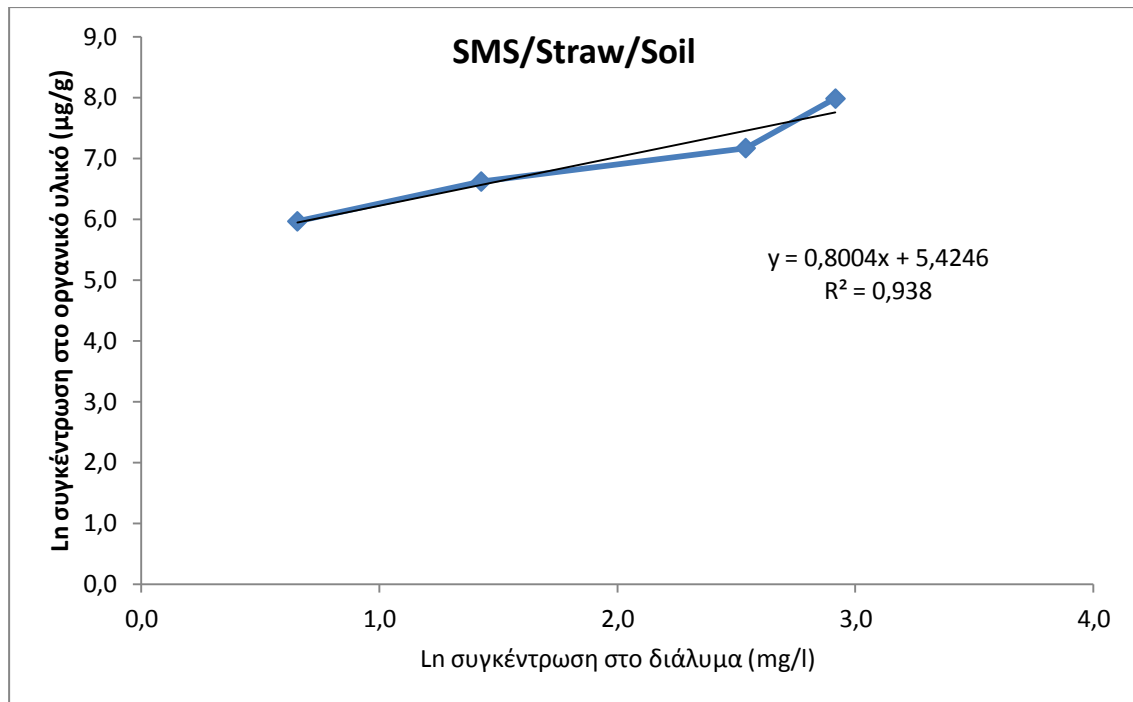
Διάγραμμα 6. Το % προσρόφησης του IMZ στα διάφορα βιομείγματα.

2.2 Προσρόφηση του TBZ

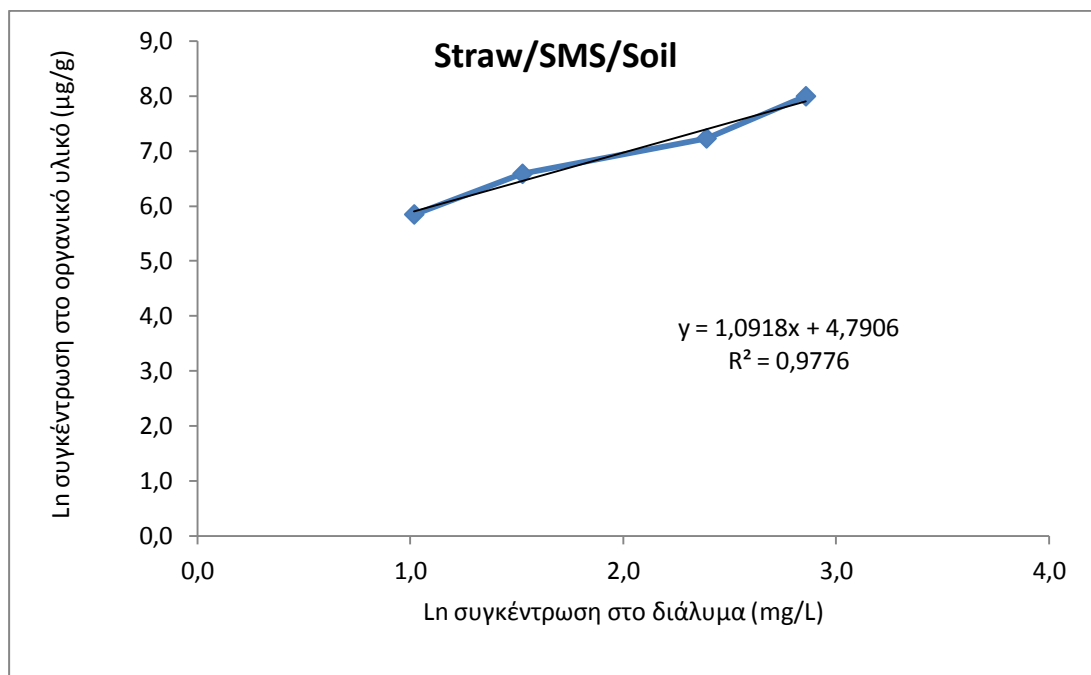
Από το πείραμα κινητικής προσρόφησης προέκυψε ότι ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη ισορροπίας μεταξύ της ποσότητας του TBZ που προσροφάται και της ποσότητας του TBZ που παραμένει διαλυμένο στο υδατικό διάλυμα επέρχεται εντός 8 ωρών. Παρόλα αυτά για τεχνικούς λόγους η προσρόφηση του TBZ προσδιορίστηκε στο ακόλουθο πείραμα στις 24 ώρες. Οι ισόθερμες προσρόφησης για το TBZ στα διάφορα οργανικά υλικά παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 7 ως 11.



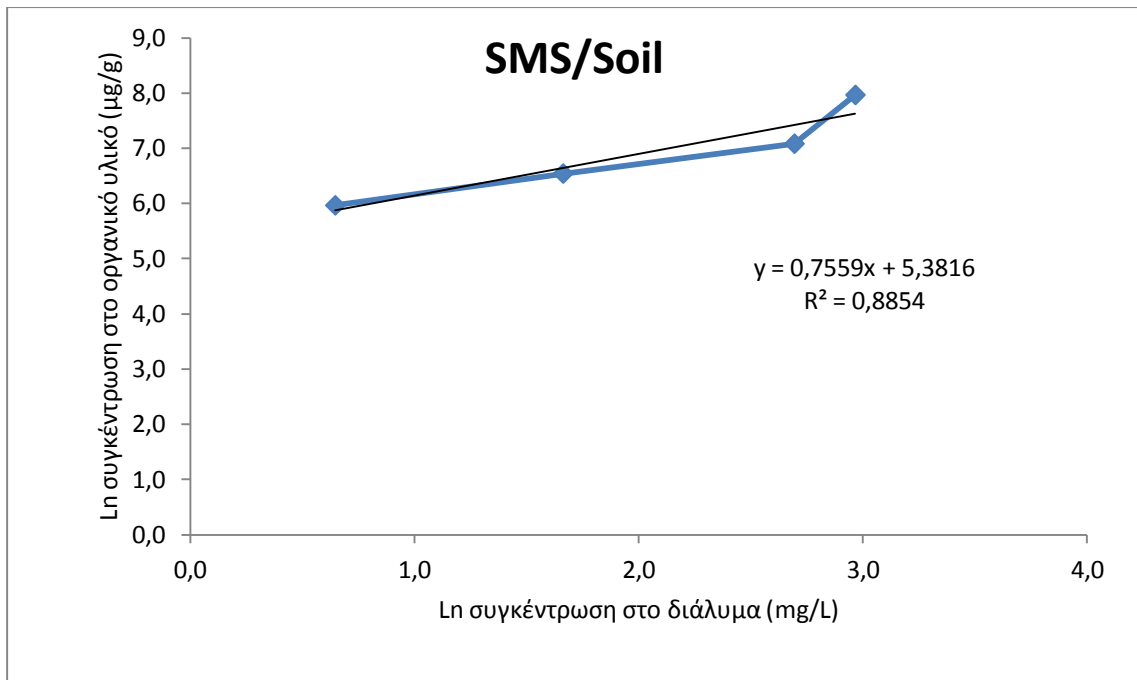
Διάγραμμα 7. Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης του TBZ στο έδαφος



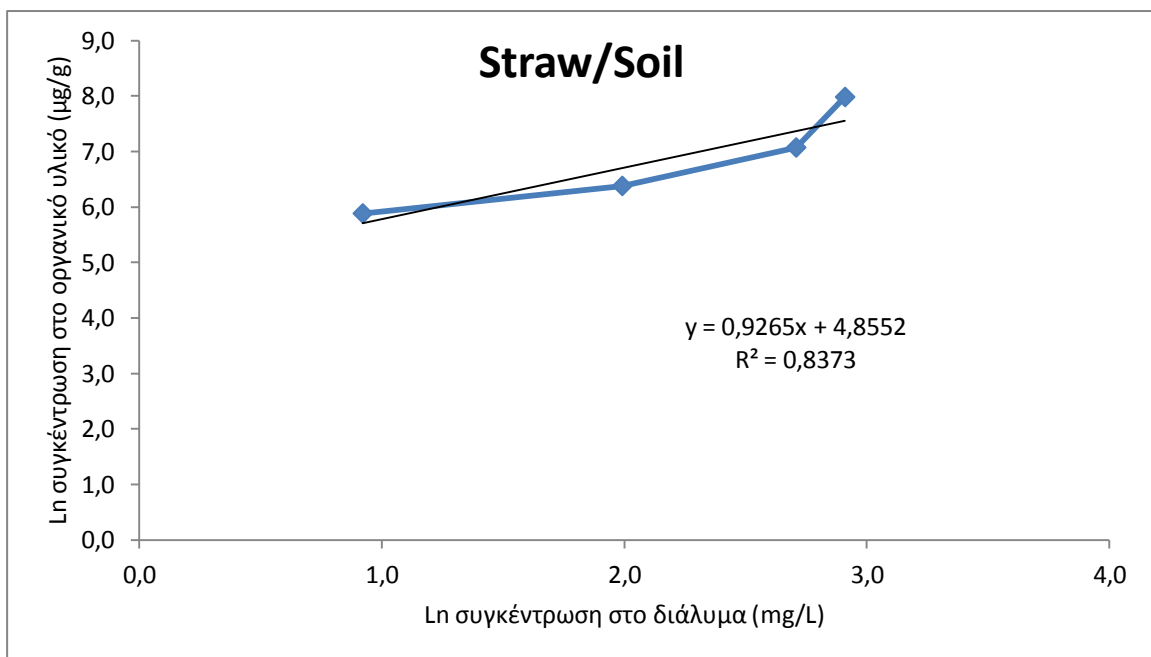
Διάγραμμα 8. Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης του TBZ σε βιομίγμα SMS/Straw/Soil



Διάγραμμα 9. Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης του TBZ σε βιομίγμα Straw/SMS/Soil



Διάγραμμα 10. Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης του TBZ σε βιομίγμα SMS/Soil



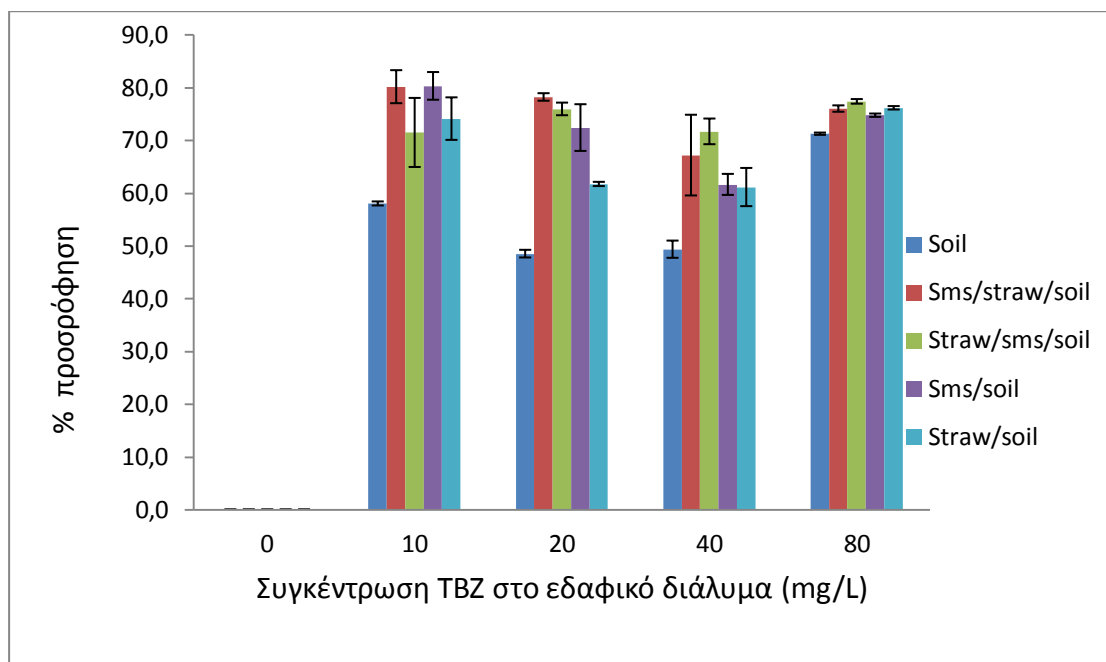
Διάγραμμα 11. Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης του TBZ σε βιομίγμα Straw/Soil

Η γραμμική μορφή της εξίσωσης freundlich χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του συντελεστή προσρόφησης K_f για το TBZ στα διάφορα υποστρώματα και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Πίνακα 4. Ακολούθως η τιμή του K_f για το TBZ στα διάφορα υποστρώματα κανονικοποιήθηκε ως προς την περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα και υπολογίστηκε το K_{foc} (Πίνακας 4). Θα πρέπει να τονιστεί ότι η προσαρμογή της εξίσωσης Freundlich στα δεδομένα προσρόφησης του TBZ δεν ήταν ιδιαίτερα ακριβής όπως φαίνεται και από τις τιμές του r^2 που κυμάνθηκαν από 0.805 ως 0.977. Γενικότερα, η χαμηλότερη προσρόφηση για το TBZ καταγράφηκε στο έδαφος που έχει ως υλικό την χαμηλότερη περιεκτικότητα σε οργανικό C. Αντίθετα η υψηλότερη προσρόφηση για το TBZ καταγράφηκε στα βιομίγματα με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε SMS όπως το SMS/Straw/Soil και το SMS/Soil που όμως παρουσίαζαν και υψηλή περιεκτικότητα σε οργανικό C. Παρόλα αυτά δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ οργανικού άνθρακα και συντελεστή προσρόφησης για το TBZ που καταδεικνύει ότι εκτός από την περιεκτικότητα των υλικών σε οργανικό C και η ποιότητα του οργανικού άνθρακα επηρεάζει την προσρόφηση του TBZ.

Υπόστρωμα	K_f (g/ml)	K_{foc} (g/ml)	N (l/n)
Soil	47.2	4965.7	1.141
SMS/Straw/Soil	226.8	774,1	0.800
Straw/SMS/Soil	120.3	511,9	1.091
SMS/Soil	217.2	1285,2	0.755
Straw/Soil	128.4	1936,7	0.926

Πίνακας 4. Οι τιμές των συντελεστών προσρόφησης K_f , K_{foc} και N για το TBZ στα διάφορα υλικά που αξιολογήθηκαν

Θα πρέπει να τονίσουμε ότι το % προσρόφησης του TBZ στα διάφορα βιομίγματα στις συνθήκες που επιλέχθηκαν κυμάνθηκαν από 45 ως 80% (Διάγραμμα 12) που βρίσκονται εντός των επιπέδων που θεωρούνται ως επιτρεπτά από την οδηγία του OECD (OECD 2000).



Διάγραμμα 12. Η % προσρόφιση του TBZ στα διάφορα υλικά που αξιολογήθηκαν

3. Συζήτηση

Η αποδόμηση και η προσρόφηση αποτελούν τις βασικές διεργασίες μέσω των οποίων η βιοκλίνες απομακρύνουν τα γεωργικά φάρμακα από τα υγρά απόβλητα που καταλήγουν σε αυτές. Προηγούμενες μελέτες έχουν καταδείξει τον σημαντικό ρόλο της σύστασης του βιομίγματος, του πληρωτικού υλικού των βιοκλινών στην αποτελεσματικότητα των συστημάτων αυτών (Castillo et al. 2008, Karanasios et al., 2010). Τα χαρακτηριστικά του πληρωτικού υλικού παίζουν σημαντικό ρόλο διότι καθορίζουν την μικροβιακή δραστηριότητα εντός της βιοκλίνης αλλά και την ικανότητα κατακράτησης ιδιαίτερα υπολειμματικών γεωργικών φαρμάκων τα οποία δεν αποδομούνται εύκολα. Εκτός της παραδοσιακής εφαρμογής των βιοκλινών για την αποτοξικοποίηση αποβλήτων που παράγονται σε επίπεδο αγρού, οι Omirou et al (2012) έδειξαν ότι με κατάλληλες τροποποιήσεις οι βιοκλίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν και για την αποτοξικοποίηση αποβλήτων που παράγονται από τα συσκευαστήρια φρούτων και περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις γεωργικών φαρμάκων. Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε η προσρόφηση των μυκητοκτόνων imazalil και thiabendazole, που χρησιμοποιούνται στα συσκευαστήρια φρούτων. Συγκεκριμένα, η προσρόφηση του IMZ και του TBZ μελετήθηκαν σε πέντε υποστρώματα που αποτελούσαν μίγμα εδάφους, αχύρου και εξαντλημένου υποστρώματος μανιταριών σε διάφορες αναλογίες. Συνολικά, το IMZ εμφάνισε ισχυρότερη προσρόφηση στα περισσότερα από τα υποστρώματα που αξιολογήθηκαν σε σχέση με το TBZ. Αυτή είναι και η πρώτη μελέτη της προσρόφησης των συγκεκριμένων δύο γεωργικών φαρμάκων σε οργανικά υλικά.

Οι τιμές του συντελεστή προσρόφησης K_f που καταγράφηκαν στην μελέτη μας για τα γεωργικά φάρμακα IMZ και TBZ στο έδαφος βρίσκονται σε γενική συμφωνία με μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί από άλλους ερευνητές. Έτσι οι (Kreuzig et al. (2010) έδειξαν για το IMZ τιμές $K_{foc} = 4059$ ml/g ενώ σε ανάλογες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο πλαίσιο έγκρισης χρήσης του μυκητοκτόνου σε επίπεδο ΕΕ καταγράφηκαν τιμές $K_{foc} = 4357$ ml/g (EFSA 2010). Στην δική μας μελέτη η τιμή K_{foc} για το IMZ στο έδαφος που χρησιμοποιήθηκε ήταν 7942 ml/g. Αντίθετα για το TBZ οι τιμές K_{foc} που καταγράφηκαν στο έδαφος στην μελέτη μας (4597 ml/g) είναι εντός των τιμών που έχουν

καταγραφεί σε προηγούμενες μελέτες και ανέφεραν τιμές K_{foc} από 1104 ως 22467 ml/g (EC 2001). Γενικότερα τα αποτελέσματα μας καταδεικνύουν μια σχετικά ισχυρή προσρόφηση των IMZ και TBZ στα υλικά που αξιολογήθηκαν η οποία γενικότερα ήταν αυξημένη στα οργανικά υλικά - βιομίγματα σε σχέση με το έδαφος. Ανάλογα αποτελέσματα για άλλα γεωργικά φάρμακα έχουν καταγραφεί και σε παρόμοιες μελέτες όπου μετρήθηκε η προσρόφηση των γεωργικών φαρμάκων σε βιομίγματα και έδαφος (Karanasios et al. 2010). Επιπρόσθετα παρατηρήθηκε αυξημένη προσρόφηση των δύο γεωργικών φαρμάκων στα βιομίγματα με υψηλότερη περιεκτικότητα σε οργανική ουσία όπως είναι τα Straw/SMS/Soil και SMS/Straw/Soil ιδιαίτερα για το IMZ.

Από πρακτικής άποψης οι μετρήσεις μας δείχνουν ότι τα IMZ και TBZ αναμένεται να προσροφηθούν στο υλικό των βιοκλινών σε σημαντικό βαθμό. Αυτό σε συνδυασμό με την υψηλή υπολειμματικότητα των συγκεκριμένων μυκητοκτόνων ίσως οδηγήσει σε συσσώρευση των δύο αυτών μυκητοκτόνων εντός των βιοκλινών, όπως παρατήρησαν και οι Omirou et al. (2012).

4. Βιβλιογραφία

- **Tineke De Wilde,^{1*}Pieter Spanoghe,¹ Christof Debaer,^{2†} Jaak Ryckeboer,³ Dirk Springael³ and Peter Jaeken²**, Overview of on-farm bioremediation systems to reduce the occurrence of point source contamination, *Pest Manag Sci* 63:111–128 (2007)
- **Evangelos Karanasios,[†] Nikolaos G. Tsiropoulos,^{*}† Dimitrios G. Karpouzas,^{*,‡} and Constantinos Ehalotis[§]**, Degradation and Adsorption of Pesticides in Compost-Based Biomixtures as Potential Substrates for Biobeds in Southern Europe, *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 9147–9156
- **María Del Pilar Castillo,^{*} Lennart Torstensson, and John Stenström**, Biobeds for Environmental Protection from Pesticide Uses A Review, *journal of agricultural and food chemistry*
- **Evangelos Karanasios a, Nikolaos G. Tsiropoulos a,^{*} Dimitrios G. Karpouzas b,^{**}, Urania Menkissoglu-Spiroudi**, Novel biomixtures based on local Mediterranean lignocellulosic materials: Evaluation for use in biobed systems, *journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemosphere*
- **Evangelos Karanasios, Nikolaos G. Tsiropoulos & Dimitrios G. Karpouzas**, On-farm biopurification systems for the depuration of pesticide wastewaters: recent biotechnological advances and future perspectives, *Biodegradation* ISSN 0923-9820 Volume 23 Number 6 *Biodegradation* (2012) 23:787-802 DOI 10.1007/s10532-012-9571-8
- **Konstantina Kravvariti^a, Nikolaos G Tsiropoulos^{a*} and Dimitrios G Karpouzas**, Degradation and adsorption of terbuthylazine and chlorpyrifos in biobed biomixtures from

composted cotton crop residues, Published online in Wiley Online Library: 9 July 2010

- **Sowmya Mitra,*† Prasanta C Bhowmik and Baoshan Xing**, Sorption of isoxaflutole by five different soils varying in physical and chemical properties, *Pestic Sci* 55:935±942 (1999)
- **R Don Wauchope,1_ Simon Yeh,2 Jan BHJ Linders,3** Regina Kloskowski,4 Keiji Tanaka,5 Baruch Rubin,6 Arata Katayama,7 Werner Kořrdel,8 Zev Gerstl,9 Michael Lane10 and John B Unsworth11, Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability†, *Pestic Sci* 55:935±942
- **B. Ζιώγας και Γ.Α. Μάρκογλου**, Φαρμακολογία, ΑΘΗΝΑ, 2007.
- **Ryall L, Lipton W., 1972. Handling**, Transportation, and Storage of Fruits and Vegetables. The AVI Publishing Co., Westport, Connecticut. Potter N. 1973. Food Science. The AVI Publishing Co., Westport, Connecticut.
- **<http://www.postharvest.ucdavis.edu/>**
- **Sapers G. and Simmons G.**, 1998. Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables, *Food Techn.*, 52, (2), 48-52.
- **www.wikipedia.com**
- **Alfred B. Wagner, Frank J. Dainello, and Jerry M. Parsons**, Chapter X: Harvesting and Handling
- **Adel A. Kader** Department of Pomology University of California, Davis, United States of America and **Rosa S. Rolle** Agricultural and Food Engineering Technologies Service FAO Agricultural Support Systems Division, The role of post-harvest management in assuring the quality and safety of horticultural produce, FAO AGRICULTURAL SERVICE BULLETIN 152
- **[Agro-help.com](http://www.agro-help.com)**
- **Mrs. Farzana Panhwar**, Post Harvest Technology of Fruits and Vegetables, May 2006
- **www.kalliergo.gr**
- **http://www.diffen.com/difference/Absorption_vs_Adsorption**
- **<http://extoxnet.orst.edu/pips/imazalil.htm>**
- **Arias-Estevez, M., Torrente, A.C., Lopez-Periago, E., Soto-Gonzalez, B., Simal-Gandara, J.**, 2005b. Adsorption-desorption dynamics of cyprodinil and fludioxonil in vineyard soils. *J. Agric. Food Chem.* 53 (14), 5675–5681.

- **Di H.J., Aylmore L.A.G. and Kookana R.S. (1998).** Degradation rates of eight pesticides in surface and subsurface soils under laboratory and field conditions. *Soil Science* 163: 404-411.
- **Walker A. and Roberts S.J. (1993).** Degradation, biodegradation and enhanced biodegradation. In: *Proceedings IX Symposium Pesticide Chemistry*, Piacenza, Italy, pp: 357-370.
- Toole G & Toole S (1995) *Understanding Biology*. 3rd edn. Stanley Thornes, Cheltenham, UK..
- FOCUS (2006). *Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Registration*, Report of the FOCUS Work Group on Degradation Kinetics, EC Document Reference Sanco/10058/2005 version, 2.0, 2006, 434 pp.
- **Delle Site, A. (2001).** Factors Affecting Sorption of Organic Compounds in Natural Sorbent/ Water Systems and Sorption Coefficients for Selected Pollutants. A Review. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 30(1), p.187
- <http://extoxnet.orst.edu>
- **Αλμπάνης Τριαντάφυλλος, 1987.** Μελέτη της υδρόλυσης, της προσρόφησης και της διάσπασης των φυτοφαρμάκων (methyparathion)lindaneandatrazine σε φυσικά υποστρώματα. Διδακτορική διατριβή. Ιωάννινα
- **Ιατρού Ε . (2009).** Μελέτη φωτοδιάσπασης φυτοφαρμάκων και εκτίμηση της συνδυασμένης τοξικότητας τους στη Lemnaminor. Τμήμα Περιβάλλοντος , Πανεπιστήμιο Αιγαίου , Μυτιλήνη
- **Λεμπέση Μ . & Τσιβακάς Σιδέρης (2008).** Έλεγχος φυτοφαρμάκων σε φυτικά προϊόντα με GC/MS και με την εφαρμογή διαφορετικών μεθόδων εκχύλισης , Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής , ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης