

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΣΥΓΧΡΟΝΗΣ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΤΥΧΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΕ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΒΙΟΚΛΙΝΩΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΣΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ
ΧΩΡΟ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥΣ ΣΤΟΝ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ, ΑΠΟ
ΣΗΜΕΙΑΚΕΣ ΠΗΓΕΣ, ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΜΕ ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ**

ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΚΑΡΑΝΑΣΙΟΣ

**Γεωπόνος, MSc
Υπότροφος ΙΚΥ**

Βόλος, 2011

ISBN :

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή

Ν. Τσιρόπουλος (Επιβλέπων)
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Καθηγητής
*Χημεία. Ανάλυση και προσδιορισμός
οργανικών ουσιών*

Ο. Μενκίσογλου-Σπυρούδη
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Καθηγήτρια
Γεωργικά Φάρμακα

Δ. Καρούζας
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Επίκουρος Καθηγητής
*Βιοτεχνολογία Αποικοδομητικών
Μικροοργανισμών*

Επταμελής εξεταστική επιτροπή

Ν. Τσιρόπουλος (Επιβλέπων)
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Καθηγητής
*Χημεία. Ανάλυση και προσδιορισμός
οργανικών ουσιών*

Ο. Μενκίσογλου-Σπυρούδη
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Καθηγήτρια
Γεωργικά Φάρμακα

Δ. Καρούζας
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Επίκουρος Καθηγητής
*Βιοτεχνολογία Αποικοδομητικών
Μικροοργανισμών*

Α. Δημήρκου
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Καθηγήτρια
Εδαφολογία - χημεία εδάφους

Ι. Κωνσταντίνου
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Αναπληρωτής Καθηγητής
*Τεχνολογία ελέγχου και προστασίας
περιβάλλοντος*

Κ. Οικαλιώτης
Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Επίκουρος Καθηγητής
Γονιμότητα και Βιολογία εδάφους,

Α. Μαρκόγλου
Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Επίκουρος καθηγητής
Γεωργική Φαρμακολογία

Στη γυναίκα μου, Λίτσα

- nunc scio quid sit amor -
Virgil, Eclogues VIII

Πρόλογος – ευχαριστίες

Η παρούσα διατριβή με θέμα την «τύχη και συμπεριφορά γεωργικών φαρμάκων σε συστήματα βιοκλινών προσαρμοσμένων στον ελλαδικό χώρο και αξιολόγηση τους στον περιορισμό της, από σημειακές πηγές, ρύπανσης με γεωργικά φάρμακα» εκπονήθηκε στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Θέλω να ευχαριστήσω το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (Ι.Κ.Υ.), που με την χορήγηση υποτροφίας στο πεδίο «Φυτική Παραγωγή» μου έδωσε την δυνατότητα να ολοκληρώσω την έρευνα και τη συγγραφή της παρούσας εργασίας.

Θερμές ευχαριστίες θέλω να εκφράσω στον Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Τσιρόπουλο Νικόλαο για την ανάθεση του θέματος και την επίβλεψη της διδακτορικής διατριβής, τη συνεχή καθοδήγηση, παρακολούθηση και υποστήριξη καθ' όλη την πορεία της εκπόνησης και συγγραφής της παρούσας διατριβής.

Επίσης, ένα μεγάλο ευχαριστώ στον Επίκουρο Καθηγητή κ. Καρπούζα Δημήτριο για την άψογη συνεργασία, τις υποδείξεις και τις συμβουλές του κατά την πορεία υλοποίησης της διατριβής.

Ευχαριστώ την Καθηγήτρια κ. Μενκίσογλου-Σπυρούδη Ουρανία (Α.Π.Θ.) και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Οιχαλιώτη Κωνσταντίνο (Γ.Π.Α.) για τις υποδείξεις τους που βοήθησαν στη διαμόρφωση και ολοκλήρωση της συγγραφής της εργασίας.

Θερμά ευχαριστώ τους Γεωπόνους Μπεκιάδη Βασίλη, Κυδωνάκη Χαράλαμπο-Γεώργιο για την άψογη συνεργασία μας στην εκτέλεση των πειραμάτων και τον Δρ. κ. Λύκα Δημήτριο για την ανιδιοτελή βοήθειά του. Τις ευχαριστίες μου εκφράζω και στους Δρ. Λάφη Σπυρίδωνα, την υποψήφια διδάκτορα Παπαδή-Ψύλλου Ασημίνα, τη Δρ. Αμβράζη Ελπινίκη και την μεταπτυχιακή φοιτήτρια Κραββαρίτη Κωνσταντίνα, που με ενθάρρυναν στην ολοκλήρωση της εργασίας.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής κ. Δημήτρου Ανθούλα, Καθηγήτρια, κ. Κωνσταντίνου Ιωάννη, Αναπληρωτή Καθηγητή και κ. Μαρκόγλου Αναστάσιο, Επίκουρο Καθηγητή για την προθυμεία που έδειξαν να συμμετάσχουν στην εξεταστική επιτροπή.

Ακρωνύμια και συντομογραφίες

| | |
|------------------|--|
| AF | Attenuation factor |
| Bi-Ex | Bi-exponential (διεκθετική) |
| CEC | Cation Exchange Capacity (ιοντοανταλλακτική ικανότητα) |
| DOC | Dissolved Organic Carbon (διαλυτός οργανικός άνθρακας) |
| DOM | Dissolved organic matter (διαλυτή οργανική ουσία) |
| DT ₅₀ | Disappearance Time 50 |
| ECD | Electron Capture Detector (ανιχνευτής συλλήψεως ηλεκτρονίων) |
| FDA | Fluorescein diacetate |
| FMN/FAD | Flavin mononucleotide / Flavin adenine dinucleotide |
| GC | Gas chromatography (αέρια χρωματογραφία) |
| GH | Gustafson-Holden |
| GUS | Groundwater Ubiquity Score |
| HA | Hamaker model |
| HF | Hoerl function |
| IUPAC | International Union of Pure and Applied Chemistry (Διεθνής Ένωση Καθαρής και Εφαρμοσμένης Χημείας) |
| K _f | Freundlich coefficient |
| K _{oc} | Sorption coefficient (συντελεστής προσρόφησης) |
| Lac | Laccase (λακάση) |
| LiP | Lignin peroxidase (λίγνινο-υπεροξειδάση) |
| LME | Lignin-modifying enzymes |
| LOD | Limit of detection (όριο ανίχνευσης) |
| LOQ | Limit of quantification (όριο ποσοτικού προσδιορισμού) |
| MnP | Manganese peroxidase (μαγγάνιο-υπεροξειδάση) |
| NPD | Nitrogen-phosphorous detector (ανιχνευτής αζώτου-φωσφόρου) |
| OC | Organic carbon (οργανικός άνθρακας) |
| PAH | Polycyclic aromatic hydrocarbon (πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες) |
| PCB | Polychlorinated biphenyl (πολυχλωριωμένα διφαινύλια) |
| R _f | Retardation factor (παράγοντας καθυστέρησης) |
| RSD | Relative standard deviation (σχετική τυπική απόκλιση) |
| SFO | Simple first order (κινητικό μοντέλο 1 ^{ης} τάξης) |
| SM | Suett model |
| SMS | Spent mushroom substrate (εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης μανιταριών) |
| SPE | Solid phase extraction (εκχύλιση στερεής φάσης) |
| t _{1/2} | Half life (χρόνος ημιζωής) |
| t _b | Breakpoint time (χρόνος διαφοροποίησης) |
| E _h | Redox potential (δυναμικό οξειδοαναγωγής) |
| E _a | Activation energy (ενέργεια ενεργοποίησης) |
| K _H | Henry's law constant (σταθερά Henry) |

Καρανάσιος Χ. Ευάγγελος, Ιούνιος 2011. Τύχη και συμπεριφορά γεωργικών φαρμάκων σε συστήματα βιοκλινών προσαρμοσμένων στον ελλαδικό χώρο και αξιολόγηση τους στον περιορισμό της, από σημειακές πηγές, ρύπανσης με γεωργικά φάρμακα. *Διδακτορική διατριβή.* Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος. 271 σελίδες, 19 σελίδες βιβλιογραφία, 21 σελίδες παράρτημα

Περίληψη

Οι βιοκλίνες είναι χαμηλού κόστους συστήματα απορρύπανσης νερού που έχουν την ικανότητα να αποτρέψουν τη ρύπανση των υπόγειων υδάτων από φυτοπροστατευτικές ουσίες (φ.ο.) μέσω της συγκράτησης και της συνακόλουθης αποδόμησης τους. Το κυριότερο συστατικό στα συστήματα βιοκλίνης είναι το ενεργό βιομίγμα που έχει αναγνωριστεί ως ο σημαντικότερος παράγοντας ελέγχου της συνολικής αποτελεσματικότητας του συστήματος. Το βιομίγμα των τυπικών συστημάτων βιοκλινών είναι μίγμα τύρφης, άχυρου και εδάφους σε ογκομετρική αναλογία 1:2:1. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση διαφόρων παραπροϊόντων της τοπικής αγροτικής παραγωγής ως υποκατάστατων της τύρφης ή/και του άχυρου στα βιομείγματα με στόχο τη διερεύνηση της δυνατότητας αξιοποίησης τους σε συστήματα βιοκλινών προσαρμοσμένων στις εδαφοκλιματικές συνθήκες και στις γεωργικές πρακτικές του μεσογειακού χώρου. Για το λόγο αυτό παραπροϊόντα της ελληνικής γεωργίας και αγροβιομηχανίας (υπολείμματα καλλιεργειών, ελαιουργίας, οινοποιίας, παραγωγής μανιταριών) χρησιμοποιήθηκαν (είτε αυτούσια, είτε μετά από κομποστοποίηση) για την παρασκευή ενεργών βιομιγμάτων. Η αξιολόγηση αυτών των βιομιγμάτων περιελάμβανε τη μελέτη της αποδόμησης, προσρόφησης και έκπλυσης επιλεγμένων φ.ο. (terbuthylazine, dimethoate, metalaxyl-M, metribuzin, buprofezin, chlorpyrifos, iprodione, indoxacarb και azoxystrobin) με εργαστηριακές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν υπό ελεγχόμενες συνθήκες.

Για την παρακολούθηση των υπολειμμάτων των φ.ο. στο έδαφος, στα βιομείγματα και στα υδατικά εκχυλίσματα αναπτύχθηκαν και αξιολογήθηκαν αναλυτικές μέθοδοι προσδιορισμού τους με αέρια χρωματογραφία με εκλεκτικούς ανιχνευτές (GC-NPD και GC-ECD), ενώ για τον προσδιορισμό των μεταβολιτών των terbuthylazine (hydroxy terbuthylazine, desethyl terbuthylazine), metribuzin (desamino metribuzin, diketo metribuzin, desaminodiketo metribuzin) και chlorpyrifos (3,5,6-trichloro-2-pyridinol - TCP) χρησιμοποιήθηκε υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). Παράλληλα με τις δοκιμές αποδόμησης πραγματοποιήθηκε και μέτρηση ορισμένων βιολογικών (συνολική βιομάζα C, μικροβιακή αναπνοή, μέτρηση εργοστερόλης, συνολική υδρολυτική δραστηριότητα) και ενζυμικών

(δραστηριότητα φαινολοξειδασών) παραμέτρων στο έδαφος και στα βιομίγματα σε διάφορα χρονικά διαστήματα μετά την εφαρμογή των φ.ο.

Η αρχική δοκιμή αφορούσε τη σχετική συνεισφορά μεμονωμένων υλικών (συστατικών του βιομίγματος) στην αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων. Προέκυψε ότι η ταυτόχρονη παρουσία και των τριών συστατικών (έδαφος, άχυρο, κομπόστα) ήταν αναγκαία συνθήκη για τη μεγιστοποίηση της αποδομητικής ικανότητας του βιομίγματος. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση διαφόρων κομποστών (κομπόστα από υπολείμματα καλλιέργειας μανιταριών, κομπόστα από ελαιόφυλλα, κομπόστα εμπορίου, κομπόστα από παραπροϊόντα απόχωσης βάμβακος και κομπόστα από βαμβακόπιτα) ως υποκατάστατων της τύρφης στα βιομίγματα. Όλες οι φ.ο. αποδομήθηκαν ταχύτερα στα βιομίγματα κομπόστας σε σχέση με τα βιομίγματα τύρφης, με εξαίρεση το terbuthylazine και το azoxystrobin για τα οποία το όξινο περιβάλλον της τύρφης συνέβαλε στην εμφάνιση παρόμοιων ή και υψηλότερων ρυθμών αποδόμησης. Το βιομίγμα που περιείχε κομπόστα από ελαιόφυλλα εμφάνισε μεγαλύτερη αποδομητική ικανότητα για τις περισσότερες φ.ο. της δοκιμής, συμπεριλαμβανομένων και ορισμένων μεταβολιτών αυτών, σε σχέση με το έδαφος ή άλλα βιομίγματα. Σε επόμενη δοκιμή διάφορα λιγνινοκυτταρινούχα υλικά (σπάδικες αραβόσιτου, βόστρυχοι αμπέλου, φλούδες πορτοκαλιού και υπολείμματα καλλιέργειας ηλίανθου) αξιολογήθηκαν ως υποκατάστατα του άχυρου. Η αντικατάσταση του άχυρου με βόστρυχους αμπέλου οδήγησε σε βελτιωμένους ρυθμούς αποδόμησης των φ.ο., ενώ η αντικατάσταση του με σπάδικες αραβόσιτου ή με υπολείμματα καλλιέργειας ηλίανθου οδήγησε σε παρόμοια συμπεριφορά αποδόμησης με το τυπικό βιομίγμα με βάση το άχυρο. Η χρήση των ελαιόφυλλων ή των φλούδων πορτοκαλιού οδήγησε σε αναστολή της αποδομητικής δραστηριότητας του βιομίγματος, που αποδόθηκε στην αυξημένη παρουσία φαινολικών ουσιών στα υλικά αυτά. Επιπλέον δοκιμές για την αξιοποίηση του εξαντλημένου υποστρώματος ανάπτυξης μανιταριών (SMS) μετά από ανάμιξη του με έδαφος ή έδαφος και άχυρο φανέρωσαν την ικανότητα του υλικού αυτού να δημιουργεί ιδανικό περιβάλλον για επιτάχυνση των βιοαποδομητικών διεργασιών. Οι ρυθμοί αποδόμησης, μάλιστα, συσχετίστηκαν αρνητικά με την ογκομετρική αναλογία του SMS στο βιομίγμα.

Από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν για την εξέταση της επίδρασης της συγκέντρωσης των φ.ο., της θερμοκρασίας επώασης και της επαναλαμβανόμενης εφαρμογής φ.ο. στην αποτελεσματικότητα της αποδόμησης προέκυψε ότι και οι τρεις αυτοί παράμετροι επηρέασαν το ρυθμό αποδόμησης όλων των φ.ο. της δοκιμής, όμως η αποδόμηση τους στο έδαφος επηρεάστηκε σε μεγαλύτερο βαθμό από μεταβολές της τιμής των παραμέτρων αυτών από ότι στα βιομίγματα τύρφης ή κομπόστας.

Από τα πειράματα προσρόφησης προέκυψε ότι η προσρόφηση των φ.ο. (terbuthylazine, metribuzin, metalaxyl-M) περιγράφεται καλύτερα με ισόθερμη Freundlich. Τα βιομίγματα με βάση την κομπόστα που εμφάνισαν υψηλή αποδομητική ικανότητα, παρουσίασαν ταυτόχρονα και αυξημένη προσροφητική ικανότητα. Παρ' όλα αυτά, τα βιομίγματα τύρφης αποδείχθηκαν πιο αποτελεσματικά στη συγκράτηση των φ.ο., κάτι που κυρίως μπορεί να αποδοθεί στην υψηλότερη περιεκτικότητα τους σε οργανικό άνθρακα. Σε κάθε περίπτωση βέβαια η προσροφητική ικανότητα των βιομιγμάτων βρέθηκε υψηλότερη αυτής του εδάφους. Η κανονικοποίηση της τιμής του συντελεστή προσρόφησης K_f ως προς την περιεκτικότητα του κάθε υποστρώματος σε οργανικό άνθρακα μείωσε σημαντικά την παραλλακτικότητα του συντελεστή μεταξύ των μεταχειρίσεων για το terbuthylazine, αλλά όχι και για το metribuzin και το metalaxyl-M. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στην υψηλότερη συνάφεια των σχετικά λιπόφιλων ουσιών, όπως το terbuthylazine, με την οργανική ουσία. Και για τις τρεις φ.ο. καταγράφηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των συντελεστών προσρόφησης και εκρόφησης, καθώς και μικρή δυνατότητα αντιστρεψιμότητας της διεργασίας της προσρόφησης.

Οι δοκιμές έκπλυσης πραγματοποιήθηκαν σε στήλες (1m μήκος, 12,5 cm διάμετρος), οι οποίες πληρώθηκαν με διαδοχικά στρώματα χαλικιού, βιομίγματος ή εδάφους (80 cm) και άμμου και στις οποίες εφαρμόστηκε υδατικό διάλυμα που περιείχε πέντε φ.ο. (terbuthylazine, metribuzin, metalaxyl-M, iprodione and chlorpyrifos) στη μέση συνιστώμενη δόση εφαρμογής τους στον αγρό. Τα υπολείμματα των ουσιών στο έκπλυμα υπολογίστηκαν σε εβδομαδιαία βάση μετά από άπαξ προσθήκη 600 mL νερού ανά εβδομάδα. Τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις των φ.ο. στο έκπλυμα εμφάνισε το βιομίγμα τύρφης ακολουθούμενο από το βιομίγμα με βάση την κομπόστα από στέμφυλα. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις φ.ο. στο έκπλυμα εμφανίστηκαν στη στήλη με το έδαφος-μάρτυρα. Στο τέλος των 120 ημερών της επώασης των στηλών τα βιομίγματα αναλύθηκαν για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων φ.ο., ώστε να είναι δυνατή ο υπολογισμός του ισοζυγίου μάζας των φ.ο. Η συγκέντρωση των υπολειμμάτων των φ.ο. που παρέμειναν στις στήλες μετά το τέλος της δοκιμής ήταν υψηλότερη στο βιομίγμα τύρφης σε σχέση με αυτή στα βιομίγματα που περιέχουν κομπόστα, γεγονός που αποδόθηκε στην υψηλότερη αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων κομπόστας και στην ισχυρότερη προσρόφηση των φ.ο. στην οργανική ουσία των βιομιγμάτων τύρφης. Η υψηλή αλκαλικότητα του εδάφους ευνόησε την αποδόμηση του chlorpyrifos και του iprodione, ενώ το terbuthylazine εμφάνισε έντονη τάση συσσώρευσης στο έδαφος, γεγονός που εξηγεί την ανίχνευση του σε υψηλές συγκεντρώσεις στο έκπλυμα καθόλη τη διάρκεια του χρόνου επώασης.

Η ανάπτυξη αποτελεσματικών μεθόδων βιοαπορρύπανσης για το χειρισμό των απόβρωτων, που προέρχονται από την εφαρμογή φυτοπροστατευτικών προϊόντων στον αγρό, μπορεί και θα πρέπει να συνδεθεί με την αξιοποίηση υλικών μικρής οικονομικής αξίας, όπως τα παραπροϊόντα της τοπικής αγροτικής παραγωγής, με τελικό στόχο τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας και τη μείωση του κόστους τέτοιων συστημάτων.

Karanasios C. Evangelos, June 2011. Behaviour and fate of pesticides in biobed systems adapted to specific requirements of Greek agriculture and their evaluation for mitigation of point source pollution by pesticides. *PhD Thesis*. University of Thessaly, Volos. Main script: 271 p., Bibliography: 19 p., Annex: 21 p.

Abstract

Biobeds are cost effective biopurification systems that are simple to operate. They have the ability to impede groundwater contamination by retaining and subsequently degrading pesticides. The main component of a biobed, the activated biomixture, has been identified as the major factor controlling its efficacy. In its typical form a biomixture consists of straw, peat and topsoil in a 2:1:1 ratio. The aim of the study was to evaluate various agricultural products found locally as substitutes of peat and straw in the biomixture. For this reason 3 different laboratory studies (degradation, sorption and leaching studies) were conducted in our laboratory. The organic substrates included in the study were various lignocellulosic materials and composts or peat. Soils with different physicochemical characteristics were also included in the study. Analytical methods for pesticide residues determination in biomixtures and soil were developed and evaluated. The chromatographic analysis of the 9 pesticides included in the study (terbuthylazine, dimethoate, metalaxyl-M, metribuzin, buprofezin, chlorpyrifos, iprodione, indoxacarb, azoxystrobin) was performed by gas chromatography with NPD and ECD detectors, while the analysis of the metabolites of terbuthylazine, metribuzin and chlorpyrifos were performed by HPLC with UV detector. In degradation experiments pesticides were extracted with acetone while their metabolites were extracted using a water:methanol mixture. In sorption/desorption studies pesticides were extracted by passed through C18 cartridges while pesticide residues in the leachate were extracted utilizing liquid-liquid extraction. The evaluation of the analytical methods included the calculation of accuracy, precision, linearity, the determination of LOD and LOQ and matrix effect.

The first study examined the relative contribution of individual components in the degradation efficiency of compost biomixtures. It was found that the presence of all three components was a prerequisite for maximized degradation efficiency. Another degradation study was performed to evaluate the relative efficiency of various composts as peat alternatives in biomixtures. All pesticides were degraded faster in composts' biomixture environment, with the exception of terbuthylazine and azoxystrobin for which the low pH value of the peat

biomixture led to equal or higher degradation rates. Biomixture containing olive leave compost appeared to be the most efficient in the degradation of most pesticides tested. In further study four lignocellulosic materials (corn cobs, grape stalks, orange peels and sunflower residues) were evaluated as substitutes of straw. Substituting straw with grape stalks led to enhanced degradation rates while biomixtures containing corn cobs or sunflower residues showed an overall similar degradation behaviour as the typical straw biomixture. The incorporation of orange peels or olive leaves in the biomixture should be avoided as it can lead to severe inhibition of microbial activity due to the inhibitory effect of phenolic substances. Spent mushroom substrate (SMS) provided an ideal environment for enhanced biodegradation of certain pesticides, with estimated $t_{1/2}$ values negatively correlated to the volumetric ratio of SMS in the biomixture. The degradation of pesticides was adversely affected by the concentration level. The concentration effect on pesticide persistence varied among treatments, usually in the order of prominence soil > compost biomixture = peat biomixture. Incubation temperature and repeated applications also affected degradation in a similar manner.

The adsorption of pesticides was best described by the Freundlich equation. BX biomixtures (biomixtures with compost as organic substrate) with high degradation efficiency generally showed increased sorption capacity. However OBX biomixture (biomixtures with peat as organic substrate) were more efficient in retaining pesticides than BX biomixtures, which can be partly explained by the higher OC content. In addition BX biomixtures showed much higher K_f coefficients than soil. Normalization of adsorption coefficients to organic carbon content (K_{oc}) significantly reduced variability between treatments for terbuthylazine but not for metribuzin and metalaxyl-M. This was explained by the higher affinity of relatively hydrophobic compounds like terbuthylazine to organic matter. A correlation between adsorption and desorption coefficients was found, indicating a low reversibility of the sorption process in substrates with extended sorption capacity.

Leaching studies were performed in plastic cores (1 m length x 12.5 cm diameter). The cores were packed with successive layers of gravel (bottom 10 cm), biomixture or soil (80 cm) and sand (5 cm). The cores were treated with a mixture of 5 pesticides (terbuthylazine, metribuzin, metalaxyl-M, iprodione and chlorpyrifos) applied at the mean recommended dose and pesticide residues on the leachate were monitored on a weekly basis following a 600 mL water addition/week. Peat containing biomixture showed the lowest pesticide residues in the leachate, followed by compost biomixture. The higher leaching was evident in the soil columns. At the end of the 120 days' incubation period the biomixture was analysed for mass balance studies. The residual amounts of all pesticides were higher in peat than in compost

biomixture which is attributed to the higher degradation efficiency in compost biomixture environment and the extended sorption of pesticides in the organic components of peat biomixtures. The high alkalinity of soil favoured iprodione and chlorpyrifos degradation while terbuthylazine showed a tendency to accumulate.

Περιεχόμενα

| | |
|---|------|
| Ακρωνύμια και συντομογραφίες | viii |
| Περίληψη..... | ix |
| Abstract | xiii |
| Θεωρητικό μέρος..... | 1 |
| Κεφάλαιο 1 | 1 |
| Είσοδος των φυτοπροστατευτικών ουσιών στο υδάτινο περιβάλλον..... | 1 |
| 1.1. Εισαγωγή..... | 1 |
| 1.2. Μη σημειακές πηγές ρύπανσης..... | 2 |
| 1.2.1. Επιφανειακή απορροή και διάβρωση..... | 2 |
| 1.2.2. Πητικοποίηση..... | 3 |
| 1.2.3. Διασπορά μικροσταγονιδίων δια του αέρος..... | 4 |
| 1.2.4. Απώλειες μέσω αποστραγγιστικών συστημάτων..... | 4 |
| 1.3. Έκπλυση και κινητικότητα φ.ο. στο έδαφος..... | 5 |
| 1.3.1. Έκπλυση και παράγοντες επηρεασμού..... | 5 |
| 1.3.2. Ευαισθησία και κίνδυνος έκπλυσης..... | 7 |
| 1.3.3. Παράγοντες που επηρεάζουν τον κίνδυνο έκπλυσης..... | 7 |
| 1.3.4. Δείκτες έκπλυσης και συστήματα κατάταξης..... | 8 |
| 1.3.5. Μοντέλα έκπλυσης..... | 9 |
| 1.4. Σημειακές πηγές ρύπανσης..... | 10 |
| 1.5. Ανίχνευση φ.ο. σε επιφανειακά και υπόγεια νερά στη Ελλάδα..... | 12 |
| Κεφάλαιο 2 | 15 |
| Μέτρα περιορισμού της από σημειακές πηγές ρύπανσης του νερού..... | 15 |
| 2.1. Διαδικασίες περιορισμού της ρύπανσης..... | 15 |
| 2.2. Μέτρα για τον περιορισμό της από σημειακές πηγές ρύπανσης..... | 15 |
| 2.3. Αποκατάσταση..... | 17 |
| 2.3.1. Βιοαποκατάσταση..... | 17 |
| 2.3.2. Φυτοαποκατάσταση..... | 18 |
| 2.4. Συστήματα και τεχνικές απορρύπανσης νερού..... | 18 |
| 2.4.1. Συστήματα απορρύπανσης νερού μέσω φυσικών διεργασιών..... | 19 |
| 2.4.1.1. Αποτέφρωση..... | 19 |
| 2.4.1.2. Κλίνες εξατμισοδιαπνοής..... | 19 |
| 2.4.1.3. Συστήματα εξάτμισης νερού..... | 19 |
| 2.4.1.4. Συστήματα διήθησης..... | 20 |
| 2.4.2. Συστήματα απορρύπανσης νερού μέσω χημικών διεργασιών..... | 21 |
| 2.4.2.1. Συστήματα αποδόμησης ουσιών μέσω οξειδωσης..... | 21 |
| 2.4.2.2. Συστήματα αποδόμησης ουσιών μέσω υδρολυτικών διεργασιών..... | 22 |
| 2.4.2.3. Απομάκρυνση ρύπων μέσω καταβύθισης..... | 23 |
| 2.4.3. Συστήματα απορρύπανσης νερού μέσω βιολογικών διεργασιών..... | 23 |
| 2.4.3.1. Σύστημα Reedbed..... | 23 |
| 2.4.3.2. Τεχνητοί υδροβιότοποι..... | 23 |
| 2.4.3.3. Βιοαντιδραστήρες..... | 24 |
| 2.4.3.4. Συστήματα βιοαπορρύπανσης..... | 24 |
| Κεφάλαιο 3 | 27 |
| Βιοκλίνες..... | 27 |
| 3.1. Γενικά..... | 27 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2. Τύποι βιοκλινών | 28 |
| 3.3. Συστατικά των βιοκλινών | 29 |
| 3.3.1. Στρώμα γρασιδιού | 30 |
| 3.3.2. Βιομίγμα | 30 |
| 3.3.3. Στρώμα αργιλώδους εδάφους | 32 |
| 3.4. Παραλλαγές σχεδιασμού των βιοκλινών | 33 |
| 3.4.1. Βιοφίλτρα | 33 |
| 3.4.2. Biomassbed | 34 |
| 3.4.3. Συστήματα Phytobac και biobac | 34 |
| 3.5. Παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα του συστήματος | 35 |
| 3.5.1. Ταυτόχρονη παρουσία δύο ή περισσότερων φ.ο. | 35 |
| 3.5.2. Περιεχόμενη υγρασία και όγκος εισερχόμενου νερού | 35 |
| 3.5.3. Συγκέντρωση στην οποία εφαρμόζονται οι φυτοπροστατευτικές ουσίες | 36 |
| 3.5.4. Επαναλαμβανόμενη εφαρμογή της ίδιας φ.ο. | 37 |
| 3.6. Μέγεθος βιοκλίνης | 37 |
| 3.7. Ηλικία υποστρώματος και αποτελεσματικότητα συστήματος | 37 |
| 3.8. Εγκατάσταση βιοκλινών | 38 |
| Κεφάλαιο 4..... | 39 |
| Αποδόμηση φυτοπροστατευτικών ουσιών | 39 |
| 4.1. Αβιοτική αποδόμηση | 39 |
| 4.1.1. Αβιοτική υδρόλυση | 39 |
| 4.1.2. Αβιοτικές οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις | 40 |
| 4.1.3. Φωτοαποδόμηση | 41 |
| 4.2. Βιοαποδόμηση | 42 |
| 4.2.1. Χαρακτηριστικά του μικροβιακού μεταβολισμού | 42 |
| 4.2.2. Διεργασίες που περιλαμβάνονται στη μικροβιακή αποδόμηση | 42 |
| 4.2.3. Φάση υστέρησης | 44 |
| 4.2.4. Μηχανισμοί βιοαποδόμησης | 45 |
| 4.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την αποδόμηση στο έδαφος | 46 |
| 4.3.1. Παρουσία οξυγόνου | 46 |
| 4.3.2. Υγρασία εδάφους | 47 |
| 4.3.3. Θερμοκρασία | 47 |
| 4.3.4. Τιμή pH | 49 |
| 4.3.5. Διαθεσιμότητα ανόργανων συστατικών | 49 |
| 4.3.6. Τοξικές συνθήκες και ανταγωνισμός με άλλους μικροοργανισμούς | 49 |
| 4.3.7. Αρχική συγκέντρωση φ.ο. | 49 |
| 4.3.8. Επαναλαμβανόμενη εφαρμογή της ουσίας | 50 |
| 4.3.9. Ιδιότητες και βιοδιαθεσιμότητα της φ.ο. | 50 |
| 4.4. Επίδραση της ενσωμάτωσης στο έδαφος λιγνινοκυτταρινούχων υποστρωμάτων και χουμοποιημένης ύλης στην ικανότητα αποδόμησης φ.ο. | 50 |
| 4.5. Κινητικά μοντέλα και χρόνος $t_{1/2}$ | 52 |
| 4.5.1. Κινητική 1 ^{ης} τάξης | 53 |
| 4.5.2. Μοντέλα αποδόμησης δύο φάσεων | 54 |
| 4.5.3. Κινητικά μοντέλα περιγραφής της πορείας των μεταβολιτών | 58 |
| Κεφάλαιο 5..... | 61 |
| Αποδόμηση φυτοπροστατευτικών ουσιών με τη βοήθεια μυκήτων λευκής σήψης | 61 |
| 5.1. Λιγνινόλυση και λιγνινολυτικά ένζυμα | 61 |
| 5.1.1. Λιγνίνη | 61 |
| 5.1.2. Λιγνινόλυση | 62 |

| | |
|--|------------|
| 5.1.3. Μύκητες λευκής σήψης | 62 |
| 5.1.4. Λιγνινολυτικά ένζυμα | 62 |
| 5.2. Αποδόμηση φ.ο. με τη βοήθεια λιγνινολυτικών ενζύμων | 64 |
| 5.3. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της χρήσης μυκήτων λευκής σήψης σε συστήματα απομάκρυνσης οργανικών ρύπων | 65 |
| 5.4. Ικανότητα αποικισμού του εδάφους και οργανικών υποστρωμάτων | 65 |
| 5.5. <i>Pleurotus ostreatus</i> | 66 |
| 5.6. Εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης μανιταριών | 67 |
| Κεφάλαιο 6 | 69 |
| Προσρόφηση φυτοπροστατευτικών ουσιών | 69 |
| 6.1. Εισαγωγή | 69 |
| 6.2. Αλληλεπιδράσεις προσροφητικού μέσου - φ.ο. | 70 |
| 6.3. Παράγοντες που επηρεάζουν τη προσρόφηση | 71 |
| 6.3.1. Οργανική ουσία | 71 |
| 6.3.2. Ανόργανα κολλοειδή | 72 |
| 6.3.3. Επίδραση του pH | 73 |
| 6.3.4. Άλλοι παράγοντες | 73 |
| 6.4. Παλαίωση και σχηματισμός δεσμευμένων υπολειμμάτων | 74 |
| 6.5. Κατάσταση ισορροπίας | 74 |
| 6.6. Ισόθερμες | 74 |
| 6.7. Εκρόφηση και υστέρηση | 77 |
| 6.8. Σχέση μεταξύ μικροβιακής αποδόμησης και προσρόφησης | 78 |
| 6.9. Προσρόφηση σε μίγμα εδάφους και οργανικών υλικών | 79 |
| Σκοπός της έρευνας | 81 |
| Κεφάλαιο 7 | 83 |
| Σκοπός της έρευνας-πειραματικά σχέδια | 83 |
| Υλικά και μέθοδοι | 87 |
| Κεφάλαιο 8 | 89 |
| Υλικά-σκεύη-αντιδραστήρια | 89 |
| 8.1. Υποστρώματα | 89 |
| 8.1.1. Έδαφος | 89 |
| 8.1.2. Κομπόστες | 90 |
| 8.1.3. Τύρφη | 94 |
| 8.1.4. Λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα | 94 |
| 8.2. Πρότυπες ουσίες και εμπορικά σκευάσματα φ.ο. | 97 |
| 8.3. Παρασκευή διαλυμάτων | 97 |
| 8.4. Διαλύτες | 99 |
| 8.5. Αντιδραστήρια | 99 |
| 8.6. Υλικά | 100 |
| 8.7. Υάλινα σκεύη-Συσκευές | 101 |
| 8.8. Όργανα χρωματογραφίας και φασματοφωτομετρίας | 101 |
| Κεφάλαιο 9 | 103 |

| | |
|--|-----|
| Σχεδιασμός δοκιμών αποδόμησης, προσρόφησης και έκπλυσης και μέθοδοι ανάλυσης υπολειμμάτων | 103 |
| 9.1. Παρασκευή βιομιγμάτων | 103 |
| 9.2. Δοκιμές αποδόμησης | 105 |
| 9.2.1. Επιλογή δραστικών ουσιών για πειράματα αποδόμησης και ορισμός δόσεων | 105 |
| 9.2.2. Φόρτιση υποστρωμάτων και συνθήκες επώασης | 106 |
| 9.2.3. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού των φ.ο. στα διάφορα βιομίγματα | 107 |
| 9.2.4. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του chlorpyrifos και του μεταβολίτη 3,5,6-trichloro-2-pyridinol | 109 |
| 9.2.5. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του terbutylazine και των μεταβολιτών του hydroxy terbutylazine και desethyl terbutylazine | 111 |
| 9.2.6. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του metribuzin και των μεταβολιτών desamino metribuzin, diketo metribuzin και desaminodiketo metribuzin | 112 |
| 9.3. Δοκιμές προσρόφησης | 113 |
| 9.3.1. Επιλογή δραστικών ουσιών για πειράματα προσρόφησης | 113 |
| 9.3.2. Επιλογή μεθόδου προσδιορισμού της προσρόφησης-εκρόφησης | 114 |
| 9.3.3. Προκαταρκτικές δοκιμές | 114 |
| 9.3.4. Δοκιμή ισορροπίας | 115 |
| 9.3.5. Εκχύλιση | 115 |
| 9.4. Δοκιμές έκπλυσης | 116 |
| 9.4.1. Επιλογή δραστικών ουσιών και ορισμός εφαρμοσθείσας δόσης στα πειράματα έκπλυσης | 116 |
| 9.4.2. Οργάνωση πειράματος | 117 |
| 9.4.3. Ανάλυση δειγμάτων των δοκιμών έκπλυσης | 119 |
| 9.4.3.1. Προσδιορισμός υπολειμμάτων στο έκπλυμα των στηλών | 119 |
| 9.4.3.2. Υπολογισμός επιπέδου υπολειμμάτων στο υπόστρωμα στο τέλος του χρόνου παρακολούθησης | 120 |
| Κεφάλαιο 10 | 123 |
| Αξιοπιστία των μεθόδων ανάλυσης και στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων | 123 |
| 10.1. Έλεγχος αξιοπιστίας της αναλυτικής μεθοδολογίας | 123 |
| 10.1.1. Γραμμικότητα καμπύλης αναφοράς | 123 |
| 10.1.2. Εκτίμηση της ορθότητας | 123 |
| 10.1.3. Επαναληψιμότητα | 124 |
| 10.1.4. Όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού | 124 |
| 10.1.5. Έλεγχος επίδρασης υποστρώματος | 125 |
| 10.2. Αποτίμηση της καταλληλότητας των κινητικών μοντέλων | 125 |
| 10.2.1. Δοκιμή χ^2 | 125 |
| 10.2.2. Συντελεστής παλινδρόμησης | 126 |
| 10.2.3. Επιλογή κινητικού μοντέλου | 126 |
| 10.3. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων | 127 |
| Κεφάλαιο 11 | 129 |
| Μέτρηση φυσικοχημικών και βιολογικών παραμέτρων | 129 |
| 11.1. Μετρήσεις φυσικοχημικών παραμέτρων | 129 |
| 11.1.1. Μέτρηση οργανικού άνθρακα και διαλυτού οργανικού άνθρακα | 129 |
| 11.1.2. Μέτρηση αζώτου | 130 |
| 11.1.3. Μέτρηση υγρασίας και υδατοχωρητικότητας | 131 |
| 11.1.4. Προσδιορισμός pH | 132 |
| 11.1.5. Προσδιορισμός λιγνίνης | 132 |
| 11.1.6. Προσδιορισμός ολικών φαινολικών | 133 |
| 11.2. Μετρήσεις μικροβιακής βιομάζας και μικροβιακής δραστηριότητας ... | 134 |
| 11.2.1. Συνολική βιομάζα άνθρακα | 134 |
| 11.2.2. Μέτρηση της μικροβιακής αναπνοής | 135 |
| 11.2.3. Μέτρηση εργοστερόλης | 136 |

| | |
|--|------------|
| 11.3. Μετρήσεις ενζυμικής δραστηριότητας φαινολοξειδασών | 138 |
| 11.3.1. Εκχύλιση των ενζύμων από τα βιομίγματα..... | 138 |
| 11.3.2. Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας λακάσης..... | 139 |
| 11.3.3. Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας μαγγάνιο-υπεροξειδάσης..... | 139 |
| 11.3.4. Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας υπεροξειδάσης της λιγνίνης..... | 140 |
| <i>Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια</i> | 140 |
| Πειραματικό μέρος | 141 |
| Κεφάλαιο 12 | 143 |
| Επικύρωση αναλυτικής μεθοδολογίας | 143 |
| 12.1. Δοκιμές αποδόμησης | 143 |
| 12.1.1. Προκαταρκτικές δοκιμές..... | 143 |
| 12.1.2. Επικύρωση τελικής μεθόδου..... | 144 |
| 12.1.3. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του chlorpyrifos και του μεταβολίτη 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP)..... | 149 |
| 12.1.4. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του terbutylazine και των μεταβολιτών..... | 151 |
| 12.2. Δοκιμές προσρόφησης | 153 |
| 12.3. Δοκιμές έκπλυσης | 154 |
| 12.3.1. Προκαταρκτικές δοκιμές..... | 154 |
| 12.3.2. Επικύρωση τελικής μεθόδου..... | 155 |
| Κεφάλαιο 13 | 157 |
| Περιγραφή της κινητικής αποδόμησης στα δείγματα εργασίας | 157 |
| 13.1. Εισαγωγή..... | 157 |
| 13.2. Επιλογή κινητικού μοντέλου..... | 157 |
| 13.3. Κινητική αποδόμησης πρώτης τάξης..... | 159 |
| 13.4. Πορεία αποδόμησης με αλλαγή του ρυθμού μείωσης των υπολειμμάτων..... | 160 |
| 13.5. Χρήση της παραμέτρου $t_{3/4}$ και $t_{9/10}$ | 162 |
| 13.6. Πορεία αποδόμησης με αρχική φάση υστέρησης..... | 162 |
| 13.7. Περιπτώσεις μηδενικού ρυθμού αποδόμησης..... | 164 |
| 13.8. Κινητική και μεταβολίτες..... | 165 |
| 13.9. Αφαίρεση ακραίων τιμών..... | 165 |
| 13.10. Τιμές κοντά από τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού..... | 166 |
| Κεφάλαιο 14 | 169 |
| Συμβολή των οργανικών υλικών που περιέχονται στο βιομίγμα στη συνολική συμπεριφορά αποδόμησης | 169 |
| 14.1. Εισαγωγή..... | 169 |
| 14.2. Αποτελέσματα δοκιμών μέτρησης της έντασης της αναπνοής..... | 170 |
| 14.3. Η επίδραση της εξωγενούς προέλευσης οργανικής ύλης στην αποδόμηση φ.ο. | 170 |
| 14.3.1. Terbutylazine..... | 170 |
| 14.3.2. Dimethoate..... | 171 |
| 14.3.3. Metalaxyl-M..... | 172 |
| 14.3.4. Metribuzin..... | 173 |
| 14.3.5. Buprofezin..... | 174 |
| 14.3.6. Iprodione..... | 175 |
| 14.3.7. Indoxacarb..... | 176 |
| 14.3.8. Azoxystrobin..... | 177 |

| | |
|---|------------|
| Κεφάλαιο 15..... | 179 |
| Αποδόμηση φυτοπροστατευτικών ουσιών σε βιομίγματα με βάση τη κομπόστα | 179 |
| 15.1. Εισαγωγή | 179 |
| 15.2. Φυτικοχημικά χαρακτηριστικά των συστατικών του βιομίγματος | 180 |
| 15.3. Μικροβιακή δραστηριότητα και βιομάζα στο έδαφος και στα βιομίγματα | 181 |
| 15.4. Σύγκριση μεταξύ βιομιγμάτων με βάση την τύρφη και την κομπόστα | 183 |
| 15.4.1. Αποδόμηση στα βιομίγματα τύρφης | 183 |
| 15.4.2. Αποδόμηση στα βιομίγματα κομπόστας..... | 184 |
| 15.4.3. Σχέση αποδόμησης- βιοδοκιμών | 184 |
| 15.4.4. Σύγκριση υποστρωμάτων κομπόστας και τύρφης..... | 185 |
| 15.5. Επίδραση της συγκέντρωσης στην αποδόμηση φ.ο. στο έδαφος και σε βιομίγματα με βάση την κομπόστα ή την τύρφη..... | 185 |
| Κεφάλαιο 16..... | 193 |
| Δοκιμές προσρόφησης-εκρόφησης σε υποστρώματα με βάση την κομπόστα και τη τύρφη... .. | 193 |
| 16.1. Εισαγωγή | 193 |
| 16.2. Χρόνος ισορροπίας..... | 193 |
| 16.3. Ισόθερμες προσρόφησης..... | 194 |
| 16.3. Προσρόφηση-εκρόφηση τεσσάρων φ.ο. σε έδαφος, βιομίγμα τύρφης και σε οργανικά υποστρώματα με βάση διαφορετικής προέλευσης κομπόστα | 195 |
| 16.3.1. Terbutylazine | 195 |
| 16.3.2. Indoxacarb | 196 |
| 16.3.3. Metalaxyl-M..... | 199 |
| 16.3.4. Metribuzin | 201 |
| 16.3.5. Σύγκριση μεταξύ υποστρωμάτων | 203 |
| 16.4. Αλλαγή της συμπεριφοράς προσρόφηση παρουσία περισσότερων του ενός φ.π..... | 204 |
| 16.5. Επίδραση της τυποποίησης των φ.π. στη συμπεριφορά προσρόφησης | 205 |
| Κεφάλαιο 17..... | 209 |
| Αποδόμηση και προσρόφηση φυτοπροστατευτικών ουσιών σε βιομίγματα με βάση λιγνινοκυτταρινούχα υλικά..... | 209 |
| 17.1. Εισαγωγή | 209 |
| 17.2. Αποδόμηση φ.ο. στα βιομίγματα | 210 |
| 17.3. Σύγκριση μεταξύ βιομιγμάτων με βάση διαφορετικά λιγνινοκυτταρινούχα υλικά..... | 210 |
| 17.4. Μέτρηση μικροβιακής και ενζυμικής δραστηριότητας στα βιομίγματα | 213 |
| 17.5. Προσρόφηση των ουσιών στα βιομίγματα | 215 |
| 17.5.1. Ισόθερμες προσρόφησης | 215 |
| 17.5.2. Terbutylazine | 215 |
| 17.5.3. Metribuzin | 216 |
| 17.5.4. Metalaxyl-M..... | 218 |
| 17.6. Σύγκριση βιομιγμάτων ως προς τα χαρακτηριστικά της συμπεριφοράς προσρόφησης/εκρόφησης..... | 218 |
| Κεφάλαιο 18..... | 221 |

| | |
|---|------------|
| Η βελτίωση της αποδομητικής ικανότητας των βιομιγμάτων με τη προσθήκη εξαντλημένου υποστρώματος ανάπτυξης του μύκητα <i>Pleurotus ostreatus</i> | 221 |
| 18.1. Εισαγωγή..... | 221 |
| 18.2. Ικανότητα του SMS να επάγει την αποδόμηση μίγματος φ.ο. μετά από ανάμιξη με το έδαφος σε διάφορες αναλογίες | 222 |
| 18.3. Ενζυμική δραστηριότητα υποστρωμάτων παρουσία SMS | 227 |
| Κεφάλαιο 19 | 229 |
| Επίδραση θερμοκρασίας και επαναλαμβανόμενης εφαρμογής στην αποδόμηση μίγματος ουσιών στο έδαφος και σε οργανικά υποστρώματα | 229 |
| 19.1. Επίδραση της θερμοκρασίας στην αποδόμηση σε βιομίγματα | 229 |
| 19.2. Επίδραση της επαναλαμβανόμενης εφαρμογής των φ.π. στην αποτελεσματικότητα των βιομιγμάτων | 231 |
| Κεφάλαιο 20 | 235 |
| Αποδόμηση των chlorpyrifos, terbuthylazine και metribuzin και παραγωγή μεταβολιτών..... | 235 |
| 20.1. Εισαγωγή..... | 235 |
| 20.2. Πορεία αποδόμησης του chlorpyrifos σε βιομίγματα και σχηματισμός του μεταβολίτη 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) | 236 |
| 20.2.1. Αποδόμηση του chlorpyrifos | 236 |
| 20.2.2. Σχηματισμός 3,5,6-trichloro-2-pyridinol..... | 237 |
| 20.2.3. Συνολικά υπολείμματα στο έδαφος..... | 240 |
| 20.3. Πορεία αποδόμησης του terbuthylazine σε βιομίγματα και σχηματισμός των κύριων μεταβολιτών..... | 240 |
| 20.3.1. Αποδόμηση του terbuthylazine | 240 |
| 20.3.2. Desethyl- μεταβολίτης..... | 243 |
| 20.3.3. Hydroxy- μεταβολίτης..... | 244 |
| 20.4. Πορεία αποδόμησης του metribuzin και σχηματισμός των κύριων μεταβολιτών diketo-, desamino- και diketodesamino- metribuzin | 246 |
| 20.4.1. Αποδόμηση του metribuzin | 246 |
| 20.4.2. Diketo metribuzin..... | 249 |
| 20.4.3. Desamino metribuzin..... | 249 |
| 20.4.4. Desaminodiketo metribuzin | 250 |
| Κεφάλαιο 21 | 251 |
| Δοκιμές έκπλυσης σε στήλες..... | 251 |
| 21.1 Εισαγωγή..... | 251 |
| 21.2. Παρουσία φ.ο. στο έκπλυμα | 251 |
| 21.3. Διαφορές μεταξύ εδάφους και βιομιγμάτων ως προς την ικανότητα συγκράτησης των ουσιών | 253 |
| 21.4. Ισοζύγιο μάζας των φ.ο. στις στήλες στο τέλος της δοκιμής έκπλυσης | 256 |
| Συμπεράσματα | 263 |
| Βιβλιογραφία..... | 273 |
| Παράρτημα..... | 293 |

Θεωρητικό μέρος

Είσοδος των φυτοπροστατευτικών ουσιών στο υδάτινο περιβάλλον

1.1. Εισαγωγή

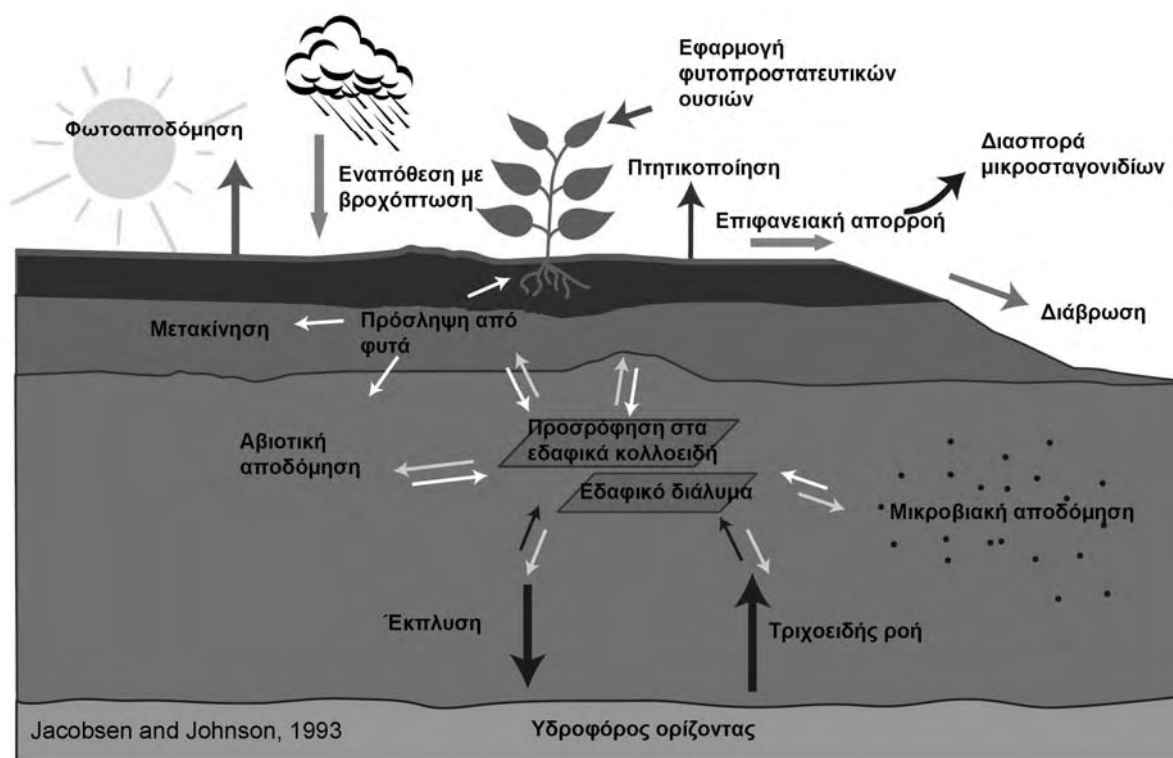
Ο όρος φυτοπροστατευτικά προϊόντα (φ.π.) εισήχθη με την κοινοτική οδηγία 91/414/ΕΕ που ορίζει ότι με τον όρο αυτό μπορούν να χαρακτηριστούν δραστικές ουσίες (φυτοπροστατευτικές ουσίες) και σκευάσματα ή μίγματα αυτών που προορίζονται για προστασία των φυτών και των φυτικών προϊόντων από επιβλαβείς οργανισμούς (έντομα, ποντίκια και άλλα επιβλαβή ζώα, ζιζάνια, μύκητες ή μικροοργανισμούς όπως βακτηρία και ιοί). Επίσης περιλαμβάνονται ουσίες που επηρεάζουν τις βιολογικές διεργασίες των φυτών, ουσίες που χρησιμοποιούνται για διατήρηση των γεωργικών προϊόντων (πλην των συντηρητικών τροφίμων), που καταστρέφουν μέρη των φυτών ή επιβραδύνουν την ανεπιθύμητη ανάπτυξη των φυτών. Στον όρο αυτό περιλαμβάνονται επίσης ρυθμιστές της ανάπτυξης και ουσίες αποφυλλωτικές ή ξήραντικές.

Οι φυτοπροστατευτικές ουσίες (φ.ο) μπορούν να εισέρθουν στους υδατικούς πόρους μέσω μη σημειακών (*diffuse sources*) ή μέσω σημειακών πηγών (*point source*). Μη-σημειακές εισροές ουσιών στο νερό είναι αυτές που προέρχονται από εφαρμογές στον αγρό, ενώ σημειακές αυτές που προέρχονται από συγκεκριμένη τοποθεσία ή περιορισμένο αριθμό τοποθεσιών (Carter, 2000). Σύμφωνα με τον ορισμό αυτό τα μονοπάτια εισόδου των φ.ο. στο νερό μέσω μη σημειακών πηγών περιλαμβάνουν επιφανειακή και υποεπιφανειακή απορροή (*surface and subsurface runoff*), απορροή αποστράγγισης (*drain flow*), υπερχείλιση υπογείων υδάτων (*baseflow seepage*), έκπλυση (*leaching*), διάβρωση εδάφους (*soil erosion*) και διασπορά σταγονιδίων (*spray drift*) κατά την εφαρμογή καθώς και εναπόθεση μετά από πτητικοποίηση (*volatilization*) **(εικόνα 1.1)**.

1.2. Μη σημειακές πηγές ρύπανσης

1.2.1. Επιφανειακή απορροή και διάβρωση

Επιφανειακή απορροή (*runoff*) είναι η οριζόντια μετακίνηση του νερού και των διαλυμένων στο νερό ουσιών κατά μήκος της επιφάνειας του εδάφους. Είναι μια άμεση μορφή ρύπανσης των επιφανειακών υδάτων, όπου η μεταφορά των φ.ο. πραγματοποιείται με τη μορφή διαλυμένων ουσιών, προσροφημένων μορίων και εν αιωρήσει σωματιδίων. Απώλειες της τάξης του 2-5% μέσω της διεργασίας αυτής έχουν υπολογιστεί στις βρέξιμες σκόνες, ενώ σε άλλες μορφές τυποποίησης το αντίστοιχο ποσοστό είναι περίπου 1% (Wauchore, 1978). Γενικά υπάρχουν δύο τύποι επιφανειακής απορροής: α) η υπέρβαση της ικανότητας φιλτραρίσματος (*infiltration excess*) και β) η απορροή λόγω κορεσμού του εδάφους (*saturation excess runoff*). Η πρώτη περίπτωση συμβαίνει όταν ο όγκος του νερού της κατακρήμνισης υπερβαίνει την ικανότητα φιλτραρίσματος (*infiltration capacity*) και την ικανότητα συγκράτησης του επιφανειακού εδάφους (*soil surface storage capacity*). Η ικανότητα φιλτραρίσματος του εδάφους είναι αντιστρόφως ανάλογη της περιεκτικότητας σε άργιλο, αλλά ευνοείται από την ύπαρξη μακροπορώδους στην επιφάνεια του. Η δεύτερη περίπτωση μπορεί να συμβεί σε κορεσμένα εδάφη εξαιτίας της κάθετης και πλάγιας μετακίνησης του υποεπιφανειακού νερού στη βάση κεκλιμένων αγροτεμαχίων (Garen and Moore, 2005). Οι παράγοντες που επηρεάζουν το φαινόμενο περιλαμβάνουν το χρόνο που μεσολαβεί μεταξύ εφαρμογής και βροχόπτωσης, τη διάρκεια και ένταση της βροχόπτωσης, χαρακτηριστικά της επιφάνειας του εδάφους (τοπογραφία, διαπερατότητα του εδάφους και εδαφοκάλυψη), καλλιεργητικές πρακτικές (ενσωμάτωση των φ.π.) καθώς και τις φυσικοχημικές ιδιότητες, τη μορφή τυποποίησης και τη δόση εφαρμογής του προϊόντος (Burgoa and Wauchore, 1995).



Εικόνα 1.1. Μεταφορά, κατανομή και τύχη φ.ο. στο περιβάλλον

Οι τρόποι αντιμετώπισης των απωλειών λόγω απορροής περιλαμβάνουν το σχηματισμό ζωνών με φυτοκάλυψη (*grassed buffer strips*) ή διαδρόμων διεξόδου της περίσσειας νερού (*grassed waterways*) (Asmussen et al., 1977). Η περιορισμένη ή μη-καλλιέργεια των εδαφών συμβάλει στον περιορισμό των απωλειών από επιφανειακή απορροή. Ο κίνδυνος για επιφανειακή απορροή των φ.π. που εφαρμόζονται στην επιφάνεια του εδάφους είναι μεγαλύτερος σε σχέση με προϊόντα που ενσωματώνονται στο έδαφος. Επίσης η προσρόφηση των φ.ο. στα σωματίδια του εδάφους και ο μικρός ρυθμός αποδόμησης μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερο κίνδυνο επιφανειακής απορροής (Larson et al., 1995).

Η διάβρωση του εδάφους από το νερό είναι συνδυασμός δύο διεργασιών: της αποκόλλησης των σωματιδίων εδάφους από την εδαφική επιφάνεια και της μετακίνησης τους με τη βοήθεια του νερού. Η διάβρωση είναι χαρακτηριστική εδαφών με μεγάλη αναλογία ιλύος και λεπτής άμμου και επιταχύνεται από το σχηματισμό εδαφικών συσσωματωμάτων έπειτα από ισχυρή βροχόπτωση. Για τις περισσότερες φ.ο. η επιφανειακή απορροή είναι πολύ πιο σημαντικός παράγοντας απομάκρυνσης τους σε σχέση με τη διάβρωση του εδάφους.

1.2.2. Πτητικοποίηση

Πτητικοποίηση (*volatilization*) είναι η φυσικοχημική διεργασία κατά την οποία μόρια της φ.ο. μετακινούνται από το μέσο όπου βρίσκονται διαλυμένα προς την ατμόσφαιρα μέσω της ροής ατμών. Στον αγρό η πτητικοποίηση πραγματοποιείται από ένα πολύ μικρό στρώμα επιφανειακού εδάφους (της τάξης των 5 mm) και οι περισσότερες απώλειες συμβαίνουν εντός μιας εβδομάδας από την εφαρμογή. Η πτητικοποίηση μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα των ουσιών και τον κίνδυνο ρύπανσης των υπόγειων υδάτων, αλλά ταυτόχρονα αυξάνει το κίνδυνο μεταφοράς των ουσιών στους επιφανειακούς υδάτινους αποδέκτες μέσω της ατμόσφαιρας. Η πτητικοποίηση επηρεάζεται κυρίως από τις φυσικοχημικές ιδιότητες της φ.ο. αλλά και από τον τρόπο εφαρμογής του προϊόντος, τη μορφή τυποποίησης, τη συγκέντρωση εφαρμογής, τις ιδιότητες του εδάφους (τύπος εδάφους, περιεκτικότητα σε νερό), τις καλλιεργητικές πρακτικές και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Η πίεση ατμών είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που επηρεάζει το φαινόμενο. Μάλιστα οι ρυθμοί πτητικοποίησης από εδάφη που δεν προσροφούν ισχυρά είναι ανάλογοι της πίεσης ατμών. Για πολύ πτητικές φ.ο. (π.χ. trifluralin, lindane) οι απώλειες μέσω πτητικοποίησης μια εβδομάδα μετά την εφαρμογή μπορεί να φτάσουν το 90%. Για άλλες ουσίες, όπως οι τριαζίνες, οι συνολικές απώλειες 24 ώρες μετά την εφαρμογή αντιστοιχούν περίπου στο 2% της εφαρμοσθείσας δόσης (Bedos et al., 2002). Η θερμοκρασία είναι ένας επίσης σημαντικός παράγοντας ρύθμισης της πτητικοποίησης καθώς επηρεάζει την τάση ατμών. Αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10°C συνήθως οδηγεί στον τριπλασιασμό έως και τετραπλασιασμό του ρυθμού πτητικοποίησης. Για την πτητικοποίηση ισχύει η σχέση (1.1)

$$C_g = K_h \cdot C_w \quad (1.1)$$

όπου

C_g είναι η συγκέντρωση της φ.ο. στην αέρια φάση

C_w η συγκέντρωση της φ.ο. στην υγρή φάση και

K_h η σταθερά Henry

Ουσίες με μικρότερη τιμή K_h συνήθως σωρεύονται στην επιφάνεια του εδάφους γεγονός που μπορεί να αυξήσει τη φωτοαποδόμηση και την επιφανειακή απορροή (Grover, 1988). Μια εμπειρική σχέση που συνδέει την εκτιμώμενη απώλεια μέσω της πηθητικοποίησης αμέσως μετά την εφαρμογή με τις φυσικοχημικές ιδιότητες των φ.ο. δίνεται από την παρακάτω σχέση (Woodrow and Seiber, 1997)

$$\ln(Flux) = 19,35 + 1,0533 \cdot \ln\left(\frac{V_p \cdot AR}{K_{oc} \cdot S_w}\right) \quad (1.2)$$

όπου

Flux είναι η ροή πηθητικοποίησης

V_p είναι η τάση ατμών (Pa)

AR είναι η δόση εφαρμογής ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)

K_{oc} είναι ο συντελεστής κατανομής ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)

S_w η υδατοδιαλυτότητα ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

1.2.3. Διασπορά μικροσταγονιδίων δια του αέρος

Με την εφαρμογή των φ.π. με ψεκασμό, είτε από αέρος είτε από εδάφους, εμφανίζεται το φαινόμενο της μεταφοράς ποσότητας δραστικών συστατικών με τη μορφή μικροσταγονιδίων (*spray drift*) μακριά από την περιοχή εφαρμογής, στην κατεύθυνση του πνέοντα ανέμου. Οι απώλειες μέσω διασποράς στον αέρα αγγίζουν το 4% της εφαρμοσθείσας δόσης σε απόσταση 1 m από τα όρια του αγρού ενώ οι συνολικές απώλειες μπορεί να είναι της τάξης του 5%. Η τελική κατάληξη των ουσιών είναι σε παρακείμενα εδάφη και βαθμιαία υδάτινες επιφάνειες (Ganzelmeier et al, 1995). Από τους παράγοντες που επηρεάζουν το φαινόμενο η πλέον σημαντική παράμετρος είναι το μέγεθος των μικροσταγονιδίων, που επηρεάζεται από τον τύπο και το μέγεθος του ακροφύσιου του ψεκαστικού συστήματος, το ύψος από το οποίο γίνεται ο ψεκασμός και την πίεση εξόδου του ψεκαστικού υγρού. Σημαντικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ένταση του φαινομένου είναι η ταχύτητα του ανέμου, η υγρασία και η θερμοκρασία. Ο ψεκασμός καλλιεργούμενων εκτάσεων οδηγεί σε μεγαλύτερες απώλειες σε σχέση με εφαρμογή σε γυμνό έδαφος (Focus, 2004). Οι απώλειες μέσω διασποράς σταγονιδίων είναι ανεξάρτητες από τις ιδιότητες της φ.ο., αλλά εξαρτώνται από το είδος της τυποποίησης με την οποία εφαρμόστηκε. Μοντέλα προσομοίωσης της συμπεριφοράς των φ.ο. στο περιβάλλον έδειξαν ότι η συνολική ποσότητα της ουσίας που εισέρχεται στα επιφανειακά ύδατα μέσω διασποράς μικροσταγονιδίων είναι πολύ χαμηλότερη αυτών που προέρχονται από επιφανειακή απορροή (Huber et al., 2000; Ropke et al., 2004). Τα μέτρα αντιμετώπισης του φαινομένου διαιρούνται γενικά σε τρεις κατηγορίες:

α) στη χρήση ζωνών ελεύθερων από ψεκασμούς (*buffer zones*),

β) στη χρήση φυσικών και τεχνητών ανεμοφρακτών και

γ) στην εφαρμογή νέων τεχνολογιών σε επίγεια ψεκαστικά συστήματα (καλυμμένοι βραχίονες ψεκαστικών, ψεκασμός υποβοηθούμενος από ρεύμα αέρα, ηλεκτροστατικός ψεκασμός).

1.2.4. Απώλειες μέσω αποστράγγιστικών συστημάτων

Τα τεχνητά συστήματα αποστράγγισης έχει αποδειχθεί ότι ευθύνονται για την κάθετη μετακίνηση των διαλυμένων φ.ο. ιδιαίτερα όταν η εφαρμογή των φ.π. στον αγρό συνοδεύεται από έντονη βροχόπτωση σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά την εφαρμογή. Οι απώλειες αυτές συνήθως είναι μικρότερες του

1% της συνολικά εφαρμοσθείσας ποσότητας (Carter, 2000). Διάφορες έρευνες απέδειξαν την καταλυτική συνεισφορά της διευκολυνόμενης ροής του νερού (*preferential flow*) στην ταχεία μετακίνηση των φ.ο. σε συστήματα αποστράγγισης στον αγρό (Kladivko et al., 1991; Funari et al., 1998; Accinelli et al., 2002). Οι απώλειες σε αποστραγγιστικά συστήματα είναι υψηλότερες σε βαριά, καλά δομημένα εδάφη και χαμηλότερες σε αμμώδη ή σε εδάφη χωρίς ισχυρή δομή (Accinelli et al., 2002; DEFRA, 2003). Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το φαινόμενο είναι:

- α) τα εδαφολογικά χαρακτηριστικά της συγκεκριμένης τοποθεσίας, όπως είναι η διαπερατότητα του υπεδάφιου στρώματος, το βάθος της μη κορεσμένης υπεδάφιας ζώνης (*vadose zone*) και το βάθος του υδροφόρου ορίζοντα
- β) τα χαρακτηριστικά του συστήματος αποστράγγισης, όπως έκταση και βάθος
- γ) τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των φ.ο.
- δ) οι κλιματικές συνθήκες με σημαντικότερη τη χρονική κατανομή των κατακρημνίσεων που ακολουθούν την εφαρμογή και δευτερευόντως η συνολική ποσότητα νερού
- ε) η δόση εφαρμογής και
- στ) η εποχή στην οποία πραγματοποιήθηκε η εφαρμογή (Reichenberger et al., 2006).

1.3. Έκπλυση και κινητικότητα φ.ο. στο έδαφος

1.3.1. Έκπλυση και παράγοντες επηρεασμού

Έκπλυση είναι η φυσική διεργασία όπου οι φ.ο. μετακινούνται από το επιφανειακό στρώμα εδάφους όπου αρχικά εφαρμόστηκαν σε βαθύτερα εδαφικά στρώματα και τελικά σε υπόγεια ύδατα. Είναι μια διεργασία μαζικής μεταφοράς οφειλόμενη στην κάθετη μετακίνηση του νερού, κυρίως μετά από βροχόπτωση ή άρδευση. Η πολύπλοκη αυτή διεργασία εξαρτάται ταυτόχρονα από πολλές παραμέτρους όπως μετεωρολογικές συνθήκες (βροχόπτωση και θερμοκρασία), ιδιότητες του εδάφους (μέγεθος σωματιδίων, οργανική ουσία) και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της ουσίας (πίεση ατμών, υδατοδιαλυτότητα).

Υπάρχουν δύο τρόποι κάθετης μετακίνησης του νερού στο έδαφος: η χρωματογραφική ροή (*chromatographic ή capillary flow*) και η διευκολυνόμενη ροή (*preferential flow*). Η χρωματογραφική ροή είναι η κατακόρυφη κίνηση του νερού λόγω της διαβάθμισης του υδραυλικού δυναμικού (*hydraulic potential*). Η μορφή αυτή ροής είναι κυρίαρχη σε αμμώδη εδάφη. Η μετακίνηση του νερού σε μονοδιάστατο μέσο με ομοιόμορφη κατανομή πόρων και σταθερή ροή νερού μπορεί να περιγραφεί από την εξίσωση μεταγωγής-διαχυσης (*advection-dispersion*) (Govindaraju and Das, 2007)

$$R_f \frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} - V \frac{\partial c}{\partial x} - \gamma c \quad (1.3)$$

$$R_f = 1 + \rho \cdot K_d / \vartheta \quad (1.4)$$

όπου

R_f είναι ο παράγοντας καθυστέρησης (*retardation coefficient*)

ρ είναι το φαινόμενη πυκνότητα (*bulk density*) του εδάφους ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

K_d είναι ο συντελεστής προσρόφησης ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)

D είναι ο συντελεστής κατανομής (*dispersion coefficient*) ($\text{cm}^2\cdot\text{day}^{-1}$)

V είναι η ταχύτητα του νερού στο πορώδες μέσο ($\text{mL}\cdot\text{day}^{-1}$)

γ είναι ο ρυθμός αποδόμησης (day^{-1}) και

θ είναι η περιεκτικότητα του εδάφους σε νερό

Στην διευκολυνόμενη ροή η μετακίνηση του νερού πραγματοποιείται μέσω ενός μόνο τμήματος των διαθέσιμων πόρων (μακροπόρων, *macropores*) του εδάφους. Ακόμη και σε ομοιόμορφες συνθήκες ροής ο μεγαλύτερος όγκος νερού διέρχεται μέσω των μεγαλύτερων, συνεχών μακροπόρων που αντιπροσωπεύουν ένα μικρό μόνο μέρος του συνολικού όγκου του εδάφους. Η διεργασία αυτή οδηγεί σε παράκαμψη (*by-passing*) του άνω επιφανειακού στρώματος εδάφους και επομένως σε αναστολή της συγκράτησης του νερού. Εκτός από την πορεία του νερού δια των μακροπόρων παρατηρείται και ασταθής ροή (*fingering*) που οφείλεται στην έντονη στρωματοποίηση πολλών εδαφών, στην παγίδευση αέρα στο εσωτερικό του εδάφους και σε αλλαγή κατεύθυνσης του μετακινούμενου νερού (van Genuchten et al., 1999). Η ταχύτητα ροής του νερού στην περίπτωση της διευκολυνόμενης ροής είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τη χρωματογραφική ροή των ελαφρών εδαφών. Η διευκολυνόμενη ροή είναι πολύ σημαντική σε καλά δομημένα, βαριά εδάφη (ιλυώδη, αργιλώδη και αργιλοπηλώδη) και κυρίως στα σημεία όπου σχηματίζονται μόνιμοι μακροπόροι. Ο σχηματισμός των μακροπόρων ξεκινά σε ανομοιογενείς περιοχές του εδάφους όπως για παράδειγμα σε περιοχές με χούμο ή πέτρες ή σε σημεία επαφής εδάφους-ριζικού συστήματος. Ο σχηματισμός αυτών των δομών και η σταθερότητα τους στο χρόνο εξαρτάται από τις κλιματικές συνθήκες (υγρασία εδάφους, ύψους, ένταση και συχνότητα βροχοπτώσεων), τη δομή του εδάφους, τη βλάστηση και σε καλλιεργητικές πρακτικές. Σημαντικές παράμετροι είναι επίσης η συχνότητα των ποτισμάτων και η υδραυλική αγωγιμότητα του ορίζοντα του εδάφους που βρίσκεται ακριβώς κάτω από τους μακροπόρους. Ειδικά για τα ιλυώδη εδάφη σημαντικός παράγοντας είναι και ο σχηματισμός πόρων (*biopore*) μέσω της δράσης βιολογικών παραγόντων. Στις περιπτώσεις διευκολυνόμενης ροής η κίνηση του νερού είναι ανεξάρτητη από τις φυσικοχημικές ιδιότητες της ουσίας, ενώ οι διεργασίες της αποδόμησης και της προσρόφησης δεν επηρεάζουν σημαντικά το τελικό αποτέλεσμα. Οι μακροπόροι μπορεί να διαχωριστούν σε “ανοιχτής διόδου” (*open-ended*) και σε “κλειστής διόδου” (*dead-end macropores*). Στην πρώτη περίπτωση η ακολουθία των μακροπόρων στο επιφανειακό έδαφος καταλήγει σε διαπερατό υπέδαφος ή ακόμη και σε αποστραγγιστικό σύστημα. Αν όμως οι μακροπόροι καταλήγουν σε ομοιογενές και, επομένως, σχετικά αδιαπέραστο στρώμα υπεδάφους η αρχική ταχεία ροή ακολουθείται από τη σχετικά πιο αργή χρωματογραφική ροή (Kordel and Klein, 2006).

Η εκτίμηση του κινδύνου έκπλυσης (*leaching potential assessment*) των φ.ο. συχνά αφορά τη χρωματογραφική ροή στο έδαφος που είναι κυρίαρχη οδός μεταφοράς του νερού σε αμμώδη εδάφη. Στα βαριά αργιλώδη εδάφη όμως, η ροή νερού δια των μακροπόρων μπορεί να θεωρηθεί ο κανόνας παρά η εξαίρεση. Η εκτίμηση του κινδύνου ρύπανσης υπογείων υδάτων στις περιπτώσεις αυτές δεν μπορεί να στηριχθεί σε εργαστηριακές δοκιμές και σε πειράματα προσομοίωσης με τη χρήση λυσίμετρων. Για την εκτίμηση κινδύνου από τη διευκολυνόμενη ροή θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη, εκτός από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των φ.ο. και οι ιδιότητες του εδάφους, όπως και η δυνατότητα σχηματισμού σταθερών μακροπόρων.

1.3.2. Ευαισθησία και κίνδυνος έκπλυσης

Η ευαισθησία στην έκπλυση (*leaching vulnerability*) ορίζεται ως η τάση ή η πιθανότητα των φ.ο. να καταλήξουν σε υπόγεια ύδατα μετά από εφαρμογή τους σε συγκεκριμένη θέση στην επιφάνεια του εδάφους. Είναι μια γενική έννοια που καθορίζει την ευαισθησία ή επιδεκτικότητα σε ρύπους που εισέρχονται μέσω της ελεύθερης εδαφικής επιφάνειας. Θεωρείται μια εγγενής ιδιότητα του υδρογεωλογικού συστήματος και είναι ανεξάρτητη από τις ιδιότητες της φ.ο. και τη δόση εφαρμογής. Η έννοια αυτή εισήχθη για πρώτη φορά από τον Margat, (1968), ο οποίος χρησιμοποίησε τον όρο για να εκφράσει το βαθμό προστασίας που προσφέρει το φυσικό περιβάλλον στη ρύπανση των υπογείων υδάτων. Η ευαισθησία στην έκπλυση μπορεί να διαχωριστεί σε εγγενή (*intrinsic*) και ειδική (*specific*). Η έννοια της ειδικής ευαισθησίας στην έκπλυση χρησιμοποιείται όταν γίνεται αναφορά σε μια συγκεκριμένη φ.ο.. Η επικινδυνότητα (*risk*) ρύπανσης μέσω έκπλυσης μπορεί να οριστεί ως το γινόμενο του κινδύνου (*hazard*) επί την ευαισθησία (*vulnerability*).

1.3.3. Παράγοντες που επηρεάζουν τον κίνδυνο έκπλυσης

Χειρισμοί του εδάφους: Ο χειρισμός του εδάφους επηρεάζει τον κίνδυνο έκπλυσης επηρεάζοντας τις ιδιότητες του εδάφους. Για παράδειγμα η καλλιέργεια (*tillage*) του εδάφους μπορεί να περιορίσει τον κίνδυνο διευκολυνόμενης ροής και να επηρεάσει τους ρυθμούς και την ποσότητα των φ.ο. που μετακινούνται δια του εδαφικού σώματος. Η επίδραση όμως των διάφορων μορφών καλλιέργειας (συμβατική καλλιέργεια, καλλιέργεια συντήρησης ή μη-καλλιέργεια εδάφους) στο μακροπορώδες του εδάφους δεν μπορεί να προβλεφθεί με ακρίβεια (Flury, 1996)

Ιδιότητες του εδάφους και καλλιέργεια: Οι δύο ζώνες υπογείου εδάφους που μπορούν να αναγνωριστούν εύκολα είναι η μη κορεσμένη (*vadose zone*) και η κορεσμένη (*saturated zone*) ζώνη εδάφους. Άλλη χαρακτηριστική περιοχή στο κάθετο προφίλ του εδάφους είναι η ζώνη εδάφους-ριζικού συστήματος λόγω του χαρακτηριστικού ρόλου της στην προστασία των υπόγειων υδάτων (Robins et al., 1994). Συχνά το βάθος και η φύση της μη κορεσμένης υπεδάφιας ζώνης είναι σημαντικός παράγοντας στην εκτίμηση της πιθανότητας έκπλυσης. Γενικά οι διεργασίες αποδόμησης των φ.ο. στο στρώμα αυτό του εδάφους εμφανίζουν σημαντικά μικρότερους ρυθμούς σε σχέση με το επιφανειακό έδαφος αν και έχουν αναφερθεί σε ορισμένα σημεία του μη κορεσμένου εδάφους περιοχές υψηλής αποδομητικής ικανότητας (Vanderheyden et al., 1997). Η οργανική ουσία επηρεάζει σημαντικά τη μετακίνηση των φ.ο. καθώς επιδρά στην προσρόφηση τους προσφέροντας άφθονες θέσεις πρόσδεσης λόγω της μεγάλης ελεύθερης επιφάνειας και της χημικής ενεργότητας της. Ακόμη, ένας σημαντικός παράγοντας επηρεασμού της μετακίνησης όλων των φ.ο. είναι το μακροπορώδες του εδάφους. Επίσης, οι καλλιεργητικές πρακτικές, η κατανομή του ριζικού συστήματος και το βάθος της ριζόσφαιρας μπορεί να επηρεάσουν σε κάποιο βαθμό την πιθανότητα έκπλυσης

Κλιματικοί παράγοντες: Η επίδραση του όγκου της κατακρήμνισης και του χρόνου εκδήλωσης της πρώτης βροχόπτωσης μετά την εφαρμογή είναι παράγοντες που έχουν ερευνηθεί εκτενώς. Ο χρόνος πρώτης βροχόπτωσης είναι ιδιαίτερα σημαντικός γιατί καθορίζει τις αρχικές συνθήκες υγρασίας του εδάφους και το ρυθμό διήθησης του νερού. Για παράδειγμα, είναι γνωστό ότι η ικανότητα προσρόφησης του εδάφους αυξάνεται με το χρόνο παραμονής της ουσίας στο έδαφος. Επομένως, αναμένεται η ποσότητα που εκπλύνεται να είναι αντιστρόφως ανάλογη του χρόνου που μεσολαβεί μεταξύ εφαρμογής του φ.π. και της επακόλουθης κατακρήμνισης (Flury, 1996). Συνήθως όμως τα φαινόμενα έκπλυσης επηρεάζονται περισσότερο από τις ιδιότητες του εδάφους παρά από τις αλλαγές

στις κλιματικές συνθήκες, ενώ έχει αποδειχθεί ότι οι δύο αυτοί παράγοντες δρουν ανεξάρτητα (Flury, 1996). Άλλοι παράγοντες επηρεασμού είναι η θερμοκρασία περιβάλλοντος, η ταχύτητα του πνέοντος άνεμος και η ατμοσφαιρική υγρασία καθώς επηρεάζουν την εξατμισοδιαπνοή άρα και την ισορροπία νερού (*water balance*) του εδάφους. Επιπλέον, η θερμοκρασία εδάφους επηρεάζει διάφορες υδρολογικές διεργασίες αλλά και την αποδόμηση των ουσιών και επομένως επιδρά στην ευαισθησία του εδάφους και στον κίνδυνο έκπλυσης

Ιδιότητες φ.ο.: Οι ιδιότητες των φ.ο. συμβάλουν στην εκτίμηση του κινδύνου έκπλυσης. Γενικά υπάρχουν τέσσερις ιδιότητες που καθορίζουν την τάση των φ.ο. για έκπλυση. Αυτές είναι η προσρόφηση, η υδατοδιαλυτότητα, η υπολειμματικότητα και η πτητικοποίηση. Η υδατοδιαλυτότητα, η σταθερά Henry και η τάση ατμών (*saturated vapor density*) είναι παράμετροι που έχουν χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση των ουσιών σε αυτές που εκπλένονται με ευκολία και σε αυτές που δύσκολα εκπλένονται και γι' αυτό ο κίνδυνος να εμφανιστούν σε υπόγεια ύδατα είναι μηδαμινός. Επίσης η δόση εφαρμογής, η μορφή τυποποίησης και ο χρόνος εφαρμογής είναι παράγοντες κλειδιά για την εκτίμηση της πιθανότητας έκπλυσης μιας φ.ο.

1.3.4. Δείκτες έκπλυσης και συστήματα κατάταξης

Για τον υπολογισμό των απλούστερων δεικτών έκπλυσης απαιτούνται λίγα δεδομένα και ο υπολογισμός τους βασίζεται σε απλές μαθηματικές εξισώσεις. Επομένως οι δείκτες αυτοί δεν μπορούν να θεωρηθούν ως πραγματικά μοντέλα, αλλά επιτρέπουν τη σύγκριση μεταξύ διαφορετικών ουσιών καθώς και την κατάταξη τους με βάση τον κίνδυνο έκπλυσης για ένα ή περισσότερα περιβαλλοντικά συστήματα (Vighi and Funari, 1995). Μερικά από τα συστήματα αυτά κατάταξης, όπως ο δείκτης GUS (GUS index) και ο δείκτης έκπλυσης (Leaching index) βασίζονται αποκλειστικά στις φυσικοχημικές ιδιότητες των φ.ο.. Στο δείκτη GUS η σχέση που συνδέει την εκτίμηση του κινδύνου ρύπανσης του υπόγειων υδάτων με το συντελεστή προσρόφησης της ουσίας και το χρόνο ημιζωής είναι η ακόλουθη

$$GUS = \log(t_{1/2}) \cdot [4 - \log(K_{oc})] \quad (1.5)$$

όπου

GUS είναι ο δείκτης GUS

$t_{1/2}$ είναι ο χρόνος ημιζωής της ουσίας και

K_{oc} ο συντελεστής προσρόφησης

Σύμφωνα με την παραπάνω εξίσωση η τιμή GUS για τις φ.ο. που εμφανίζουν μεγαλύτερο κίνδυνο να εκπλυθούν είναι μεγαλύτερη από 2,8 ενώ για τις ουσίες με τιμή μικρότερη από 1,8 ο κίνδυνος έκπλυσης είναι περιορισμένος (Gustafson, 1989). Η πιθανότητα έκπλυσης μπορεί να εκτιμηθεί και από το δείκτη έκπλυσης με βάση την εξίσωση (Seiber, 2002)

$$Leaching\ Index = \frac{S \cdot t_{1/2}}{P \cdot K_d} \quad (1.6)$$

όπου

S είναι η υδατοδιαλυτότητα της φ.ο. στο νερό

$t_{1/2}$ είναι ο χρόνος ημιζωής στο έδαφος

P η τάση ατμών της ουσίας και

K_d ο συντελεστής προσρόφησης

Πιο σύνθετοι δείκτες ενσωματώνουν εκτός από τις φυσικοχημικές ιδιότητες και περιβαλλοντικούς παράγοντες του εδάφους και του υπεδάφους. Επίσης, συνυπολογίζουν και τα εδαφολογικά χαρακτηριστικά μιας συγκεκριμένης τοποθεσίας και επομένως μπορεί να θεωρηθεί ότι έχουν κάποια εξειδίκευση θέσης (*site specific*). Για παράδειγμα, οι Rao et al., (1985) ανέπτυξαν ένα μοντέλο για πρόβλεψη της έκπλυσης (δείκτης AF) βασιζόμενο στην αναλυτική λύση της εξίσωσης *advection-dispersion*. Ο υπολογισμός του δείκτη AF (*attenuation factor*) στηρίζεται στην υπόθεση της μεταφοράς (*convective transport*) των ουσιών σε έδαφος με ομοιόμορφη σύσταση στα διάφορα βάθη:

$$AF = \exp\left(-\frac{0,693 \cdot d \cdot R_f \cdot \theta}{q \cdot t_{1/2}}\right) \quad (1.7)$$

όπου

d είναι το βάθος έκπλυσης (m)

θ είναι η περιεκτικότητα του εδάφους σε νερό

q είναι ο μέσος ρυθμός επαναφοράς (*average recharge rate*) ($\text{m} \cdot \text{day}^{-1}$)

$t_{1/2}$ ο χρόνος ημιζωής (day) και

R_f είναι ο παράγοντας καθυστέρησης (*retardation factor*) που είναι ισοδύναμος με:

$$R_f = 1 + \frac{\rho \cdot f_{oc} \cdot K_{oc}}{\theta} \quad (1.8)$$

όπου

ρ είναι η φαινόμενη πυκνότητα του εδάφους ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)

f_{oc} είναι η περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα

K_{oc} είναι ο συντελεστής προσρόφησης ($\text{m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$)

1.3.5. Μοντέλα έκπλυσης

Εξαιτίας του κόστους και της πολυπλοκότητας του in vivo πειραματισμού και της ανάγκης για σωστό χειρισμό των διαφόρων πειραματικών μεταβλητών έχουν αναπτυχθεί διάφορα μοντέλα με σκοπό την πρόβλεψη της τύχης των φ.ο. στο έδαφος. Κάθε μοντέλο ενσωματώνει υπάρχουσες πληροφορίες και μετρήσεις μέσα σε ένα πλαίσιο κανόνων και μαθηματικών εξισώσεων με σκοπό την ποσοτικοποίηση της συμπεριφοράς των φ.ο. στο περιβάλλον. Τα μοντέλα που χρησιμοποιούνται είναι διαφόρων τύπων και αναπτύχθηκαν για διαφορετικούς σκοπούς. Μερικά μοντέλα εμφανίζουν ομοιότητες καθώς πολλές από τις υποθέσεις στις οποίες στηρίζονται είναι ίδιες ενώ σε άλλες περιπτώσεις μπορεί να εμφανίζουν σημαντικές διαφοροποιήσεις. Τα μοντέλα διαχωρίζονται σε θεμελιώδη (*conceptual*) και σε φυσικά (*physically based*) αλλά και σε σωρευτικά (*lumped*) ή κατανομής (*distributed*). Στα φυσικά μοντέλα οι παράμετροι βασίζονται σε φυσικά δεδομένα ή σε εργαστηριακά πειράματα και σε αντίθεση με τα θεμελιώδη μοντέλα δεν απαιτούν βαθμονόμηση. Τα μοντέλα κατανομής λαμβάνουν υπόψη τις τοπικές διαφοροποιήσεις και τις οριακές συνθήκες των παραμέτρων σε αντίθεση με τα σωρευτικά μοντέλα, όπου χρησιμοποιείται η μέση τιμή των παραμέτρων μιας περιοχής.

Με τον όρο βαθμονόμηση (*calibration*) ορίζουμε τη διαδικασία ρύθμισης των παραμέτρων του μοντέλου εντός ενός λογικού εύρους ώστε αυτό να ανταποκρίνεται στις πραγματικές συνθήκες της

μελέτης και να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία προβλέψεων (Loague and Corwin, 2005). Η επικύρωση (*validation*) είναι η ικανότητα ενός μοντέλου που έχει δοκιμαστεί σε μια συγκεκριμένη τοποθεσία να δίνει ακριβή και αξιόπιστα αποτελέσματα ακόμα και όταν χρησιμοποιηθεί σε άλλη περιοχή με διαφορετικά και ανεξάρτητα δεδομένα. Οι πιθανές πηγές αβεβαιότητας των μοντέλων εξομοίωσης της, από σημειακές ή μη σημειακές πηγές, ρύπανσης είναι το σφάλμα του μοντέλου, που είναι αποτέλεσμα της αδυναμίας του μοντέλου να προσομοιώσει τη συμπεριφορά των φ.ο. σε μια δεδομένη περιοχή ακόμη και αν οι παράμετροι και τα δεδομένα που χρησιμοποιούνται είναι αληθή, το σφάλμα των εισαγόμενων δεδομένων, που συνήθως αφορούν λάθη στις μετρήσεις, και το σφάλμα των παραμέτρων του μοντέλου. Το άθροισμα των παραπάνω σφαλμάτων αντιπροσωπεύει το συνολικό σφάλμα του μοντέλου.

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών μεγάλος αριθμός σύνθετων μοντέλων έχουν αναπτυχθεί για πρόβλεψη της κάθετης μετακίνησης των φ.ο. από το σημείο εφαρμογής τους σε υπόγεια και σε επιφανειακά ύδατα. Περιλαμβάνουν σχετικά απλοποιημένα μοντέλα έως πολύ σύνθετα (*dual-porosity, dual-permeability, multi-region type models*) (Simunek et al., 2003). Μερικά από τα πιο τυπικά και συχνά απαντώμενα μοντέλα είναι το PESTAN (*Pesticide Analytical Solution*), SESOIL (*Seasonal Soil compartment model*), GLEAMS (*Groundwater Loading Effect of Agricultural Management Systems*), PRZM (*Pesticide Root Zone Model*) και LEACHM (*Leaching Estimation and Chemistry Model*). Υπάρχουν διαφωνίες μεταξύ ερευνητών για την πραγματική αξία των μοντέλων αυτών στην πρόβλεψη της συμπεριφοράς των φ.ο. στο έδαφος, καθώς έχει διαπιστωθεί ότι κανένα από τα μοντέλα που έχουν προταθεί δεν μπορεί να προβλέψει με απόλυτη ακρίβεια την τύχη των φ.ο. σε κάθε περίπτωση (Gottesburnen et al., 1995; Jarvis et al., 1995).

1.4. Σημειακές πηγές ρύπανσης

Η ρύπανση από σημειακές πηγές αναφέρεται στη ρύπανση επιφανειακών και υπόγειων υδάτων που προκαλείται από δραστηριότητες που έχουν σχέση με το χειρισμό των φ.π. σε σημεία εκτός αγρού ως αποτέλεσμα μεμονωμένων περιστατικών ή ατυχημάτων (Carter, 2000). Τυπικά η ρύπανση από σημειακές πηγές σχετίζεται με υψηλές συγκεντρώσεις φ.ο. ή μίγματος αυτών σε περιορισμένης έκτασης, διακριτές περιοχές με δυνητικό κίνδυνο η ρύπανση να επεκταθεί σε ευρύτερες γεωγραφικά περιοχές (Gan and Koskinen, 1998). Η ρύπανση που προέρχεται από σημειακές πηγές εμφανίζει τρία ιδιαίτερα χαρακτηριστικά σε σχέση με τις μη-σημειακές πηγές. Κατ' αρχάς είναι πιο εύκολο να αντιμετωπιστεί καθώς οι μη-σημειακές πηγές ρύπανσης επηρεάζονται από σημαντικό αριθμό αλληλεπιδρώντων μεταβλητών, όπως τη συμμετοχή του εδάφους, τις καιρικές συνθήκες, τις ιδιότητες των φ.ο. και τις πρακτικές χειρισμού των φ.π. Επίσης, είναι πιο εύκολα ανιχνεύσιμη και μετρήσιμη και τέλος σχετίζεται με την εκδήλωση σοβαρών ατυχημάτων. Είναι χαρακτηριστικό ότι η διαρροή ελάχιστων mL εμπορικού σκευάσματος κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας των ψεκαστικών μηχανημάτων μπορεί να οδηγήσει σε ελευθέρωση έως και 1 g δραστικής ουσίας. Επομένως θα απαιτηθούν περισσότερα από 10.000 L νερού προκειμένου η συγκέντρωση της φ.ο. στο νερό να μειωθεί κάτω από το θεσμοθετημένο από την Ευρωπαϊκή Ένωση όριο των 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ για το σύνολο των ουσιών) στο πόσιμο νερό (98/83/EEC) (<http://ec.europa.eu/environment/water/water-drink>)

Οι πηγές σημειακής ρύπανσης μπορούν να διακριθούν σε εγκεκριμένες (*approved*), όπως για παράδειγμα οι χώροι φόρτωσης των ψεκαστικών συστημάτων, και σε μη εγκεκριμένες (*non approved*), όπως είναι η απόχυση σκευασμάτων ή ψεκαστικού διαλύματος απευθείας σε υδρορροές και αποχετευτικά συστήματα που καταλήγουν σε λίμνες και ποτάμια (Carter, 2000). Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός πιθανών σημειακών πηγών υπολειμμάτων φ.ο. στον αγρό που περιλαμβάνει:

- Διαρροές φ.π. κατά τη διαδικασία προετοιμασίας του ψεκαστικού υγρού
- Υπολείμματα ψεκαστικού υγρού στη δεξαμενή, αντλία ή στον ψεκαστικό βραχίονα και στο ακροφύσιο των ψεκαστικών συστημάτων
- Ξέπλυμα δεξαμενής λόγω της ανάγκης καθαρισμού των ψεκαστικών συστημάτων
- Υπολείμματα προερχόμενα από τον εξωτερικό καθαρισμό του ψεκαστικού εξοπλισμού
- Αστοχία χειρισμού των υπολειμμάτων των φ.π. εντός της δεξαμενής
- Διαρροή ψεκαστικού υγρού λόγω ελαττωματικού εξοπλισμού
- Ακατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης φ.π.
- Απόβλητα από μονάδες μετασυλλεκτικής μεταχείρισης φρούτων

Μέχρι πρόσφατα η σπουδαιότητα των σημειακών πηγών στη ρύπανση των υδάτινων όγκων του εδάφους και υπεδάφους από φ.ο. δεν είχε πλήρως αναγνωριστεί. Όμως ερευνητικές προσπάθειες των τελευταίων 10-15 χρόνια έχουν καταδείξει την πολύ σημαντική συνεισφορά των σημειακών πηγών στη ρύπανση επιφανειακών υδάτων σε πολλές χώρες της Ε.Ε., όπως για παράδειγμα στη Γερμανία (Fischer et al., 1996; Bach et al., 2001; Neumann et al., 2003), στην Ελβετία (Gerecke et al., 2002; Leu et al., 2004), στη Σουηδία (Kreuger and Tornqvist, 1998), στο Ηνωμένο Βασίλειο (Hankinson and Welland, 2001; Mason, 2003) και στο Βέλγιο (Holvoet et al., 2005). Στις παραπάνω περιπτώσεις η συμμετοχή των σημειακών πηγών στη συνολική ρύπανση είναι της τάξης του 30-90% και σε πολλές περιπτώσεις αφορά επιφανειακή απορροή προερχόμενη από εξωτερικούς χώρους αγροκτημάτων (*farmyards*), όπου λαμβάνει χώρα η φόρτωση και το πλύσιμο των ψεκαστικών συστημάτων (Jaeken and Debaer, 2005).

Συχνά ο χειρισμός των φ.π. πραγματοποιείται σε εξέδρες από τσιμέντο, που δεν επιτρέπουν απομάκρυνση των υπολειμμάτων μέσω συγκράτησης τους στα συστατικά του εδάφους ή αποδόμησης τους, και το σύνολο των υπολειμμάτων αυτών συχνά καταλήγει σε παρακείμενα υδροφόρα συστήματα. Επίσης, αμμώδη εδάφη καλυμμένα από χαλίκι χρησιμοποιούνται ως πλατφόρμες σε τυπικές γεωργικές εργασίες χειρισμού φ.π. Στα σημεία αυτά η συγκράτηση των φ.ο. μέσω προσρόφησης είναι μηδαμινή, ενώ συχνά τα σημεία αυτά γειτνιάζουν με φυσικές πηγές νερού γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο μεταφοράς μέρους των υπολειμμάτων των φ.ο. σε λεκάνες απορροής λιμνών και ποταμών. Οι Ramwell et al. (2004) πραγματοποίησαν μια έρευνα που αφορούσε τα υπολείμματα των φ.ο. στην εξωτερική επιφάνεια των ψεκαστικών συστημάτων και υπολόγισαν ότι οι ποσότητες αυτές είναι επαρκείς για να προκαλέσουν προβλήματα τοξικότητας σε υδάτινους οργανισμούς μετά από είσοδο τους σε υδάτινα περιβάλλοντα. Επίσης, επισήμαναν ότι η διασπορά του συνόλου των υπολειμμάτων αυτών σε μια μικρή περιοχή (15 m²) είναι σε θέση να οδηγήσει σε φαινόμενα τοξικότητας ιδιαίτερα για φ.π. που είναι τοξικά ακόμη και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, όπως τα πυρεθροειδή. Σε μελέτη, που διεξάχθηκε στη Μ. Βρετανία για τη μελέτη των πιθανών οδών εισόδου του ζιζανιοκτόνου isoproturon σε επιφανειακά ύδατα, αποδείχτηκε ότι τουλάχιστο το 50% του isoproturon που ανιχνεύτηκε προερχόταν από σημειακές πηγές (ξέπλυμα των ψεκαστικών

μηχανημάτων), ενώ πιθανές απώλειες κατά την εφαρμογή του στον αγρό είχαν μικρότερη συμμετοχή (Mason et al., 1999)

Σε ορισμένες περιοχές στη Γερμανία βρέθηκε ότι η σημειακές πηγές αποτελούν την κύρια μορφή ρύπανσης των επιφανειακών υδάτινων πόρων με φ.ο. (Muller et al., 2003), ενώ στο 60% από τις 260 εφαρμογές ζιζανιοκτόνων, που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη προέκυψε ρύπανση από λανθασμένο χειρισμό των φ.π. Επίσης βρέθηκε ότι το μέγεθος της εισροής φ.ο. είναι στενά συνδεδεμένο με τον αριθμό των ψεκαστικών συστημάτων. Για το λόγο αυτό το μεγαλύτερο πρόβλημα ρύπανσης λεκανών απορροής (*catchments*) από σημειακές πηγές εμφανίστηκε στις νότιες και νοτιοδυτικές περιοχές της Γερμανίας, όπου η πυκνότητα των ψεκαστικών συστημάτων εμφανίζεται υψηλότερη σε σχέση με τις βόρειες και δυτικές περιοχές (Bach et al., 2005). Αποτελέσματα μετρήσεων υπολειμμάτων φ.ο. σε νερό προερχόμενο από σημειακές πηγές ρύπανσης κατέδειξαν τον αυξημένο κίνδυνο μετακίνησης φ.ο. όταν υπάρχει σημαντική πυκνότητα ψεκαστικών συστημάτων (τυπικά >10) σε απόσταση 1 km από λεκάνες απορροής, όταν το γέμισμα του ψεκαστικού υγρού και το ξέπλυμα των ψεκαστήρων πραγματοποιείται σε επιστρωμένες (*raved*) εδαφικές επιφάνειες και όταν οι επιφάνειες αυτές είναι απευθείας συνδεδεμένες με ρέματα μέσω δημοτικών αποχετευτικών συστημάτων.

Στη Σουηδία 10ετής μελέτη σε επιφανειακά ύδατα έδειξε την παρουσία περισσότερων των 10 φ.ο. σε υψηλές συγκεντρώσεις (έως $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ για κάθε μία φ.ο.) σε περιόδους μηδενικών κατακρημνίσεων κάτι που υποδηλώνει τη σύνδεση των περιπτώσεων αυτών με ατυχήματα κατά τη φόρτωση ή το ξέπλυμα των ψεκαστικών μηχανημάτων. Μελέτη σε λεκάνη απορροής στη Σουηδία έδειξε πως συντονισμένες ενέργειες σε εθνικό και τοπικό επίπεδο οδήγησαν σε μείωση της συχνότητας των φαινομένων σημειακής ρύπανσης. Η μείωση που παρατηρήθηκε αφορά τόσο στον αριθμό των φ.ο. που ανιχνεύτηκαν όσο και στη μέγιστη συγκέντρωσή τους. Η σημαντική μείωση των επιπέδων ρύπανσης αποδόθηκε αφενός στην ενημέρωση των παραγωγών σε θέματα σωστού χειρισμού των ψεκαστικών συστημάτων και σε πρακτικές ορθής εφαρμογής τους στο αγρό και αφετέρου στη μείωση του αριθμού των παραγωγών που εφαρμόζουν φ.π. σε αυτή τη χρονική περίοδο (Kreuger and Nilsson, 2001).

Σε μελέτες στη Δανία σε χώρους που χρησιμοποιούνταν για ξέπλυμα και φόρτωση ψεκαστικών μηχανημάτων, βρέθηκε ότι σε βάθος 6-10 m στο έδαφος η συγκέντρωση των φ.ο. mecoprop και dichlorprop εμφάνιζε μέγιστες τιμές 139 και $677 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ αντίστοιχα. Στην ίδια χώρα τα ζιζανιοκτόνα 2,4-D, dichlorprop, parathion, dicuat ανιχνεύτηκαν σε υπόγεια ύδατα σε συγκεντρώσεις μέχρι και $3800 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ως αποτέλεσμα διαρροής ψεκαστικού υγρού κατά τη διάρκεια της φόρτωσης ψεκαστικών δεξαμενών (Helweg, 1994).

1.5. Ανίχνευση φ.ο. σε επιφανειακά και υπόγεια νερά στην Ελλάδα

Στην Ελλάδα η πιθανότητα έκπλυσης των φ.ο. εμφανίζεται περιορισμένη, σε σχέση με Βόρειες Ευρωπαϊκές χώρες, λόγω των σχετικά χαμηλού ύψους βροχόπτωσης στις περιόδους εφαρμογής των φ.π. καθώς και λόγω του μεγάλου βάθους του υδροφόρου ορίζοντα σε πολλές περιοχές της χώρας. Γενικά έχουν παρατηρηθεί σημαντικές εποχιακές διαφοροποιήσεις στη συχνότητα ανίχνευσης και τη μέγιστη τιμή συγκέντρωσης των φ.ο. Για παράδειγμα σε επιφανειακά νερά (λίμνες, ποταμοί) της Βορείου Ελλάδας οι τιμές ανίχνευσης των φ.ο. εμφανίστηκαν σημαντικά υψηλότερες τους μήνες Μάιο-

Ιούλιο, δηλαδή την περίοδο που ακολουθεί τις εαρινές εφαρμογές των περισσότερων φ.π. (Hela et al., 2005; Albanis et al., 1998; Albanis et al., 1994; Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, 2002; Lambropoulou et al., 2002). Οι συχνότερα απαντώμενες ουσίες στα επιφανειακά ύδατα στην Ελλάδα συνοψίστηκαν πρόσφατα από τον Konstantinou et al., (2006) και περιλαμβάνουν δύο ομάδες ουσιών: αυτές που ανιχνεύονται περιστασιακά (EPTC, metribuzin, azinphos methyl, molinate, propanil, malathion, parathion) και αυτές που ανιχνεύονται συχνά σε επιφανειακά υδατικά συστήματα (atrazine, simazine, alachlor, metolachlor, diazinon, trifluralin, parathion methyl, lindane). Η παρουσία ορισμένων μεταβολιτών έχει διαπιστωθεί επίσης σε έρευνες σε επιφανειακά νερά λιμνών και ποταμών με τον πιο συχνά ανιχνευμένο μεταβολίτη το desethylatrazine (DEA) (Vryzas et al., 2009; Hela et al., 2005; Albanis et al., 2003; Albanis et al., 1998). Τα μυκητοκτόνα δεν ανιχνεύονται συχνά στα υδάτινα περιβάλλοντα. Η απουσία ρύπανσης υδάτινων επιφανειών με μυκητοκτόνα πιθανόν σχετίζεται με το μικρό χρόνο παραμονής τους σε τέτοια περιβάλλοντα (Konstantinou et al., 2006; Readman et al., 1997). Γενικότερα, το είδος των φ.ο. που θα εμφανισθούν στα επιφανειακά νερά επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την κυρίαρχη καλλιέργεια της περιοχής, που με τη σειρά της καθορίζει την επιλογή των εφαρμοζόμενων φ.π. (Konstantinou et al., 2006; Παπαδοπούλου-Μουρκίδου 2002a) ενώ έχει βρεθεί ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ των ποσοτήτων των φ.π. που εφαρμόζονται σε μία περιοχή και των συγκεντρώσεων ανίχνευσης τους στα παρακείμενα υδροφόρα συστήματα (Kreuger 1998; Battaglin et al., 2000). Για παράδειγμα τα ζιζανιοκτόνα molinate και propanil που χρησιμοποιούνται συχνότατα στην καλλιέργεια του ρυζιού ανιχνεύτηκαν στα νερά των ποταμών που διασχίζουν περιοχές ορυζοκαλλιέργειας (Λουδίας, Στρυμόνας, Έβρος, Αξιός) σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις (Papadopoulou-Mourkidou et al., 2004). Η συχνή ανίχνευση του τριαζινικού ζιζανιοκτόνου atrazine καθώς και των χλωροακεταμιδίων alachlor, metolachlor σε επιφανειακά και υπόγεια ύδατα σχετίζεται με την ευρεία χρήση τους σε περιοχές καλλιέργειας αραβόσιπου (Papastergiou and Papadopoulou-Mourkidou 2001; Albanis et al., 1998; Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, 2002). Οργανοχλωριωμένες φ.ο. που χρησιμοποιήθηκαν ευρύτατα πριν το 1972 όπως hexachlorocyclohexane, aldrin, dieldrin, endosulfan, lindane, benzene hexachloride, heptachlor ανιχνεύονται συχνά σε επιφανειακά ύδατα (Albanis et al., 1998; Albanis et al., 1994; Golfopoulos et al., 2003; Konstantinou et al., 2006; Vryzas et al., 2009).

Γενικά δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα και μελέτες που να καταδεικνύουν τη σχετική συνεισφορά σημειακών και μη σημειακών πηγών στην συνολική ρύπανση επιφανειακών και υπόγειων υδατοσυλλογών στην Ελλάδα. Ειδική περίπτωση σημειακής ρύπανσης αποτέλεσε η ανίχνευση υψηλών συγκεντρώσεων εξαχλωροκυκλοεξανίου στα νερά του ποταμού Αξιού κατά τη περίοδο 1992-1998 η οποία αποδόθηκε στην απόρριψη βιομηχανικών αποβλήτων από εργοστάσιο στη FYROM (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, 2001). Η σημαντική υποβάθμιση της ποιότητας νερού του ποταμού αυτού οφειλόταν κυρίως σε σημειακές πηγές ρύπανσης που βρίσκονται εκτός Ελλάδος, αλλά το συνολικό φορτίο ρύπων του ποταμού αυξάνονταν κατά την ροή του στην Ελλάδα κυρίως λόγω αγροτικών δραστηριοτήτων. Για τη μείωση της από σημειακές πηγές ρύπανσης των υδάτινων αποδεκτών στην ευρύτερη περιοχή Μακεδονίας και Θράκης προτάθηκε η χρήση πιλοτικών βιοκλιτών (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, 2002)

Μέτρα περιορισμού της από σημειακές πηγές ρύπανσης του νερού

2.1. Διαδικασίες περιορισμού της ρύπανσης

Οι διαδικασίες περιορισμού της ρύπανσης (*mitigation*) χρησιμοποιείται για να εκφράσει τη μείωση κινδύνου (*risk reduction*) από τη χρήση φ.π. και συνδυάζει όλα τα δυνατά μέτρα που οδηγούν σε μείωση της έκθεσης ή/και των επιπτώσεων. Όσο αφορά τους υδάτινους αποδέκτες οι διαδικασίες περιορισμού της ρύπανσης περιλαμβάνουν ταυτόχρονη μείωση των εισροών από σημειακές και μη-σημειακές πηγές. Οι διαδικασίες περιορισμού της ρύπανσης θα πρέπει να περιλαμβάνουν μεθοδολογίες και δράσεις μειωμένου κόστους και συστήματα εύκολα στην κατασκευή και στο χειρισμό, χωρίς σημαντικές τεχνολογικές απαιτήσεις. Μαζί με την αποτελεσματικότητα των διάφορων μέτρων θα πρέπει να συνεκτιμάται η εφαρμοσιμότητα και η πρακτικότητα τους (Reichenberger et al., 2007).

2.2. Μέτρα για τον περιορισμό της από σημειακές πηγές ρύπανσης

Γενικά η ρύπανση από σημειακές πηγές θεωρείται πιο εύκολη στο χειρισμό και την αντιμετώπιση σε σχέση με την προερχόμενη από μη-σημειακές πηγές. Και αυτό γιατί οι εισροές των φ.ο. από σημειακές πηγές μπορεί θεωρητικά να μειωθούν στο μηδέν εφόσον η χρήση των φ.π. πραγματοποιείται σύμφωνα με τους κανόνες ορθής γεωργικής πρακτικής. Η Ευρωπαϊκή σύμπραξη για την προστασία των καλλιεργειών (ECPA) θεωρεί πως η πιο αποτελεσματική προσέγγιση του ζητήματος της προστασίας του περιβάλλοντος από φ.ο. είναι στοχευμένες ενέργειες για την ανεύρεση και αντιμετώπιση πιθανών πηγών ρύπανσης από ακατάλληλες δραστηριότητες της γεωργικής πρακτικής (ECPA, 2003). Αυτό μπορεί να επιτευχθεί μέσω βελτιωμένων πρακτικών διαχείρισης υπολειμμάτων στον αγρό, αναβαθμισμένων υποδομών και εξοπλισμού και προσέγγιση για συνεργασία μεταξύ των εμπλεκόμενων φορέων (εταιρίες αγροχημικών, χειριστές ψεκαστών συστημάτων και εταιρίες νερού) (Kreuger and Nilsson, 2001). Στις στρατηγικές μείωσης της ρύπανσης από σημειακές πηγές περιλαμβάνονται:

- Εκπαιδευτικές προτάσεις για ενημέρωση, πιστοποίηση και διαρκή εκπαίδευση των παραγωγών. Υπάρχουν πολυάριθμοι ευρωπαϊκοί και εθνικοί κανονισμοί, κώδικες πρακτικής και συμβουλευτικές πληροφορίες σχετικά με την ορθή χρήση των φ.π. Μερικές από τις πληροφορίες αυτές όμως είναι συγκεχυμένες ή ανοιχτές σε διαφορετική προσωπική ερμηνεία. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη η ενημέρωση των παραγωγών σε θέματα χειρισμού και σωστής εφαρμογής των φ.π. καθώς και ενθάρρυνση τους να ενσωματώσουν μέτρα περιορισμού των απωλειών από τη χρήση φ.π. τόσο στον αγρό όσο και στους χώρους αποθήκευσης ή χειρισμού. Η στρατηγική αυτή έχει θεμελιωθεί με εκστρατείες ενημέρωσης των παραγωγών (Fischer et al., 1996; Kreuger and Nilsson, 2001; Frede et al., 1998) και προγράμματα δράσεων (Saethre et al., 1999; Kreuger and Nilson, 2001) σε πολλές Ευρωπαϊκές χώρες. Παραδείγματα τέτοιων δράσεων είναι τα προγράμματα Voluntary Initiative (www.voluntaryinitiative.org.uk), ECPA (ECPA, 2003) και TOPPS (www.topps-life.org) που αποσκοπούν στην εξεύρεση και διάδοση συμβουλών, εκπαίδευση και παροχή πληροφοριών στοχεύοντας σε ένα ευρύτερο πεδίο συνεργασίας των εμπλεκόμενων φορέων με τελικό στόχο τη μείωση των απωλειών των φ.π. προς επιφανειακά και υπόγεια ύδατα. Τέτοιες πρωτοβουλίες οδήγησαν σε μείωση του συνολικού όγκου των ψεκαστικών υγρών που καταλήγουν στο υδάτινο περιβάλλον σε ποσοστό που κυμαίνεται από 20 έως 80% (Fischer et al., 1996; Kreuger and Nilsson, 2001; Gerecke et al., 2002). Παρόλα αυτά οι παραπάνω πρωτοβουλίες, σε μακροπρόθεσμο ορίζοντα, δεν ήταν πάντα αποτελεσματικές. Έτσι περισσότερη έρευνα πρέπει να επικεντρωθεί στους κρίσιμους παράγοντες επιτυχίας (*critical success factors*) και στην αλληλεπίδραση αυτών (Reichenberger et al., 2007)
- Ο καθαρισμός των ψεκαστικών συστημάτων να πραγματοποιείται απευθείας στον αγρό (Gerecke et al., 2002; Campbell et al., 2004). Η διάλυση των υπολειμμάτων της δεξαμενής των ψεκαστικών σε μεγάλο όγκο νερού και η απόχυση τους εντός του αγρού δεν θεωρείται απειλή για το περιβάλλον αρκεί να γίνεται εντός των ορίων του αγρού και σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του κάθε σκευάσματος. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα αυτού του μέτρου είναι το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ εφαρμογής και καθαρισμού, το πρωτόκολλο καθαρισμού που ακολουθείται, η επιλογή των ακροφυσίων, η ενεργός δραστική ουσία, η μορφή τυποποίησης και ο όγκος του ψεκαστικού υγρού (Ramwell et al., 2004)
- Οι δραστηριότητες που σχετίζονται με το γέμισμα, άδειασμα και πλύσιμο των ψεκαστικών συστημάτων να πραγματοποιούνται σε αυστηρά οριοθετημένη περιοχή ώστε να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα τυχαίων διαρροών. Η προσέγγιση αυτή έχει ως πλεονέκτημα τη δημιουργία προστατευμένου περιβάλλοντος που εξυπηρετεί την ασφαλή αποθήκευση των φ.π., την παροχή νερού, προστατευτικού ατομικού εξοπλισμού και πρώτων βοηθειών (Reichenberger et al., 2007)
- Η διάθεση των υπολειμμάτων των ψεκαστικών δεξαμενών να πραγματοποιείται σε ακαλλιέργητες περιοχές μικρού οικολογικού ενδιαφέροντος, με ελάχιστο κίνδυνο για το περιβάλλον
- Η συλλογή των ακάθαρτων υδάτων και η ανακύκλωση τους ως μέσο διάλυσης στον επόμενο ψεκασμό εφόσον η επαναδιάθεση του ψεκαστικού υγρού στον αγρό δεν είναι εφικτή. Απαραίτητη προϋπόθεση για την ανακύκλωση είναι η ύπαρξη δεξαμενής για την αποθήκευση του νερού. Δυσκολίες στην ανακύκλωση του νερού προκύπτουν από την έλλειψη συμβατότητας μεταξύ διαφορετικών φ.π. Η αναλογία φρέσκου και ανακυκλωμένου νερού στο νέο ψεκαστικό διάλυμα πρέπει να είναι τέτοια ώστε να αποφευχθεί εκδήλωση φυτοτοξικότητας (Felsot et al., 2003)
- Η συλλογή των άδειων συσκευασιών των σκευασμάτων φ.π. από εξουσιοδοτημένα συνεργεία

- Υποχρεωτικός έλεγχος όλων των ψεκαστικών συστημάτων. Παράδειγμα τέτοιας δράσης υπάρχει στο Βέλγιο, όπου από το 1995 είναι υποχρεωτική η επιθεώρηση των ψεκαστικών συστημάτων κάθε 3 χρόνια (Jaeken and Debaer, 2005)
- Η αποκατάσταση (*remediation*) ως εναλλακτική προσέγγιση του χειρισμού των υπολειμμάτων

2.3. Αποκατάσταση

Οι περιβαλλοντικές τεχνολογίες αποκατάστασης περιλαμβάνουν φυσικές, χημικές ή βιολογικές διεργασίες με σκοπό την εξαφάνιση, μείωση, απομόνωση ή σταθεροποίηση ενός οργανικού ρύπου ή μιας ομάδας ρύπων. Ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη τεχνολογία το σύνολο των διεργασιών αυτών μπορεί να λάβει χώρα στο σημείο ρύπανσης (*in situ*) ή σε άλλη τοποθεσία στην οποία έχει μεταφερθεί το υπόστρωμα (έδαφος ή νερό) για απορρύπανση (*ex situ*) (Gavrilescu, 2005).

2.3.1. Βιοαποκατάσταση

Ως βιοαποκατάσταση (*bioremediation*) ορίζεται η διαδικασία βιολογικής απομάκρυνσης οργανικών και ανόργανων ρύπων κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες με τη βοήθεια μικροοργανισμών ή των ένζυμων τους με τελικό στόχο τη μείωση της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων σε αποδεκτά από τη νομοθεσία επίπεδα. Λόγω της ταχείας ανάπτυξης της βιοτεχνολογίας η βιοαποκατάσταση αποτελεί ένα από τα πλέον ταχέως αναπτυσσόμενα πεδία περιβαλλοντικής αποκατάστασης. Σε ιδανικές περιπτώσεις η βιοαποκατάσταση οδηγεί σε πλήρη ανοργανοποίηση των οργανικών ουσιών σε νερό και CO₂ χωρίς το σχηματισμό ενδιάμεσων μεταβολιτών.

Η βιοαποκατάσταση μπορεί να περιλαμβάνει:

- Διέγερση της δραστηριότητας των ενδογενών αποδομητικών μικροοργανισμών με τη προσθήκη θρεπτικών συστατικών, πηγών άνθρακα ή κάποιου δότη ηλεκτρονίων ή βελτιστοποίηση της τιμής του pH (βιοενεργοποίηση, *biostimulation*),
- Προσθήκη μικροβιακού εμβολίου με δεδομένη αποδομητική ικανότητα (βιολογικός εμπλουτισμός, *bioaugmentation*). Στην περίπτωση αυτή το εμβόλιο μπορεί να προέρχεται από την ενδογενή μικροβιακή κοινότητα ή να είναι προϊόν γενετικής τροποποίησης. Σε ορισμένες περιπτώσεις διαφορετικοί μικροοργανισμοί που αντιπροσωπεύουν διαφορετικούς αποδομητικούς μηχανισμούς έχουν χρησιμοποιηθεί ταυτόχρονα καθώς εμφανίζουν συνεργιστική δράση (Lee et al., 1994). Η βιοαποκατάσταση φορτισμένων με ρύπους υποστρωμάτων με τη χρήση μυκήτων λευκής σήψης αποτελεί μια εναλλακτική τεχνολογία που μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο σε *in situ* όσο και σε *ex situ* συστήματα (Frazar, 2000).
- Προσθήκη ακινητοποιημένων ένζυμων. Η απομόνωση ένζυμων, ακινητοποιημένων σε κατάλληλο υπόστρωμα έχει χρησιμοποιηθεί σε βιοαντιδραστήρες (*bioreactors*) για την αποδόμηση φ.ο. Για παράδειγμα η μερικώς καθαρή φωσφοτριεστεράση, ακινητοποιημένη σε αγαρόζη χρησιμοποιήθηκε για την υδρόλυση οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων (Caldwell and Raushel, 1991).
- Στις τεχνικές βιοαποκατάστασης που αφορούν την *in situ* τεχνολογία περιλαμβάνονται η προσθήκη οξυγόνου (*bioventing*), διάφοροι μέθοδοι κομποστοποίησης και η βιοδιέγερση (*biostimulation*). Χρησιμοποιούνται συνήθως για αποκατάσταση εδαφών από υπολείμματα ρύπων καθώς απαιτείται μικρότερος εξοπλισμός, έχουν μικρότερο κόστος και δημιουργούν μικρότερες διαταράξεις στο περιβάλλον (Frazar, 2000). Η *ex situ* τεχνολογία βιοαποκατάστασης

χρησιμοποιείται περισσότερο για αποκατάσταση νερού που περιέχει οργανικούς ρύπους όπως φ.ο. και λιγότερο για αποκατάσταση εδαφών, κυρίως λόγω του αυξημένου κόστους μεταφοράς και χειρισμού του εδάφους.

2.3.2. Φυτοαποκατάσταση

Ο όρος φυτοαποκατάσταση (*phyto-remediation*) χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη χρήση φυτών στον περιορισμό των επιπτώσεων της ρύπανσης. Είναι μια περιορισμένου κόστους τεχνική κατάλληλη για αποκατάσταση μεγάλων εκτάσεων με σχετικά περιορισμένη συγκέντρωση υπολειμμάτων. Περιλαμβάνει τη χρήση φυτών με αυξημένη ικανότητα πρόσληψης και ακινητοποίησης σημαντικών ποσοτήτων διαφόρων ουσιών στις ρίζες, στους βλαστούς και στα φύλλα. Οι ουσίες έτσι απομακρύνονται από το έδαφος ή τον υδάτινο αποδέκτη με τη συγκομιδή των φυτών. Η τεχνική αυτή μπορεί να οδηγήσει μέχρι και σε 95% μείωση των επιπέδων των υπολειμμάτων. Φυτική μετατροπή (*phyto-transformation*) προκύπτει όταν τα φυτά μετατρέπουν τους οργανικούς ρύπους σε λιγότερο τοξικά ή υπολειμματικά μόρια. Η φυτική μετατροπή περιλαμβάνει τη φυτική αποδόμηση (*phyto-degradation*), που είναι ο μεταβολισμός των οργανικών ρύπων από ένζυμα του φυτού και την φυτοεξάτμιση (*phyto-volatilization*), που αφορά τη μεταφορά των οργανικών ουσιών στην ατμόσφαιρα μέσω της διεργασίας της διαπνοής. Στη φυτική σταθεροποίηση (*phyto-stabilization*), οι ουσίες ακινητοποιούνται μέσω ισχυρής προσρόφησης ή πρόσδεσης (*binding*) σε φυτικούς ιστούς. Επίσης η περιοχή της ριζόσφαιρας συνήθως είναι ιδανικό περιβάλλον για ανάπτυξη σημαντικού μικροβιακού πληθυσμού. Σε αυτή την περιοχή υψηλής μεταβολικής δραστηριότητας οι ρυθμοί αποδόμησης εμφανίζονται εντονότεροι σε σχέση με αλλα σημεία του εδάφους. Συνήθως τα φυτά δεν συμμετέχουν άμεσα στην πορεία αποδόμησης, αλλά συμβάλλουν στην αύξηση της συνολικής μικροβιακής δραστηριότητας, γεγονός που βελτιώνει την ικανότητα αποδόμησης (Frazar, 2000). Για παράδειγμα, αυξημένος ρυθμός αποδόμησης των ζιζανιοκτόνων atrazine, metolachlor και trifluralin παρατηρήθηκε σε εδάφη με φυτά του γένους *Kochia sp.* Αυξημένη αποδομητική δραστηριότητα παρατηρήθηκε στη ριζόσφαιρα των φυτών γεγονός που υποδηλώνει αλληλεπίδραση μεταξύ φυτού, φ.ο. και μικροοργανισμών (Coats and Anderson, 1997).

2.4. Συστήματα και τεχνικές απορρύπανσης νερού

Τα υπολείμματα ψεκαστικού υγρού (*diluted pesticide formulation*) καθώς και το νερό από το ξέπλυμα και τον καθαρισμό των ψεκαστικών συστημάτων (*rinsing water*) περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις φ.ο. οι οποίες μπορούν να καταλήξουν σε επιφανειακούς ή υπογείους υδάτινους αποδέκτες. Η διάθεση ενός τόσο μεγάλου όγκου φορτισμένου με φ.ο. νερού (*wastewater*) είναι δυσχερής. Για την εξοάλυνση του κινδύνου κατάληξης των υπολειμμάτων σε υδροφόρα συστήματα διάφορες διεργασίες φυσικού, χημικού ή με βιολογική μεσολάβηση καθαρισμού έχουν προταθεί και χρησιμοποιηθεί σε πειραματική κλίμακα ή βρήκαν πρακτική εφαρμογή σε χώρους αποθήκευσης, τυποποίησης και χειρισμού φ.π.

2.4.1. Συστήματα απορρύπανσης νερού μέσω φυσικών διεργασιών

2.4.1.1. Αποτέφρωση

Η αποτέφρωση (*incineration*) έχει χρησιμοποιηθεί συχνά στο παρελθόν για σκοπούς βιοαποκατάστασης. Χρησιμοποιείται κυρίως για την αποκατάσταση εδαφών και ιζημάτων αλλά έχει χρησιμοποιηθεί και για την απορρύπανση του νερού, ιδιαίτερα όταν αυτό περιέχει μεγάλες συγκεντρώσεις φ.ο. Η τεχνική βασίζεται στην οξειδωση των ουσιών με παροχή θερμότητας και οξυγόνου. Το πρώτο στάδιο της αποτέφρωσης περιλαμβάνει θέρμανση του υποστρώματος σε θερμοκρασίες 530 έως 870 °C που οδηγεί σε πτητικοποίηση και σε μερική οξειδωση των ουσιών. Το δεύτερο στάδιο πραγματοποιείται σε υψηλότερες θερμοκρασίες (870-1200 °C) και οδηγεί σε πλήρη καταστροφή των ουσιών. Πλεονέκτημα της μεθόδου είναι η σχεδόν ολική καταστροφή των ρύπων αλλά το υψηλό κόστος λειτουργίας και οι ειδικές εγκαταστάσεις που απαιτούνται περιορίζουν το εύρος χρήσεων των συστημάτων αυτών για λόγους αποκατάστασης (Frazar, 2000)

2.4.1.2. Κλίνες εξατμισοδιαπνοής

Η κλίνη εξατμισοδιαπνοής (*evapotranspiration beds*) είναι μια μέθοδος χειρισμού και διάθεσης νερού υποβαθμισμένου από την παρουσία υπολειμμάτων οργανικών ουσιών. Στηρίζεται στην απομάκρυνση του ρυπασμένου νερού στην ατμόσφαιρα αφενός με τη διαδικασία της πτητικοποίησης από την επιφάνεια του εδάφους καθώς επίσης και μέσω της φυσιολογικής λειτουργίας της διαπνοής από τη φυτά που καλύπτουν την επιφάνεια των κλινών. Για τη λειτουργία της απαιτείται διαβάθμιση της πίεσης ατμών μεταξύ της επιφάνειας εξάτμισης και της ατμόσφαιρας και συνεχή διαβροχή της επιφάνειας εξάτμισης και επομένως είναι μια μέθοδος που ενδείκνυται για εφαρμογή σε ξηρά ή ημίξηρα κλίματα (Fogg et al., 2005). Ο ρυθμός μείωσης των υπολειμμάτων από τις κλίνες εξατμισοδιαπνοής εξαρτάται από τη μορφή τυποποίησης του σκευάσματος, την παρουσία ελαίων, την ποσότητα νερού που περιέχεται εντός της κλίνης, τη διαλυτότητα των φ.ο. και τη βιολογική δραστηριότητα του εδάφους. Οι ακριβείς διαστάσεις της κλίνης καθορίζονται από τον αναμενόμενο ρυθμό εξάτμισης του νερού και το μέσο ρυθμό εναπόθεσης των ρύπων στην κλίνη. Σημαντικό μειονέκτημα των κλινών αυτών είναι ο κίνδυνος μείωσης της αποτελεσματικότητας τους από ένα συνδυασμό κατάκλισης μετά από ισχυρή βροχόπτωση, χαμηλών θερμοκρασιών και συχνής ή παρατεταμένης χρήσης. Στα πλεονεκτήματα του συστήματος αναφέρεται το χαμηλό κόστος της κατασκευής, ο μεγάλος όγκος νερού που μπορεί να διαχειριστεί και η απουσία συσσώρευσης των ουσιών ακόμη και μετά από 6-10 έτη συνεχούς λειτουργίας (Winterlin et al., 1984)

2.4.1.3. Συστήματα εξάτμισης νερού

Το σύστημα περιλαμβάνει τη συλλογή του ρυπασμένου νερού εντός λεπτού, μαύρου πλαστικού φύλλου και η έκθεση του σε σημεία με έντονη ηλιοφάνεια. Με την εξάτμιση όλης της ποσότητας νερού το πλαστικό διπλώνεται και οδηγείται για καταστροφή σε εξουσιοδοτημένο συνεργείο αποκομιδής αποβλήτων. Λόγω της εξάρτησης της απομάκρυνσης του νερού από τις ημέρες ηλιοφάνειας η μέθοδος εμφανίζει καλύτερα αποτελέσματα σε νότιες Ευρωπαϊκές χώρες (Jaecken and Debaer, 2005).

2.4.1.4. Συστήματα διήθησης

Η χρήση διηθητικών μέσων είναι από τις πιο γνωστές μεθόδους απορρύπανσης του νερού από επιβλαβείς ρύπους. Η αποτελεσματικότητα της διήθησης εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του διηθητικού μέσου όπως μέγεθος σωματιδίων και πόρων, ελεύθερη ειδική επιφάνεια, διαλυτότητα των ρύπων και συνάφεια του ρύπου με το υλικό πλήρωσης του φίλτρου (De Wilde, 2009). Το διηθητικό μέσο μπορεί να είναι ενεργός άνθρακας ή κάποιο πολυμερές υλικό με τη μορφή σκόνης, κόκκων, ινών ή συσσωματωμάτων (Kyriakopoulos and Doulija, 2006). Ο ενεργός άνθρακας (*activated carbon*) παράγεται από ποικίλες οργανικές πρώτες ύλες όπως ξύλο, λιγνίτη ή παραπροϊόντα της χαρτοβιομηχανίας, τα οποία αφυδατώνονται, απανθρακώνονται απουσία οξυγόνου (650 °C) και οξειδώνονται στους 850 °C. Αποτέλεσμα των διεργασιών αυτών είναι η αύξηση της προσροφητικής ικανότητας του άνθρακα λόγω της μεγάλης ειδικής επιφάνειας και του μεγάλου αριθμού εσωτερικών πόρων ανά μονάδα μάζας. Η προσρόφηση σε ενεργοποιημένο άνθρακα ενδείκνυται για φ.ο. με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά όπως παρουσία αρωματικών ομάδων, μεγάλο μοριακό βάρος και μικρή υδατοδιαλυτότητα. Άλλα υλικά που έχουν χρησιμοποιηθεί ως προσροφητικά υλικά περιλαμβάνουν το εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης μανιταριών (SMS) και την τύρφη (αυτούσια ή μετά από επεξεργασία) (Kuo and Regan, 1998). Μια άλλη υποκατηγορία συστημάτων διήθησης είναι τα συστήματα αντίστροφης όσμωσης. Η τεχνική αυτή στηρίζεται στη μεταφορά του νερού διαμέσω ημιδιαπερατής μεμβράνης. Τα κατάλοιπα (*leftovers*) του υλικού φιλτραρίσματος, ως ειδικά εργοστασιακά απόβλητα, θα πρέπει να έχουν τον κατάλληλο χειρισμό (Jaecken and Debaer, 2005)

Τα συστήματα φιλτραρίσματος *Sentinel* και *Carbo-Flo*, σχεδιάστηκαν για την απομάκρυνση μιας φ.ο. ή μίγματος φ.ο. που βρίσκονται διαλυμένα σε νερό. Βρίσκονται σε λειτουργία για περισσότερα από 20 χρόνια, σε περισσότερες από 35 χώρες με ευρεία χρήση σε βιομηχανίες παρασκευής και τυποποίησης φ.π. (Maaskant, 1993). Προϋπόθεση για την χρήση τους είναι το ποσοστό των εν διαλύσει ουσιών να μην υπερβαίνει το 0,3%. Η διαδικασία απορρύπανσης του νερού είναι τριφασική. Το αρχικό στάδιο καθαρισμού περιλαμβάνει ανακίνηση για διάστημα μερικών λεπτών και ακολούθως κροκίδωση (*coagulation*) ή συσσωμάτωση (*flocculation*) των φ.ο. και άλλων οργανικών συστατικών, με χημικά μέσα ή με τη διοχέτευση ηλεκτρικού ρεύματος, με αποτέλεσμα το διαχωρισμό των στερεών αποβλήτων που καταλήγουν στον πυθμένα της δεξαμενής από το υπερκείμενο υγρό. Στη συνέχεια το υπερκείμενο υγρό διηθείται διαμέσου δύο διαδοχικών φίλτρων ενεργού άνθρακα. Τα φίλτρα αυτά είναι ικανά να φιλτράρουν ποσότητες νερού που ξεπερνούν τα 20.000 L (Maaskant, 1993). Το σύστημα είναι ικανό να απομακρύνει το 99,9% των φ.ο. που περιέχονται στο νερό (Fogg et al., 2001; Harris et al., 1991). Το υψηλό όμως κόστος εγκατάστασης και λειτουργίας καθιστά απαγορευτική τη χρήση του συστήματος για χειρισμό υπολειμμάτων φ.ο. στο αγρό (Rose et al., 2003; Fogg et al., 2000). Θεωρείται όμως κατάλληλη μέθοδος χειρισμού των υπολειμμάτων που προκύπτουν από τη μετασυλλεκτική επεξεργασία φρούτων και λαχανικών λόγω των τεράστιων ποσοτήτων νερού που παράγονται (Clevering et al., 2007).

2.4.2. Συστήματα απορρύπανσης νερού μέσω χημικών διεργασιών

2.4.2.1. Συστήματα αποδόμησης ουσιών μέσω οξειδωσης

Η χημική οξειδωση τροποποιεί τη δομή των ρύπων προς λιγότερο επιβλαβείς ουσίες με την προσθήκη κάποιου οξειδωτικού παράγοντα. Ο σχηματισμός ριζών OH υψηλής ενεργότητας (*highly reactive radicals*) επιταχύνει την πορεία μη-εκλεκτικής αποδόμησης μιας μεγάλης ποικιλίας χημικών ουσιών συμπεριλαμβανομένων και των φ.ο. (Jaecken and Debaer, 2005). Τα οξειδωτικά μέσα που έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς περιλαμβάνουν το υποχλωριώδες νάτριο, το υπεροξειδίο του υδρογόνου, το όζον, το υπερμαγγανικό κάλιο, σιδηρούχα άλατα (αντιδραστήρια Fenton) και το διοξειδίο του τιτανίου με τη χρήση ή όχι υπεριώδους ακτινοβολίας.

Οζονισμός (ozonation)

Το όζον είναι ισχυρή οξειδωτική ουσία η οποία παρουσία UV ακτινοβολίας ή H_2O_2 οδηγεί στο σχηματισμό υδροξυλιωμένων ριζών (*hydroxy radicals*). Η παρουσία των ριζών οδηγεί σε οξειδωτική διάσπαση διαφόρων οργανικών ρύπων συνήθως εντός μερικών λεπτών. Οι τυπικές αντιδράσεις οζονισμού περιλαμβάνουν σπάσιμο δακτυλίων, απαλκυλίωσεις και οξείδωση (Felsot et al., 2003). Στη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί η αποδόμηση περισσότερων από 30 φ.ο. από διάφορα συστήματα απορρύπανσης που στηρίζονται στον οζονισμό (Reynolds et al., 1989). Η χρήση του όζοντος επέτρεψε την απορρύπανση νερού φορτισμένου με το ζιζανιοκτόνο atrazine με την οξειδωτική διεργασία να ευνοείται σε υψηλές τιμές pH (Kearney et al., 1988). Σε άλλη εργασία η διάσπαση ενός μίγματος 11 φ.ο. επιτεύχθηκε με οζονισμό παρουσία UV ακτινοβολίας. Ο ρυθμός αποδόμησης των ουσιών στην περίπτωση αυτή ήταν αντιστρόφως ανάλογος της συγκέντρωσης των ουσιών στο νερό (Kearney et al., 1987). Η ίδια μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί για τη απορρύπανση νερού από φαινοξυαλκανοικά ζιζανιοκτόνα πλην του 2,4,5-T, το οποίο εμφανίζει μια σχετική αντοχή στη οξειδωτική διάσπαση. Γενικά τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα είναι πιο ευάλωτα σε οξειδωτική διάσπαση παρουσία όζοντος σε σχέση με τα οργανοχλωριωμένα. Σημαντική ικανότητα οζονισμού εμφανίζουν και οι φ.ο. που περιέχουν φαινολικό δακτύλιο στο μόριο τους (Reynolds et al., 1989).

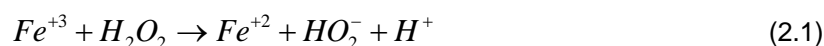
Φωτοκαταλυόμενη οξείδωση παρουσίας TiO_2

Η ετερογενής φωτοκατάλυση (*photocatalytic oxidation*) παρουσία διοξειδίου του τιτανίου έχει αποδειχθεί ότι απομακρύνει με ευκολία μια μεγάλη ποικιλία οργανικών ρύπων συμπεριλαμβανομένων των φ.ο. από το νερό. Το TiO_2 είναι ημιαγωγός ο οποίος όταν δεχθεί ακτινοβολία ένα ηλεκτρόνιο του μεταπίπτει από τη ζώνη σθένους (*valence band*) στην ζώνη αγωγιμότητας (*conduction band*) (Muszkat 1998). Στη μορφή αυτή είναι ικανό για οξείδωση δοτών ηλεκτρονίων όπως H_2O ή OH^- δημιουργώντας ρίζες OH , οι οποίες αντιδρούν ταχύτατα με οργανικές ενώσεις στο υδατικό διάλυμα. Για την επιτυχία της μεθόδου αυτής είναι απαραίτητη η παρεμβολή ενός αρχικού σταδίου φιλτραρίσματος για την απομάκρυνση μετάλλων, όπως ο χαλκός και το αλουμίνιο, που παρεμβάλλονται στην πορεία οξείδωσης. Η ικανότητα αποτελεσματικής απομάκρυνσης φ.ο. με το σύστημα αυτό αποδείχθηκε σε έρευνα με τη χρησιμοποίηση 4 τριαζιλικών και 4 οργανοφωσφορικών ουσιών. Στην περίπτωση αυτή οι εκτιμώμενοι χρόνοι ημιζωής των ουσιών ήταν 10 έως 38 λεπτά (Konstantinou et al., 2001). Η φωτοκαταλυόμενη οξείδωση του carbaryl οδήγησε σε πλήρη ανοργανοποίηση της ουσίας σε CO_2 εντός μιας ώρας από την εκκίνηση της αντίδρασης (Paramauro et

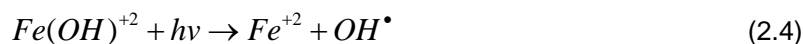
al., 1997). Η ίδια δοκιμή οξειδωσης έχει χρησιμοποιηθεί για την απομάκρυνση των ουσιών chlorothalonil και dichlofluanid από νερό (Sakkas and Albanis, 2003). Η πλήρης αποδόμηση των δύο ουσιών επιτεύχθηκε εντός 90 και 20 λεπτών αντίστοιχα, με πλήρη μετατροπή του συνόλου του οργανικού άνθρακα σε CO₂ μετά από μερικές ώρες συνεχούς ακτινοβολίας. Η φωτοκαταλυτική αντίδραση δεν επηρεάζεται από την παρουσία επιφανειοδραστικών ουσιών και επομένως το σύστημα μπορεί να έχει εφαρμογή και στην περίπτωση απορρύπανσης πυκνών διαλυμάτων φ.π. (Prevot et al., 1999).

Αντίδραση Fenton

Η αντίδραση Fenton είναι μια από τις πιο αποτελεσματικές μεθόδους απομάκρυνσης οργανικών ρύπων και είναι ιδιαίτερα κατάλληλη για την οξείδωση ουσιών που περιέχουν ετεροάτομα με ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων όπως πολλές φ.ο. (Felsot et al., 2003). Οι ρίζες υδροξυλίου που είναι απαραίτητες για την εκκίνηση της οξειδωτικής διεργασίας παράγονται από το H₂O₂ παρουσία ιόντων Fe²⁺ που λειτουργούν ως καταλύτες. Παρουσία αλάτων του σιδήρου η παραγωγή των ελεύθερων ριζών OH ακολουθεί δύο στάδια: ένα αργό αρχικό στάδιο (εξίσωση 2.1) που ακολουθείται από αντίδραση μεταξύ του παραγόμενου ιόντος σιδήρου με υπεροξείδιο του υδρογόνου (εξίσωση 2.2). Παράγοντες που επηρεάζουν την πορεία οξειδωσης είναι η παρουσία H₂O₂ και η τιμή του pH που πρέπει να βρίσκεται στο εύρος 3 έως 5. Η φωτοκαταλυόμενη αντίδραση Fenton έχει αποδειχθεί αποτελεσματική για την απορρύπανση εμπορικών σκευασμάτων όσο και καθαρής δραστικής ουσίας εκτός των περιπτώσεων που η ουσία τυποποιείται με τη μορφή μικροκάψουλων ελεγχόμενης απελευθέρωσης με βάση πολυμερή υλικά που μπορεί να επηρεάσουν την ταχύτητα της αντίδρασης (Huston and Pignatello, 1999)



Η αντίδραση των ιόντων σιδήρου με το H₂O₂ μπορεί να συμβεί και παρουσία UV ακτινοβολίας με αποτέλεσμα το σχηματισμό συμπλόκων Fe(OH)⁺² (εξίσωση 2.3) και σταδιακά ριζών υδροξυλίου (*photoassisted Fenton reaction*) (εξίσωση 2.4) (Huston and Pignatello, 1999)



Εξέλιξη των συστημάτων που στηρίζονται στην οξειδωτική αντίδραση Fenton είναι η χρήση μικροοργανισμών που παράγουν H₂O₂. Πλεονεκτήματα ενός τέτοιου συστήματος είναι η λειτουργία σε ουδέτερες τιμές pH και η μη απαίτηση για εξωγενές H₂O₂ και υπεριώδη ακτινοβολία (McKinzi and Dichristina, 1999).

2.4.2.2. Συστήματα αποδόμησης ουσιών μέσω υδρολυτικών διεργασιών

Η αβιοτική υδρόλυση έχει χρησιμοποιηθεί για την απορρύπανση μεγάλων ποσοτήτων φορτισμένων με ρύπους υδάτων. Οι αντιδράσεις υδρόλυσης καταλύονται σε αλκαλικό ή όξινο pH ανάλογα με τις

ιδιότητες του μορίου. Στα συστήματα αυτά η ταχύτητα της υδρολυτικής αντίδρασης αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας (Jia et al., 2006).

2.4.2.3. Απομάκρυνση ρύπων μέσω καταβύθισης

Η καταβύθιση ή καθίζηση (*precipitation*) είναι ταυτόχρονα φυσική και χημική διεργασία που εφαρμόζεται στην επεξεργασία του νερού. Πρόκειται για διεργασία απομάκρυνσης ορισμένων ανεπιθύμητων συστατικών του νερού με σχηματισμό αδιάλυτων ενώσεων. Η καθίζηση των διαφόρων συστατικών μπορεί να επιτευχθεί με μεταβολή του pH και πιο συχνά με προσθήκη κατάλληλων αντιδραστηρίων. Η πορεία καθίζησης συνήθως ακολουθεί 4 στάδια: α) προσθήκη του χημικού παράγοντα στο νερό β) έντονη ανάμιξη για ομοιόμορφη κατανομή του παράγοντα καθίζησης γ) ήπια ανάμιξη που ευνοεί τη συσσωμάτωση και δ) φιλτράρισμα ή παραμονή σε ηρεμία για απομάκρυνση των συσσωματωμάτων (EPA, 1998a).

2.4.3. Συστήματα απορρύπανσης νερού μέσω βιολογικών διεργασιών

2.4.3.1. Σύστημα Reedbed

Τα συστήματα Reedbed έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά στο χειρισμό βιομηχανικών, γεωργικών και αστικών ρύπων μεταξύ των οποίων και σημαντικού αριθμού φ.ο. (Revitt et al., 1997). Ο μηχανισμός απορρύπανσης του νερού στο σύστημα αυτό είναι ένας συνδυασμός χημικών, φυσικών και βιολογικών διεργασιών. Η λειτουργία της κλίνης στηρίζεται στο πέρασμα του νερού μέσα από υπόστρωμα που τυπικά αποτελείται από άμμο, χαλίκια και αργιλώδες έδαφος, στο οποίο αναπτύσσονται υδροχαρή φυτά του είδους *Phragmites australis*. Το είδος αυτό αναπτύσσεται ταχύτατα και ευδοκμεί σε μεγάλο εύρος κλιματικών συνθηκών. Η επιλογή του κατάλληλου υποστρώματος ανάπτυξης των φυτών είναι θεμελιώδης για την αποτελεσματικότητα της κλίνης. Η περιεκτικότητα του εδάφους σε άργιλο και οργανική ουσία καθορίζει την κατανομή και το μέσο μέγεθος των μικροπόρων άρα και την ελεύθερη επιφάνεια για αποτελεσματική ανάπτυξη της μικροχλωρίδας. Υποστρώματα που προσφέρουν μεγάλη επιφάνεια και υψηλή ιοντοανταλλακτική ικανότητα επιτρέπουν μέγιστη προσρόφηση σε περιπτώσεις υπερβολικής φόρτωσης και σταδιακή απελευθέρωση των υπολειμμάτων σε μεταγενέστερο χρόνο (Cobban et al. 1998). Η υψηλή αποτελεσματικότητα των συστημάτων αυτών οφείλεται κυρίως στους αυξημένους ρυθμούς βιοαποδόμησης στο επίπεδο του ριζικού συστήματος των φυτών και δευτερευόντως στην πρόσληψη των φ.ο. από τους φυτικούς ιστούς (McKinlay and Kasperek, 1999). Το φτηνό κόστος κατασκευής και η σχετική αποτελεσματικότητα των κλινών αυτών καθιστούν δυνατή τη εφαρμογή τους στον αγρό για διαχείριση υπολειμμάτων φ.ο.

2.4.3.2. Τεχνητοί υδροβιότοποι

Οι τεχνητοί υδροβιότοποι (*wetlands*) σχεδιάστηκαν και κατασκευάστηκαν για την αποτοξικοποίηση των υποβαθμισμένων από ρύπους υδάτων (*wastewaters*) με τη μεσολάβηση του εδάφους, της φυτικής βλάστησης και της δραστηριότητας των μικροοργανισμών (Vymazal, 2006). Αποδειχθήκαν αποτελεσματικά συστήματα μείωσης πολλών οργανικών ρύπων συμπεριλαμβανομένων και των φ.ο. κυρίως μέσω της φυτοαποκατάστασης. Το σύστημα είναι διαδεδομένο στο Ηνωμένο Βασίλειο, όπου πολλές βιομηχανίες χρησιμοποιούν τέτοια συστήματα προσαρμοσμένα για χειρισμό υγρών βιομηχανικών παραπροϊόντων, νερών απορροής, αποστράγγισης ή αποχέτευσης (Hawke and Jose, 1996). Υπάρχουν δύο σχέδια κατασκευής τους. Στο πρώτο το νερό κυκλοφορεί ακριβώς πάνω από το

υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών, ενώ στο δεύτερο σχέδιο υπάρχει υπεδάφια ροή νερού μέσα από το ριζικό σύστημα των φυτών που αναπτύσσονται με υδροπονική καλλιέργεια σε πλημμυρισμένα με νερό κανάλια (Fogg et al., 2000).

2.4.3.3. Βιοαντιδραστήρες

Οι βιοαντιδραστήρες (*bioreactors*) είναι *ex-situ* συστήματα αποκατάστασης νερού με τη χρήση μικροοργανισμών μέσω ενός κλειστού μηχανολογικού συστήματος (Frazar, 2000). Η αντιρρυπαντική ικανότητα του συστήματος στηρίζεται στη χρήση μικροοργανισμών που βρίσκονται αιωρούμενοι σε υγρό ή προσκολλημένοι σε στερεό μέσο ανάπτυξης. Στην πρώτη περίπτωση (*fluidized beds, sequencing batch reactor*) οι ρύποι κυκλοφορούν εντός κλειστού, συνήθως αεριζόμενου χώρου, όπου αναμιγνύονται με οργανική ουσία ή άλλη πηγή θρεπτικών συστατικών με ταυτόχρονη παρουσία των αποδομητικών μικροοργανισμών. Ο τύπος αυτός βιοαντιδραστήρα επιτρέπει μεγαλύτερο έλεγχο παραγόντων όπως το pH και τη ροή O_2 . Συχνά πολλαπλοί βιοαντιδραστήρες λειτουργούν σε σειρά για αύξηση της συνολικής αποτελεσματικότητας του συστήματος. Προ της απελευθέρωσης του καθαρού πλέον νερού, παρεμβάλλεται συνήθως ένα στάδιο απομάκρυνσης του μικροβιακού φορτίου από το νερό. Σε άλλα συστήματα βιοαντιδραστήρων (*upflow fixed film bioreactors, rotating biological contactors, trickling filters*) οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται με τη μορφή λεπτού υμενίου (*biofilm*) σε στερεό υπόστρωμα ανάπτυξης και οι φ.ο. αποδομούνται μετά τη διάχυση τους στη ελεύθερη επιφάνεια του υμενίου. Τα στερεά υποστρώματα (ενεργός άνθρακας, πλαστικό ή κεραμικό μέσο) χρησιμοποιούν τη μεγάλη ειδική επιφάνεια τους για προσκόλληση των αποδομητικών βακτηρίων, ενώ εμφανίζουν και σημαντική ικανότητα προσρόφησης των φ.ο. και σταδιακής απελευθέρωσής τους. Οι μικροβιακοί πληθυσμοί μπορεί να προέρχονται από φυσική επιλογή στον αντιδραστήρα ή από εισαγωγή μικροβιακού εμβολίου με εξειδικευμένη αποδομητική ικανότητα. Πλεονέκτημα των βιοαντιδραστήρων είναι ο πλήρης έλεγχος της διαδικασίας βιοαποκατάστασης. Η ικανότητα των βιοαντιδραστήρων για απομάκρυνση του ζιζανιοκτόνου atrazine από υγρά απόβλητα μελετήθηκε από τον Protzman et al., (1999). Το σύστημα που χρησιμοποιήθηκε (*sequencing batch biofilm reactor*) αποτελείται από ένα αντιδραστήρα 3,5 L που περιέχει μικρά σφαιρίδια από πολυπροπυλένιο με μέση διάμετρο 12,5 mm εμπλουτισμένων με το στέλεχος J14A του βακτηρίου *Agrobacterium radiobacter*. Το νερό, που περιείχε atrazine σε διάφορες συγκεντρώσεις, οδηγήθηκε στον αντιδραστήρα για μερικές ημέρες σε κανονική θερμοκρασία με εισαγωγή κάποιας συμπληρωματικής πηγής άνθρακα. Το σύστημα αυτό αποδείχθηκε ικανό να αποδομήσει το ζιζανιοκτόνο σε ποσοστό > 90% σε χρονικό διάστημα 45 ωρών.

2.4.3.4. Συστήματα βιοαπορρύπανσης

Τα περισσότερα από τα συστήματα που περιγράφηκαν προηγουμένως εμφανίζουν ικανοποιητική αποτελεσματικότητα απορρύπανσης του νερού, όμως το υψηλό κόστος κατασκευής και συντήρησης τους και οι ιδιαίτερες τεχνολογικές απαιτήσεις τους καθιστούν απαγορευτική την εφαρμογή τους στον αγρό (Rose et al., 2003). Αντί των συστημάτων αυτών έχει προταθεί η εγκατάσταση συστημάτων βιοαπορρύπανσης (*biopurification systems*), τα οποία αναπτύχθηκαν για το χειρισμό των υπολειμμάτων ψεκασμού που προέρχονται από το άδειασμα ή το ξέπλυμα των ψεκαστικών μηχανημάτων και από διαρροές κατά την εφαρμογή και αποθήκευση των φ.π. Τα συστήματα βιοαπορρύπανσης στηρίζονται στην παρουσία ενός βιολογικά ενεργού υποστρώματος που ευνοεί την

προσρόφηση των φ.ο. στην οργανική ουσία και ταυτόχρονα διατηρεί ευνοϊκές συνθήκες για τη μικροβιακή αποδόμηση των υπολειμμάτων τους. Τέτοια συστήματα, πέραν των μικρότερων απαιτήσεων σε εργασία, χρόνο και χρήματα, προσφέρουν και άλλα συγκριτικά πλεονεκτήματα, όπως:

- Η απουσία επιπλέον σταδίου επεξεργασίας για το νερό που απομακρύνεται από την κλίνη σε αντίθεση με τα συστήματα που στηρίζονται στην προσρόφηση σε ενεργό άνθρακα
- Η εύκολη προσαρμογή τους στις ιδιαίτερες γεωκλιματικές συνθήκες κάθε περιοχής
- Η δυνατότητα τροποποίησης του αρχικού σχεδίου της κατασκευής τους, ώστε να ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις της νομοθεσίας κάθε περιοχής (De Wilde, 2009)

Η ανάπτυξη των χαρακτηριστικών λειτουργίας των συστημάτων αυτών θα ακολουθήσει στο επόμενο κεφάλαιο.

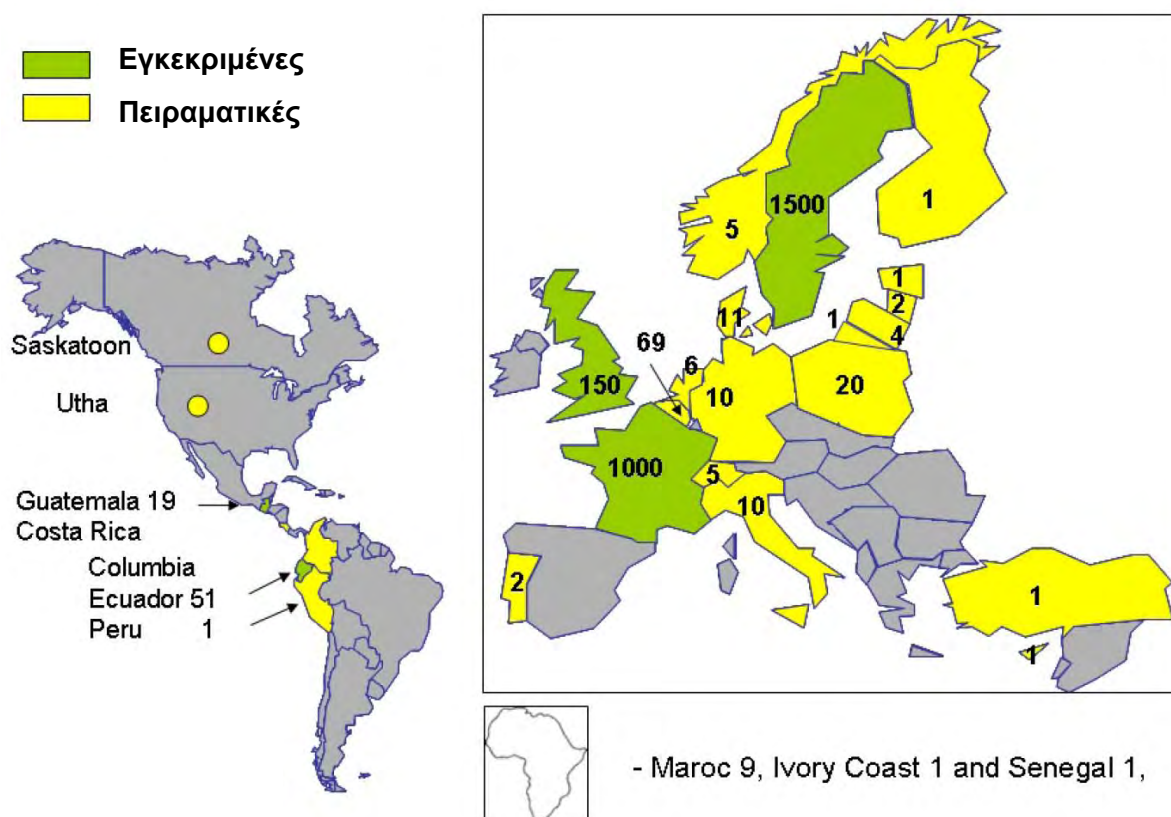
Βιοκλίνες

3.1. Γενικά

Οι βιοκλίνες (*biobeds*) αποτελούν μια χαμηλού κόστους εναλλακτική μέθοδο βιαπορρύπανσης νερού προερχόμενου από ψεκαστικά συστήματα. Η ανάπτυξη των συστημάτων των βιοκλινών στη Σουηδία είχε σαν στόχο τη συλλογή και τη σταδιακή απορρύπανση του ψεκαστικού υγρού, που διαφεύγει κατά τη φόρτωση ή απόχυση του (*drips, spills*) σε ψεκαστικά συστήματα. Ορισμένες, όμως, βιοκλίνες μπορεί να τροποποιηθούν κατάλληλα, ώστε να μπορούν να δεχτούν μεγάλες ποσότητες ρυπασμένου νερού που προκύπτουν από το ξέπλυμα ή τον καθαρισμό των συστημάτων ψεκασμού. Η χρήση τους στηρίζεται στην ικανότητα του συστήματος να κατακρατεί μέσω προσρόφησης τις φ.ο. και να διατηρεί ιδανικές συνθήκες μικροβιακής δραστηριότητας που ευνοούν τη μικροβιακή αποδόμηση των φ.ο. Σχεδιάστηκαν από τους Stenberg (Stenberg et al., 1994) και Torstensson and Castillo (Torstensson and Castillo, 1996; Torstensson and Castillo, 1997) ενώ από το 1993 βρίσκονται σε χρήση στη Σουηδία. Υπάρχουν περισσότερες από 1500 βιοκλίνες σε χρήση σήμερα μόνο στη Σουηδία, ενώ συστήματα βιοκλινών έχουν εγκατασταθεί και χρησιμοποιούνται για ερευνητικούς σκοπούς σε Μ. Βρετανία (Fogg and Carter, 1998; Fogg et al., 2000), Δανία (Spliid et al., 2006), Γαλλία (Jones et al., 1999), Βέλγιο (Pussemier and Elsen, 1998) και αλλού (**Εικόνα 3.1**).

Στην τυπική τους μορφή οι βιοκλίνες είναι ένα σαφώς οριοθετημένο κομμάτι γης από όπου έχει αφαιρεθεί ένα τμήμα του υπέργειου εδάφους και έχει τοποθετηθεί κατάλληλο υπόστρωμα (*βιομίγμα, biomix*), το οποίο αποτελείται από ένα μίγμα άχυρου (*straw*), κομπόστας (*compost*) ή τύρφης (*peat*) και εδάφους (*topsoil*). Το σύστημα καλύπτεται από λεπτό στρώμα εδάφους που ευνοεί την ανάπτυξη μόνιμης, πυκνής βλάστησης. Ένα μηχανικό σύστημα, που περιλαμβάνει ράμπες ή σχάρες, επιτρέπει τη στάθμευση των ψεκαστικών συστημάτων ακριβώς πάνω από τη βιοκλίνη. Η όλη κατασκευή βρίσκεται σε υπαίθριο χώρο συνήθως σε αγροκτήματα (*farmyards*). Σε όλες τις περιπτώσεις η μεταφορά του προς αποκατάσταση νερού εντός της βιοκλίνης πραγματοποιείται με τη βοήθεια της βαρύτητας χωρίς μηχανική υποβοήθηση. Η συλλογή του νερού στη βάση της βιοκλίνης

πραγματοποιείται με τη βοήθεια αντλίας και το καθαρό πλέον νερό που συλλέγεται αδειάζεται εκ νέου στην επιφάνεια της βιοκλίνης (σύστημα ανακύκλωσης) (Felgentreu and Bischoff, 2006) ή μεταφέρεται στο χώρο προσωρινής αποθήκευσης του.



Εικόνα 3.1. Εκτίμηση του αριθμού των συστημάτων βιοκλινών ανά τον κόσμο (από Husby, 2010)

3.2. Τύποι βιοκλινών

Οι βιοκλίνες κατατάσσονται σε συστήματα άμεσης (*direct ή drive over system*) ή έμμεσης συλλογής (*indirect ή offset system*) ανάλογα με το εάν η συλλογή του νερού πραγματοποιείται στη βιοκλίνη (**εικόνα 2α,δ**) ή σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο αντίστοιχα (**εικόνα 3.2β**). Στις βιοκλίνες άμεσης συλλογής η διαδικασία γεμίσματος, απόχυσης ή ξεπλύματος των ψεκαστικών μηχανημάτων λαμβάνει χώρα ακριβώς πάνω από τη βιοκλίνη. Η πρόσβαση των ψεκαστικών μηχανημάτων στη βιοκλίνη υποβοηθείται από μεταλλικές δοκούς (*metal grid*) ή πλαίσιο υποστήριξης (*support frame*) που μειώνουν τον κίνδυνο συμπίεσης του ενεργού βιομίγματος. Σε μια βιοκλίνη έμμεσης συλλογής η συλλογή των υγρών αποβλήτων πραγματοποιείται σε μια στεγανή και σαφώς οριοθετημένη τσιμεντοπλατεία με σύστημα στράγγισης και συλλογής. Όλα τα υγρά διοχετεύονται σε παρακείμενη βιοκλίνη μέσω βαρύτητας ή με τη βοήθεια αντλίας.

Οι βιοκλίνες διαχωρίζονται περεταίρω σε στεγανοποιημένες (*lined*) και σε μη στεγανοποιημένες (*unlined biobed*). Η στεγανοποίηση συνήθως αφορά κάλυψη του πυθμένα με συνθετικό υλικό, πάχους 1,5 mm και σπανιότερα από ένα στρώμα τσιμέντου που απομονώνει τη βιοκλίνη από το υποκείμενο έδαφος. Η χρήση των σαφώς στεγανοποιημένων βιοκλινών ελαχιστοποιεί την πιθανότητα κάθετης μετακίνησης των φ.ο. προς υπόγεια ύδατα. Όμως έχουν το μειονέκτημα ότι σε περιπτώσεις υπερβολικής βροχόπτωσης είναι απαραίτητη η κάλυψη της επιφάνειας τους ώστε να μη δημιουργηθούν συνθήκες κορεσμού. Με την κάλυψη όμως της βιοκλίνης μπορεί να σχηματιστεί

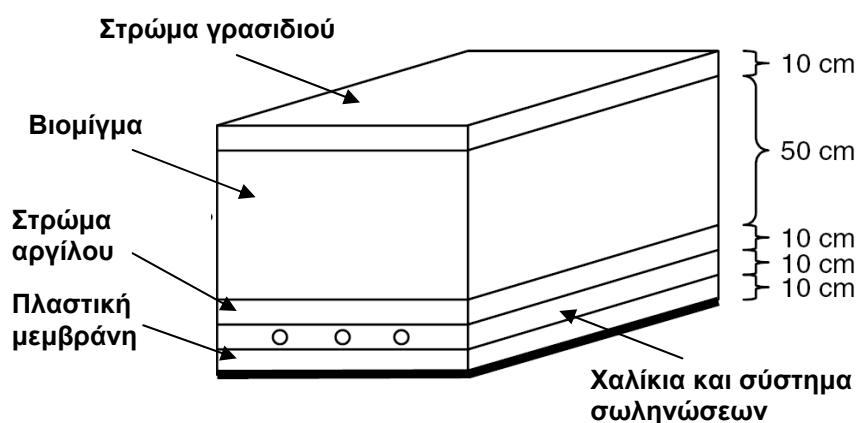
υδρόφοβο στρώμα στο υπέργειο τμήμα της, που θα μειώσει τους ρυθμούς εξάτμισης από την ελεύθερη επιφάνεια της βιοκλίνης (Fogg et al., 2004b). Στις περιπτώσεις που η βιοκλίνη χρησιμοποιείται για πλύσιμο των ψεκαστικών μηχανημάτων τα μοναδικά συστήματα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι οι στεγανοποιημένες βιοκλίνες. Σε πολλές χώρες μάλιστα η χρήση των βιοκλινών αφορά αποκλειστικά στεγανοποιημένα συστήματα καθώς οι μη στεγανοποιημένες βιοκλίνες δεν καλύπτουν τις τυπικές απαιτήσεις της νομοθεσίας.



Εικόνα 3.2. Σύστημα βιοκλίνης άμεσης συλλογής (α), σύστημα βιοκλίνης έμμεσης συλλογής (β), βιοκλίνη σε αρχικό στάδιο κατασκευής (γ) και βιοκλίνη άμεσης συλλογής με μεταλλικό πλαίσιο που επιτρέπει τη στάθμευση των οχημάτων (δ)

3.3. Συστατικά των βιοκλινών

Ένα τυπικό σύστημα βιοκλίνης αποτελείται διαδοχικά από ένα στρώμα γρασιδιού, το ενεργό βιομίγμα, το στρώμα αργίλου και το σύστημα σωληνώσεων. Η διάταξη των διαδοχικών στρωμάτων σε ένα στεγανοποιημένο σύστημα βιοκλίνης εμφανίζεται στην **εικόνα 3.3**.



Εικόνα 3.3. Σχηματική αναπαράσταση τυπικού συστήματος βιοκλίνης (από Herniksen et al., 2003)

3.3.1. Στρώμα γρασιδιού

Το στρώμα γρασιδιού στην άνω επιφάνεια της βιοκλίνης έχει σαν στόχο τη διατήρηση ιδανικών συνθηκών υγρασίας στη βιοκλίνη μέσα από τη ρύθμιση της εξαμισοδιαπνοής. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται και ο σχηματισμός υδρόφοβης κρούστας στην επιφάνεια της βιοκλίνης που θα είχε σαν άμεση συνέπεια τη διατάραξη της ισορροπίας νερού και τη μείωση της μικροβιακής δραστηριότητας στο βιομίγμα. Η κάλυψη με γρασίδι ευνοεί επίσης τη διατήρηση της θερμοκρασίας σε άριστα επίπεδα για μικροβιακή αποδόμηση, ενώ μπορεί να χρησιμεύσει και ως δείκτης πιθανών διαρροών (*spillages*) από ψεκαστικά συστήματα στις βιοκλίνες άμεσης συλλογής (De Wilde et al., 2007). Η έντονη μεταβολική δραστηριότητα στην περιοχή της ριζόσφαιρας επιτρέπει την ταχεία αποδόμηση των φ.ο. στα πρώτα εκατοστά της βιοκλίνης όπου οι φ.ο. βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις.

3.3.2. Βιομίγμα

Το βιομίγμα (*biomixture* ή *biomix*) είναι ουσιαστικά το οργανικό διηθητικό μέσο του συστήματος. Συνίσταται από ένα μίγμα άχυρου, κομπόστας ή τύρφης και εδάφους σε ογκομετρική αναλογία 50:25:25 vol.%. Καθένα από τα συστατικά του βιομίγματος έχει ένα καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα του συστήματος καθώς επηρεάζει τόσο τη συγκράτηση των φ.ο. όσο και την ικανότητα αποδόμησης τους. Η αποτελεσματικότητα του συστήματος εκτός από τη σύσταση επηρεάζεται και από την ομοιογένεια και την ηλικία του βιομίγματος αλλά και τις περιβαλλοντικές συνθήκες κυρίως υγρασία και θερμοκρασία.

Η **τύρφη** παρέχει πολυάριθμες θέσεις για την προσρόφηση των φ.ο. Επίσης ευνοεί την διατήρηση αερόβιων συνθηκών και επαρκούς υγρασίας στο βιομίγμα εξαιτίας της υψηλής ικανότητας του υλικού για συγκράτηση του νερού (De Wilde et al, 2007; Fogg et al., 2004a). Στην αρχική σύσταση των βιοκλινών η τύρφη αποτελούσε βασικό συστατικό του ενεργού βιομίγματος. Σε πολλές όμως χώρες η τύρφη αντικαταστάθηκε από **κομπόστα** για δύο λόγους: α) το υψηλό κόστος της τύρφης και τη δυσκολία ανεύρεσης της σε μεγάλες ποσότητες, ιδιαίτερα στις μεσογειακές χώρες και β) γιατί η χρήση της τύρφης δεν συνάδει με τις αρχές της αειφόρου ανάπτυξης (Fogg et al., 2003a) κυρίως λόγω του αυξημένου κινδύνου μη-αντιστρέψιμης καταστροφής των βαλτωδών οικοσυστημάτων από όπου εξορύσσεται η τύρφη (*peat bog habitants*). Αντιθέτα, η χρήση κομπόστας ως υποκατάστατου της τύρφης δεν συνεπάγεται καμιά περιβαλλοντική επιβάρυνση.

Η κομπόστα και η τύρφη διαφέρουν στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, στην περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά και τη βιολογική τους δραστηριότητα (Niklasch and Joergensen, 2001; Hensley and Yogi, 1997). Γενικά οι κομπόστες εμφανίζουν μικρότερη περιεκτικότητα σε άνθρακα και αυξημένα επίπεδα μακροστοιχείων όπως N, P και K, ενώ η τιμή του pH τυπικά βρίσκεται στην ουδέτερη ή ελαφρώς αλκαλική ζώνη. Η μεγάλη διακύμανση στα βιολογικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά μεταξύ κομποστών είναι αποτέλεσμα της ποικιλίας των μεθόδων κομποστοποίησης, της φύσης και της προέλευσης των αρχικών υλικών που κομποστοποιήθηκαν καθώς και των συνθηκών αποθήκευσής τους (Zmora-Nahuma et al., 2007). Αντιθέτα, η τύρφη εμφανίζει σημαντικά υψηλότερη τιμή υδατοχωρητικότητας, μικρότερη φαινόμενη πυκνότητα και όξινες τιμές pH (εύρος τιμών 4-7). Στην τύρφη η παρουσία θρεπτικών συστατικών συνήθως είναι ανεπαρκής και συχνά, κατά τη διαδικασία τυποποίησης της εμπορικής τύρφης, προστίθενται ανόργανα στοιχεία. Οι διαφορές αυτές στα βιολογικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά μεταξύ κομπόστας και τύρφης αντανακλούν διαφορές

στην αποτελεσματικότητα της αποδόμησης και στο μεταβολικό μονοπάτι που ακολουθείται για δεδομένη φ.ο. Γενικά η προσθήκη τύρφης ευνοεί την αποδόμηση μέσω συμμεταβολισμού παρέχοντας ένα ιδανικό περιβάλλον για ανάπτυξη και αποτελεσματική δράση μικροβιακών πληθυσμών (όπως των μυκήτων λευκής σήψης) και για την παραγωγή μη εξειδικευμένων ένζυμων, ικανών να καταλύσουν τουλάχιστο το αρχικό στάδιο αποδόμησης πολλών φ.ο. Αντίθετα, τα ιδιαίτερα βιολογικά χαρακτηριστικά της κομπόστας (ουδέτερες έως αλκαλικές τιμές pH και υψηλή περιεκτικότητα σε N) ευνοεί τις μεταβολικές διεργασίες αποδόμησης με τη μεσολάβηση βακτηριακών ή μυκητιακών πληθυσμών του βιομίγματος (Castillo et al., 2008).

Το **άχυρο** λειτουργεί ως πρόσθετη πηγή τροφής για τους μικροοργανισμούς. Ο αργός ρυθμός αποδόμησης του άχυρου επιτρέπει τη συνεχή παροχή άνθρακα, ενέργειας και θρεπτικών συστατικών χωρίς την ανάγκη για συχνή προσθήκη του (Castillo et al., 2008). Αποτελεί άφθονη πηγή λιγνίνης για τους μύκητες λευκής σήψης του βιομίγματος, οι οποίοι παράγουν φαινολοξειδάσες που καταλύουν την αρχική αντίδραση αποδόμησης πολλών φ.ο. (**παράγραφος 5.1.4**). Το τεμαχισμένο άχυρο είναι το κυριότερο συστατικό του βιομίγματος στο Σουηδικό μοντέλο βιοκλίνης και έχει χρησιμοποιηθεί επίσης σε πειραματικές βιοκλίνες στο Ηνωμένο Βασίλειο (Fogg et al., 2003a; Fogg et al., 2004a; Fogg et al., 2004b) στη Δανία (Spliid et al., 2006) και αλλού. Επίσης αποτελεί το κύριο συστατικό (30-50% κατ' όγκον) τροποποιημένων συστημάτων βιοκλινών όπως τα βιοφίλτρα (De Wilde et al., 2007) και Phytobac/Biobac (Spanoghe et al., 2004; Pietrantoni, 2004). Διάφοροι παράμετροι που σχετίζονται με την παρουσία του άχυρου στις βιοκλίνες είναι το μέγεθος των τεμαχιδίων του άχυρου, η ογκομετρική αναλογία του στο βιομίγμα καθώς και την προέλευση του. Η αποδομητική ικανότητα του βιομίγματος βρέθηκε ότι σχετίζεται θετικά με την περιεκτικότητα σε άχυρο, αν και για πρακτικούς λόγους η αναλογία άχυρου στο βιομίγμα δεν μπορεί να υπερβεί το 50% (Castillo and Torstensson, 2007). Η αναλογία άχυρου στο τελικό βιομίγμα επηρεάζει επίσης την ένταση της μικροβιακής δραστηριότητας (Corpola et al., 2007). Το άχυρο από υπολείμματα λιναριού (*flax straw*) αποδείχθηκε πιο αποτελεσματικό στην αποδόμηση υπολειμματικών φ.ο. σε σχέση με το άχυρο των δημητριακών (De Vleeschouwer et al., 2005). Το μικρό μέγεθος τεμαχιδίων άχυρου ευνοεί τη μικροβιακή αποδόμηση και την προσρόφηση των ουσιών στα συστατικά του υποστρώματος καθώς αυξάνει την ελεύθερη επιφάνεια του συστήματος, άλλα ταυτόχρονα μπορεί να ευνοήσει τη δημιουργία αναερόβιων συνθηκών λόγω περιορισμού του μεγέθους των πόρων μεταξύ των τεμαχιδίων. Η μείωση του μέσου μεγέθους των τεμαχιδίων άχυρου από 0,5-2 mm σε <0,5 mm οδηγεί σε σημαντική αύξηση (1,8 φορές) της μικροβιακής δραστηριότητας που αποδίδεται στην αύξηση της κατά βάρος περιεκτικότητας του βιομίγματος σε άχυρο αν κατά την προετοιμασία του βιομίγματος διατηρηθεί η τυπική ογκομετρική αναλογία του άχυρου (50%) (Castillo et al., 2008).

Αν και το άχυρο παρουσιάζεται σαν ένα αποτελεσματικό συστατικό στο βιομίγμα η μεγάλη διαθεσιμότητα άλλων λιγνινοκυτταρινούχων υποστρωμάτων σε ορισμένες περιοχές οδήγησε στη χρήση τους σε πειραματικές βιοκλίνες ως υποκατάστατων του άχυρου. Έτσι τα υπολείμματα από το κλάδεμα της αμπέλου (*vine branches*) σε ανάμιξη με κομπόστα ή/και έδαφος έχει αξιολογηθεί στην Ιταλία ως προς την ικανότητα αποδόμησης του εντομοκτόνου chlorpyrifos. Η αποτελεσματικότητα του βιομίγματος αυτού αποδείχθηκε παρόμοια με αυτή του Σουηδικού βιομίγματος (Vischetti et al., 2007). Επίσης, βιομίγματα βασισμένα στη χρήση φλοιών εσπεριδοειδών έδειξαν μειωμένη αποδομητική ικανότητα συγκρινόμενα με το τυπικό βιομίγμα άχυρου (Corpola et al., 2007). Η χιτίνη, μετά από

ανάμιξη της με έδαφος, αποδείχθηκε αποτελεσματικότερο υπόστρωμα για συγκράτηση των φ.ο. σε σχέση με το άχυρο σε βιοφίλτρα (Genot et al., 2002). Επίσης, σπάδικες καλαμποκιού (*corn cobs*) αποδείχθηκαν ικανοποιητικά υποκατάστατα του άχυρου σε βιοκλίνες καθώς κατάφεραν να αποδομήσουν την ουσία atrazine με ρυθμούς υψηλότερους τόσο του βιομίγματος με βάση το άχυρο όσο και του εδάφους, που χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας (Lamar, 2001). Πιο πρόσφατα τα υπολείμματα ζαχαροκάλαμου χρησιμοποιήθηκαν σε συστήματα *Phytobac* εγκατεστημένων σε τροπικές περιοχές, όπου το υλικό αυτό είναι διαθέσιμο σε μεγάλες ποσότητες (de Roffignac et al., 2008).

Το **έδαφος** είναι πηγή μικροοργανισμών και παράλληλα παρέχει θέσεις για προσρόφηση των φ.ο. Ιδανικά, το έδαφος πρέπει να είναι πλούσιο σε χούμο και να περιέχει μικρή έως μέτρια ποσότητα αργίλου καθώς μεγάλη περιεκτικότητα σε αργιλώδη συστατικά μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των φ.ο. στις θέσεις μικροβιακής αποδόμησης λόγω ισχυρής και συχνά μη αντιστρεπτής προσρόφησης των μορίων στα κolloειδή της αργίλου. Στα αργιλώδη εδάφη εμφανίζονται συχνά φαινόμενα έκπλυσης λόγω της σχηματισμού ρωγμών και μακροπόρων που λειτουργούν ως διάδρομοι για την ταχεία κάθετη κίνηση του νερού (Fogg et al., 2004a). Επίσης, κατά την προετοιμασία του βιομίγματος με αργιλώδη εδάφη είναι δύσκολο να επιτευχθεί ομοιογένεια στο τελικό βιομίγμα (Castillo et al., 2008). Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι η δομή του εδάφους μπορεί να επηρεάσει το ρυθμό αποδόμησης των φ.ο. (De Wilde et al., 2007) όμως παρουσιάζεται να έχει μικρή επίδραση στην απόδοση του συστήματος της βιοκλίνης και στην ποσότητα των φ.ο. που ανιχνεύονται στο έκπλυμα (Fogg, 2004a). Η μικρή επίδραση του τύπου εδάφους στην αποτελεσματικότητα του συστημάτων βιοαπορρόπησης επιβεβαιώθηκε από άλλη μελέτη, όπου καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε στην αποτελεσματικότητα βιοκλινών που περιέχουν πηλώδες ή ιλυώδες έδαφος (De Vleeschouwer et al., 2005). Επομένως, στη δημιουργία του βιομίγματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε τύπος εδάφους. Η χρήση εδάφους από την ίδια περιοχή στην οποία κατασκευάζεται η βιοκλίνη είναι προτιμητέα καθώς το έδαφος αυτό είναι πιθανό να περιέχει μικροβιακό πληθυσμό ενεργοποιημένο ως προς την αποδόμηση φ.ο. που χρησιμοποιούνται ευρέως στην περιοχή (φαινόμενο επιταχυνόμενης βιοαποδόμησης) (Fogg et al., 2003b). Η επαναχρησιμοποίηση εδάφους από μεγάλης ηλικίας βιοκλίνη στο σχηματισμό του βιομίγματος έχει προταθεί ως μέτρο για τη βελτίωση της ικανότητας συγκράτησης των ουσιών στο βιομίγμα. Στην περίπτωση αυτή απαιτείται προσοχή καθώς στο εξαντλημένο βιομίγμα από το οποίο συλλέγεται το έδαφος μπορεί να περιέχονται υπολειμματικές φ.ο. (Castillo et al., 2008).

3.3.3. Στρώμα αργιλώδους εδάφους

Στην κάτω επιφάνεια της βιοκλίνης συχνά τοποθετείται ένα στρώμα εδάφους αργιλώδους σύστασης (*clay membrane*) πάχους 10-60 cm. Η άργιλος σχηματίζει ένα αδιαπέραστο στρώμα με αποτέλεσμα την αύξηση της ικανότητας συγκράτησης του νερού στην κλίνη (Castillo et al., 2008). Σε βιοκλίνες που κατασκευάστηκαν για πειραματικούς σκοπούς εκτός από το στρώμα αργίλου υπάρχουν διαδοχικά στρώματα με χαλίκι και μπεντονίτη με πλαστική μεμβράνη. Το κάθε στρώμα είχε πάχος 10 cm (Henriksen et al., 2003). Έρευνες στη Δανία απέδειξαν ότι το στρώμα αργίλου στη βάση της βιοκλίνης δεν ήταν ικανό να συγκρατήσει τις φ.ο. που εκπλύθηκαν από το ενεργό βιομίγμα (De Wilde et al., 2007). Καθοριστικός παράγοντας για την αποτελεσματικότητα του στρώματος αργίλου ως προς τη μη έκπλυση των φ.ο. είναι το νερό να διέρχεται με χρωματογραφική ροή μέσα από το στρώμα αυτό.

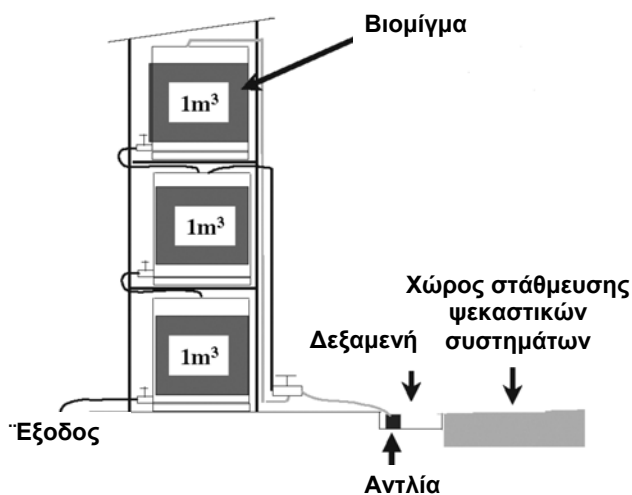
Συνθήκες που οδηγούν σε απότομη ξήρανση, λόγω ταχείας εξάτμισης του νερού, μπορεί να οδηγήσουν στο σχηματισμό ρωγμών με αποτέλεσμα την αλλαγή της κάθετης κίνησης του νερού από χρωματογραφική σε διευκολυνομένη. Τέτοιες συνθήκες συνήθως δημιουργούνται όταν κάτω από το αργιλώδες στρώμα βρίσκεται εγκατεστημένο κάποιο σύστημα αποστράγγισης όπως γίνεται, για παράδειγμα, στα στεγανοποιημένα συστήματα (Castillo et al., 2008).

3.4. Παραλλαγές σχεδιασμού των βιοκλινών

Λόγω της απλότητας της κατασκευής τους και της αποτελεσματικότητάς τους το ενδιαφέρον για τις βιοκλίνες έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια και πολλές χώρες τις έχουν προσαρμόσει στις ιδιαίτερες συνθήκες (διαθέσιμα υλικά, κλιματολογικές συνθήκες, καλλιεργητικές πρακτικές κ.α.) κάθε περιοχής (Castillo et al., 2008). Αποτέλεσμα είναι η ύπαρξη διαφοροποιημένων κατασκευών που χαρακτηρίζονται ως βιοφίλτρα, rhytobac, biobac και biomassbed.

3.4.1. Βιοφίλτρα

Τα βιοφίλτρα (*biofilters*) είναι μια παραλλαγή του συστήματος της βιοκλίνης που αναπτύχθηκε στο Βέλγιο. Αποτελείται από μια σειρά δεξαμενών (τυπικά δύο ή τριών), οι οποίες συνδέονται με σύστημα σωληνώσεων (Εικόνα 3.4). Η ιδέα πίσω από την κατασκευή των βιοφίλτρων είναι η κατασκευή ενός ευέλικτου και μικρού σε διαστάσεις συστήματος με δυνατότητα χειρισμού μεγάλου όγκου νερού και ανακύκλωσης του στο ενεργό βιομίγμα με τη βοήθεια αντλίας (Castillo et al., 2008). Κάθε δεξαμενή περιέχει προσροφητικό υλικό, όπως έδαφος, άχυρο και τύρφη ή κομπόστα, ενώ μια παραλλαγή του συστήματος περιλαμβάνει ανάπτυξη φυτών στην επιφάνεια της τελευταίας δεξαμενής (Debaer and Jaeken, 2006).



Εικόνα 3.4. Διαγραμματική απεικόνιση του σχεδίου ενός συστήματος βιοφίλτρων τριών δεξαμενών (από De Wilde et al., 2007)

Το σύστημα συνδυάζει χαρακτηριστικά τόσο των βιοκλινών όσο και των κλινών εξατμισοδιαπνοής καθώς διεγείρει τη μικροβιακή αποδόμηση, άλλα και την εξατμισοδιαπνοή από την ελεύθερη επιφάνεια του συστήματος. Χαρακτηριστικό των κλινών αυτών είναι η μεγάλη ελεύθερη επιφάνεια τους σε σχέση με τον όγκο νερού που δέχονται. Τα συστήματα που είναι εξοπλισμένα με τρεις διαδοχικές δεξαμενές είναι κατάλληλα για χειρισμό μεγάλης ποσότητας φ.ο. (>100g) και μεγάλου όγκου νερού (>3000 L).

Βασικό μειονέκτημα του συστήματος είναι ότι η διάταξη των δεξαμενών δυσχεραίνει τους ετήσιους χειρισμούς (De Wilde et al., 2007). Επίσης η έλλειψη στρώματος γρασιδιού στην επιφάνεια των βιοφίλτρων μπορεί να οδηγήσει σε έλλειψη ισορροπίας νερού και σε αυξημένο κίνδυνο διευκολυνόμενης κάθετης μετακίνησης. Η χρήση ενεργού άνθρακα στο σωλήνα αποστράγγισης των βιοφίλτρων οδήγησε σε περαιτέρω μείωση της συγκέντρωσης των ουσιών στο έκπλυμα (Pussemier and Elsen, 1998).

3.4.2. Biomassbed

Στην Ιταλία βρίσκεται υπό δοκιμή μια παραλλαγή του αρχικού σχεδίου βιοκλίνης που υιοθετεί τη χρήση φτηνών και διαθέσιμων σε μεγάλες ποσότητες οργανικών παραπροϊόντων της γεωργικής παραγωγής (Corrola et al., 2007; Vischetti et al., 2004; Fait et al., 2007). Χαρακτηριστικό των biomassbeds είναι η ύπαρξη υδραυλικού συστήματος ανακύκλωσης του νερού στον πυθμένα της βιοκλίνης. Με τον τρόπο αυτό το νερό διοχετεύεται εκ νέου στο υπόστρωμα όσες φορές απαιτείται, ώστε τα περιεχόμενα σε αυτό υπολείμματα φ.ο. να μειωθούν στα επιτρεπτά από τους κανονισμούς όρια. Στα συστήματα αυτά το βιομίγμα καλύπτεται ώστε να μην είναι δυνατή η είσοδος βρόχινου νερού (**Εικόνα 3.5**). Η ξήρανση του βιομίσματος όμως αποφεύγεται καθώς το νερό που συλλέγεται στον πυθμένα της βιοκλίνης επανατροφοδοτεί το σύστημα. Το σύστημα αυτό μπορεί εύκολα να προσαρμοστεί στις ιδιαίτερες συνθήκες κάθε περιοχής, έχει χαμηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας και είναι εύκολο στο χειρισμό (Fait et al., 2007).



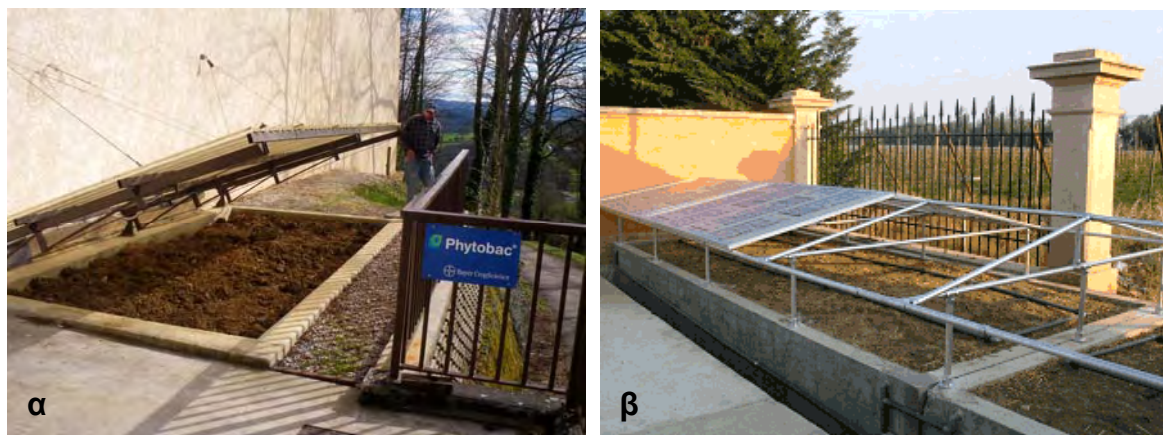
Εικόνα 3.5. Απεικόνιση ενός τυπικού συστήματος biomassbed (από Fait et al., 2007)

3.4.3. Συστήματα Phytobac και biobac

Το σύστημα Phytobac αναπτύχθηκε από την εταιρία Bayer CropScience και είναι βασισμένο στην ιδέα της βιοκλίνης. Σκοπός του συστήματος Phytobac είναι η απορρύπανση του νερού που προκύπτει από υπολείμματα της δεξαμενής του ψεκαστικού συστήματος καθώς και του νερού των διαρροών (*spillages*) κατά την ανάμιξη, φόρτωση και καθαρισμό του ψεκαστικού εξοπλισμού (Castillo et al., 2008). Αποτελείται από μια λεκάνη βάθους 60 cm, η οποία τοποθετείται σε ύψος 30 cm από την επιφάνεια του εδάφους (**Εικόνα 3.6α**). Το υλικό πλήρωσης της κατασκευής αποτελείται από τεμαχισμένο άχυρο και έδαφος σε ογκομετρική αναλογία 30 έως 70%. Ένα κάλυμμα στην επιφάνεια του συστήματος προστατεύει το ενεργό υπόστρωμα από βροχή ενώ στην επιφάνεια της κλίνης δεν

υπάρχει βλάστηση. Επειδή η μοναδική έξοδος του νερού από το σύστημα είναι η εξάτμιση από την ελεύθερη επιφάνεια πρέπει να δίνεται προσοχή στην αποφυγή συνθηκών κατάκλισης ή ξήρανσης του ενεργού υποστρώματος.

Το σύστημα biobac αναπτύχθηκε από την εταιρία INRA στη Γαλλία και στην τυπική του μορφή αποτελεί μια κλειστή δεξαμενή στο έδαφος, ενώ το ενεργό υπόστρωμα είναι μίγμα άχυρου και εδάφους (**Εικόνα 3.6β**). Σε σχέση με το σύστημα Phytobac παρέχει μεγαλύτερη ικανότητα ρύθμισης της υγρασίας και του αερισμού.



Εικόνα 3.6. Συστήματα phytobac (α) και biobac (β) (από www.biotisa.com)

3.5. Παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα του συστήματος

3.5.1. Ταυτόχρονη παρουσία δύο ή περισσότερων φ.ο.

Στη γεωργική πρακτική είναι πιθανό ένας μεγάλος αριθμός φ.π. να εφαρμοστεί ταυτόχρονα ή διαδοχικά την ίδια καλλιεργητική περίοδο. Επομένως, είναι πιθανό στις βιοκλίνες να εισέρχονται μίγματα διαφορετικών δραστικών συστατικών σε συγκεντρώσεις ίδιες ή υψηλότερες των εφαρμοζόμενων στον αγρό. Γενικά έχει διαπιστωθεί ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ φ.ο. στο βιομίγμα είναι λιγότερο σημαντικές σε σχέση με το έδαφος (Fogg et al., 2003c). Σύμφωνα με τους Fogg et al. (2004a) ο χρόνος ημιζωής των φ.ο. isoproturon, chlorothalonil, mecoprop-p και metsulfuron-methyl που εφαρμόστηκαν σε βιοκλίνη ως μίγμα εμφανίστηκε μεγαλύτερος σε σχέση με το χρόνο ημιζωής των ίδιων φ.ο. όταν εφαρμόστηκαν ξεχωριστά. Διαφορετικά αποτελέσματα παρουσιάστηκαν σε άλλη έρευνα, όπου πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονη εφαρμογή isoproturon και chlorothalonil σε υπόστρωμα βιοκλίνης αλλά ο ρυθμός αποδόμησης κάθε μιας φ.ο. δεν επηρεάστηκε από την ταυτόχρονη παρουσία της άλλης (Fogg et al., 2003c).

3.5.2. Περιεχόμενη υγρασία και όγκος εισερχόμενου νερού

Η σωστή διαχείριση του εισερχόμενου νερού (*hydraulic loading*) και ιδιαίτερα η αποφυγή συνθηκών κορεσμού στο υπόστρωμα είναι εξαιρετικά σημαντικές παράμετροι στην αποτελεσματικότητα του συστήματος των βιοκλινών (Fogg, 2001). Τα επίπεδα υγρασίας πρέπει να είναι αρκετά υψηλά ώστε να επιτρέπουν την απρόσκοπτη δραστηριότητα του αποδομητικού πληθυσμού χωρίς, όμως, να δημιουργείται κίνδυνος έκπλυσης των φ.ο. ή συνθήκες ανοξίας. Η διατήρηση του επιπέδου υδατικής φόρτισης των βιοκλινών σε χαμηλά επίπεδα και η αποφυγή εισόδου του βρόχινου νερού είναι απαραίτητες συνθήκες για την ικανοποιητική απόδοση τέτοιων συστημάτων σε χώρες της Β. Ευρώπης

(De Wilde, 2009). Η κάλυψη, όμως, της επιφάνειας των βιοκλινών μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια υγρασίας στα πρώτα 10 cm της βιοκλίνης με αποτέλεσμα τη μείωση της συνολικά περιεχομένης μικροβιακής βιομάζας και της αποδομητικής ικανότητας (Castillo et al., 2008). Ποσοστό υγρασίας γύρω στο 95% είναι ικανοποιητικό για τον επαρκή αερισμό των ριζών και τη δραστηριότητα των αποδομητικών μικροβιακών πληθυσμών, ενώ ποσοστό μικρότερο του 75% μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη των φυτών και να περιορίσει τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών (De Wilde et al., 2007; Torstensson, 2000). Σε εργαστηριακές συνθήκες η επίδραση τριών επιπέδων υγρασίας έδειξε ότι ποσοστό κοντά στο 60% της υδατοχωρητικότητας οδηγεί σε πιο έντονους ρυθμούς αποδόμησης και σε υψηλότερες τιμές μικροβιακής δραστηριότητας σε σχέση με υψηλότερες ή χαμηλότερες τιμές (Castillo and Torstensson, 2007). Για τη διατήρηση της υγρασίας της βιοκλίνης σε επίπεδα που να προάγουν την υψηλή αποδομητική δράση στις βιοκλίνες θα πρέπει να περιέχονται υλικά με σημαντική ικανότητα συγκράτησης του νερού (Castillo et al., 2008).

Η επίδραση του συνολικού όγκου νερού που εισέρχεται στη βιοκλίνη στον κίνδυνο έκπλυσης των φ.ο. μελετήθηκε από τους Fogg et al., (2004b). Η έκπλυση των ουσιών επηρεάστηκε σημαντικά από τον όγκο του νερού. Στο πιο έντονο υδατικό σενάριο (10000 L·m⁻² βιοκλίνης) το ποσοστό των ουσιών που ανιχνεύτηκαν στο έκπλυμα αντιστοιχούσε στο 6,4 και 6,1% των αρχικών ποσοτήτων για τις φ.ο. με την υψηλότερη κινητικότητα (isoproturon, dimethoate), ενώ στο λιγότερο έντονο υδατικό σενάριο (<500 L·m⁻²) τα αντίστοιχα ποσοστά έκπλυσης ήταν μικρότερα του 0,004%. Ο μέγιστος όγκος νερού που μπορεί να δεχθεί μια βιοκλίνη είναι συνάρτηση της ικανότητας συγκράτησης των φ.ο. σε αυτή καθώς και του ύψους της βιοκλίνης.

3.5.3. Συγκέντρωση στην οποία εφαρμόζονται οι φυτοπροστατευτικές ουσίες

Η συγκέντρωση των φ.ο. στο νερό που καταλήγει σε ένα σύστημα βιοκλίνης ποικίλει αρκετά. Μετά από δύο διαδοχικά ξεπλύματα του βυτίου του ψεκαστικού συστήματος έχουν παρατηρηθεί στα υγρά απόβλητα συγκεντρώσεις φ.ο. που πλησιάζουν τα 450 mg·L⁻¹ (Fogg et al., 2004c). Επομένως είναι σημαντικό να διαπιστωθεί αν η παρουσία τόσο υψηλών συγκεντρώσεων επηρεάζει την απόδοση του συστήματος. Γενικά, έχει διαπιστωθεί ότι ο ρυθμός αποδόμησης μειώνεται με αύξηση της συγκέντρωσης της φ.ο. στα βιομίγματα (Henriksen et al., 2003; Fogg et al., 2003c). Η επίδραση της συγκέντρωσης των isoproturon και chlorothalonil, στο ρυθμό μικροβιακής αποδόμησης τους σε επιφανειακό έδαφος και σε υπόστρωμα βιοκλίνης μελετήθηκε από τους Fogg et al., (2003c) και παρατηρήθηκε αύξηση του χρόνου που απαιτείται για αποδόμηση των υπολειμμάτων με αύξηση της συγκέντρωσης. Σε άλλη έρευνα διαπιστώθηκε αφενός η πλήρης ανασχεση της αποδόμησης της ουσίας mecoprop όταν αυτή εφαρμόστηκε σε συγκεντρώσεις 25.000 mg·g⁻¹ πιθανότατα ως αποτέλεσμα τοξικών δράσεων στη μικροχλωρίδα και αφετέρου η μείωση του ρυθμού αποδόμησης του isoproturon με αύξηση της συγκέντρωσης εφαρμογής, η οποία αποδόθηκε σε μη επαρκή ενζυμική δραστηριότητα εξαιτίας του περιορισμένου και αριθμητικά σταθερού πληθυσμού των αποδομητών που δεν προλαβαίνουν να αποδομήσουν το σύνολο της φ.ο μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα (Henriksen et al., 2003).

3.5.4. Επαναλαμβανόμενη εφαρμογή της ίδιας φ.ο.

Διαδοχικές εφαρμογές της ίδιας φ.ο. ή μίγματος φ.ο. στη βιοκλίνη είναι δυνατό να επάγει την ανάπτυξη μικροβιακού πληθυσμού ικανού να τις αποδομήσει ταχύτατα. Έτσι σε συστήματα *Phytobac* παρατηρήθηκε η βελτίωση της αποδομητικής ικανότητας μετά από έκθεση στις ίδιες φ.ο. (Fournier, 2004). Η επαναλαμβανόμενη εφαρμογή του *metaxyl* σε τροποποιημένη βιοκλίνη που περιείχε έδαφος, κομπόστα και υπολείμματα αμπελοκαλλιέργειας (*vine branches*) οδήγησε σε μείωση του χρόνου ημιζωής του (Vischetti et al., 2008). Σε άλλη περίπτωση ο ρυθμός διάσπασης των υπολειμμάτων των φ.ο. σε βιοκλίνη εμφανίστηκε μειωμένος μετά από διαδοχικές εφαρμογές της ίδιας ουσίας. Παρόμοιες περιπτώσεις μπορούν να αποδοθούν σε φαινόμενα τοξικότητας λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων των φ.ο. που εφαρμόστηκαν αλλά και σε απουσία των κατάλληλου μικροβιακού πληθυσμού ή/και σε ακατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες (Fogg et al., 2003b).

3.6. Μέγεθος βιοκλίνης

Το μέγεθος της βιοκλίνης θα πρέπει να είναι κατάλληλο ώστε το σύστημα να μπορεί να διαχειριστεί όλο τον όγκο νερού που εισέρχεται και να επιτρέπει την ομοιόμορφη κατανομή του στο υπόστρωμα (Morris et al., 2004). Ως γενικός κανόνας έχει προταθεί η επιφάνεια της βιοκλίνης να έχει έκταση περίπου 1 m² για κάθε 1000 L νερού που εισέρχονται στη βιοκλίνη σε ετήσια βάση. Το μέγεθος της βιοκλίνης καθορίζεται από τον όγκο του νερού που εισέρχεται στη κλίνη σε ετήσια βάση, τις ετήσιες βροχοπτώσεις και το μέγεθος των ψεκαστικών μηχανημάτων. Στα τυπικά Σουηδικά συστήματα βιοκλινών το ύψος του βιομίγματος είναι 60 cm (χωρίς να συμπεριλαμβάνονται τα στρώματα γρασιδιού και αργίλου), ενώ στα συστήματα που αναπτύχθηκαν στη Μεγάλη Βρετανία το ύψος αυτό προτάθηκε να είναι τουλάχιστο 80 cm και ιδανικά 150 cm (Fogg et al., 2004c). Ο χώρος γύρω από τη βιοκλίνη πρέπει να είναι αρκετά μεγάλος ώστε αφενός να παραλαμβάνεται το σύνολο των υγρών που διαρρέουν από το ψεκαστικό και επιπλέον να υπάρχει χώρος για τις κινήσεις των χειριστών και την εκτέλεση εργασιών ρουτίνας (Fogg, 2007). Η αναλογία μεγέθους του χώρου χειρισμού (*handling area*) και της βιοκλίνης θα πρέπει να είναι τουλάχιστο 1:0,6 και ιδανικά 1:1. Σύμφωνα με τους Fogg et al., (2004b) για τη μείωση του κινδύνου έκπλυσης των εφαρμοζόμενων φ.ο στη βιοκλίνη και προκειμένου η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στο έκπλυμα να μην υπερβαίνει τα επιτρεπτά όρια η έκταση που πρέπει να καταλαμβάνει πρέπει να είναι μεταξύ 19 και 75 m², ανάλογα με την κινητικότητα των φ.ο. και με τον όγκο νερού που εισέρχεται στο σύστημα. Για πρακτικούς όμως λόγους η έκταση της βιοκλίνης δεν μπορεί να υπερβαίνει τα 40 m².

3.7. Ηλικία υποστρώματος και αποτελεσματικότητα συστήματος

Η ηλικία του βιομίγματος μπορεί να επηρεάσει την αποτελεσματικότητα του συστήματος επηρεάζοντας τόσο την πορεία αποδόμησης των φ.ο. όσο και την ικανότητα προσρόφησης των ουσιών. Η ικανότητα συγκράτησης των ουσιών σε βιοκλίνες στη Δανία κατά το πρώτο έτος χρήσης τους ήταν μικρότερη από αυτή που παρατηρήθηκε τον αμέσως επόμενο χρόνο (Henriksen et al., 2003). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν σε εργαστηριακής κλίμακας βιοκλίνες, όπου η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στο έκπλυμα κατά την πρώτη εφαρμογή μετά το σχηματισμό του βιομίγματος ήταν υψηλότερη αυτής που παρατηρήθηκε σε επόμενες εφαρμογές (Castillo et al., 2008). Για τη βελτίωση της συμπεριφοράς προσρόφησης σε φρέσκα βιομίγματα έχει προταθεί η μερική σταθεροποίηση του βιομίγματος προ της ενσωμάτωσής του στις βιοκλίνες.

Ο ρυθμός μικροβιακής αναπνοής του υποστρώματος έχει χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για την εκτίμηση του χρόνου αντικατάστασης του υποστρώματος σε βιοκλίνες (Torstensson, 2000). Ο ρυθμός κατανάλωσης του άνθρακα των βιομιγμάτων από τους μικροβιακούς πληθυσμούς για αναβολικές διεργασίες μειώνεται με το χρόνο. Σε φρέσκα βιομίγματα καταναλώνεται αρχικά ο εύκολα βιοδιαθέσιμος άνθρακας, ενώ ο λιγότερο βιοδιαθέσιμος άνθρακας αφομοιώνεται σε επόμενα στάδια. Η ταχεία κατανάλωση του άνθρακα κατά τα πρώτα έτη λειτουργίας της βιοκλίνης είναι υπεύθυνη για τη μείωση του ύψους του βιομίγματος σε πρόσφατα κατασκευασμένες βιοκλίνες περίπου κατά 10 cm ανά έτος (Castillo et al., 2008). Στην περίπτωση αυτή επιβάλλεται η απομάκρυνση του στρώματος γρασιδιού από τις βιοκλίνες και η προσθήκη φρέσκου υποστρώματος που ακολουθείται από την αποκατάσταση του υπέργειου τμήματος στην αρχική του μορφή. Η διαδικασία αυτή συστήνεται να πραγματοποιείται την άνοιξη πριν το ξεκίνημα της περιόδου ψεκασμών (Torstensson, 2000). Στα τυπικά συστήματα βιοκλινών έχει προταθεί η αντικατάσταση όλου του ενεργού βιομίγματος όταν ο ρυθμός αναπνοής μειωθεί σε επίπεδα κοντά σε αυτά που εμφανίζει το έδαφος. Ο χρόνος αντικατάστασης του βιομίγματος εξαρτάται από τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής εγκατάστασης της βιοκλίνης. Αυτό μπορεί να συμβεί σε περίπου 5-6 χρόνια στη νότια Σουηδία και μετά από 6-8 χρόνια στη κεντρική.

3.8. Εγκατάσταση βιοκλινών

Πριν την εγκατάσταση ενός συστήματος βιοκλίνης είναι σημαντικό να γίνει σωστή επιλογή της τοποθεσίας. Η απαραίτητη προσοχή πρέπει να δοθεί προκειμένου το προτεινόμενο σημείο κατασκευής της βιοκλίνης να παρουσιάζει μηδενικό κίνδυνο για ρύπανση παρακείμενων υδάτινων αποδεκτών. Ασφαλής περιοχή μπορεί να θεωρηθεί αυτή που απέχει τουλάχιστο 10 μέτρα από επιφανειακά ύδατα και 50 μέτρα από πηγές νερού, πηγάδια ή γεωτρήσεις παροχής πόσιμου νερού (Fogg, 2007). Επίσης είναι προτιμότερο η κατασκευή της βιοκλίνης να γίνεται σε χώρο όπου δεν υπάρχει εύκολη πρόσβαση ατόμων πλην του χειριστή, ενώ πρέπει να αποφεύγονται σημεία κοντά σε κτήρια (De Wilde et al., 2007) ή σε σημεία με εύκολη πρόσβαση του νερού της βροχής όπως τα χαμηλότερα σημεία του αγρού. Η εμπειρία χρησιμοποίησης βιοκλινών στη Σουηδία έδειξε ότι οι κλίνες που εγκαταστάθηκαν σε κλειστό χώρο δεν είχαν ικανοποιητική ανάπτυξη επιφανειακής βλάστησης με αποτέλεσμα την εμφάνιση συνθηκών κορεσμού (Torstensson, 2000).

Αποδόμηση φυτοπροστατευτικών ουσιών

4.1. Αβιοτική αποδόμηση

4.1.1. Αβιοτική υδρόλυση

Η αντιδράση με το νερό είναι από τις καθοριστικότερες διεργασίες αβιοτικής διάσπασης πολλών φ.ο. Συχνά η αρχική υδρόλυση του μητρικού μορίου αποτελεί το απαραίτητο πρώτο βήμα πριν την ενζυμικά ελεγχόμενη πορεία ανοργανοποίησης που ακολουθεί. Σχεδόν όλες οι φ.ο. μπορούν να υδρολυθούν και οι αναμενόμενοι χρόνοι ημιζωής κυμαίνονται από μερικά λεπτά (εστέρες του φωσφορικού οξέος) έως αρκετούς μήνες (αμίδια). Οι υδρολυτικές αντιδράσεις περιλαμβάνουν υποκαταστάσεις μιας ομάδας στο μόριο της φ.ο. από OH^- ή H^+ προερχόμενα από το νερό και οι αντιδράσεις αυτές καταλύονται σε όξινο ή αλκαλικό περιβάλλον. Η όξινη αντίδραση περιλαμβάνει αντικατάσταση με ιόντα H^+ ενώ στην αλκαλική υδρόλυση OH^- αντικαθιστούν εστερικές ομάδες στο μόριο της φ.ο. Για παράδειγμα η υδρόλυση του chlorpyrifos εμφανίζεται ταχέως σε αλκαλικές συνθήκες, ενώ των σουλφονουριών σε όξινα περιβάλλοντα. Οι αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα στην επιφάνεια των ανόργανων συστατικών της αργίλου και στην ελεύθερη επιφάνεια επαφής νερού-εδάφους. Για το λόγο αυτό η οργανική ουσία και η άργιλος μπορούν να επιταχύνουν την υδρολυτική δραστηριότητα παρέχοντας μεγαλύτερη ελεύθερη επιφάνεια για την πρόοδο των υδρολυτικών αντιδράσεων. Με τη μετακίνηση των φ.ο. σε βαθύτερα εδαφικά στρώματα (υπόγεια ύδατα ή κορεσμένη υπεδάφια ζώνη) η μικροβιακή αποδόμηση γίνεται περιορισμένη ή μηδενική και επομένως η υδρόλυση στα σημεία αυτά αποτελεί την καθοριστικότερη διεργασία αποδόμησης των φ.ο. Η θερμοκρασία θεωρείται σημαντικός παράγοντας επίδρασης του ρυθμού υδρόλυσης στο νερό και στο έδαφος. Ο ρυθμός υδρόλυσης μπορεί να προβλεφθεί από την κινητική εξίσωση ψευδο-πρώτης τάξης (Boulding and Ginn, 2004) που δίνεται από τη σχέση:

$$\frac{dC}{dt} = -k_H \cdot C \quad (4.1)$$

όπου

k_H ο ρυθμός υδρόλυσης σε δεδομένη τιμή pH και

C είναι η συγκέντρωση της ουσίας

Η εκτίμηση του ρυθμού υδρόλυσης είναι σημαντική για την πρόβλεψη της τύχης των φ.ο. στο περιβάλλον και για την εκτίμηση της δυνατότητας ρύπανσης επιφανειακών και υπόγειων υδάτων. Επειδή όμως οι τιμές του pH στο εδαφικό διάλυμα είναι σταθερές ο ρυθμός υδρόλυσης σε δεδομένη τιμή pH εκφράζεται από τη σχέση (Schnoor, 1991)

$$k_H = k_{OH^-} [OH^-] + k_{H^+} [H^+] + k_{H_2O} \quad (4.2)$$

όπου

k_{OH^-} είναι ο ρυθμός υδρόλυσης που καταλύεται σε αλκαλικό περιβάλλον,

k_{H^+} είναι ο ρυθμός υδρόλυσης που καταλύεται σε όξινο περιβάλλον και

k_{H_2O} είναι ο ρυθμός υδρόλυσης σε ουδέτερο περιβάλλον

4.1.2. Αβιοτικές οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις

Ορισμένες φ.ο. είναι ευαίσθητες σε οξειδωτικές ή αναγωγικές αντιδράσεις που μπορούν να συμβούν κάτω από αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες εδάφους, αντίστοιχα. Για παράδειγμα πολλά οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά εντομοκτόνα (terbufos, phorate, isofenphos, aldicarb) μπορεί να αποτελέσουν υποστρώματα για σημαντικές οξειδωτικές αντιδράσεις σε αερόβια εδάφη. Επίσης ορισμένα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα καθώς και οργανοφωσφορικές ουσίες που περιέχουν νιτρο-ομάδα (π.χ parathion, fenitrothion) μπορούν να αποδομηθούν σε αναερόβιες συνθήκες εδάφους. Καθώς οι οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις περιλαμβάνουν μεταφορά ηλεκτρονίων η ένταση των αντιδράσεων υπολογίζεται από το δυναμικό οξειδοαναγωγής E_h . Ο όρος E_h είναι έκφραση της τάσης ενός αντιστρεπτού οξειδοαναγωγικού συστήματος να οξειδώνεται ή να ανάγεται. Ισχυρά οξειδωτικές συνθήκες περιβάλλοντος εμφανίζουν δυναμικό ισορροπίας περίπου +800 mV, ενώ ισχυρά αναγωγικές συνθήκες εμφανίζουν τιμή E_h περίπου -400 mV. Η ακριβής μέτρηση του E_h είναι αρκετά δύσκολη και τα συστήματα εδάφους-νερού είναι συχνά εκτός ισορροπίας οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων. Επομένως η τιμή E_h είναι περισσότερο ένας δείκτης παρά ένα σύστημα ακριβούς πρόβλεψης των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων. Η αερόβια αναπνοή είναι δυνατή και στα υπόγεια ύδατα όσο το οξυγόνο είναι παρόν. Θεωρητικά ένα μέρος του εν διαλύσει οξυγόνου καταναλώνεται στο έδαφος και στη μη-κορεσμένη υπεδάφια ζώνη εξαιτίας της μικροβιακής αναπνοής και της αποδόμησης της οργανικής ύλης. Για το λόγο αυτό καθώς το νερό μετακινείται σε βαθύτερα εδαφικά στρώματα οι οξειδοαναγωγικές συνθήκες γίνονται προοδευτικά πιο αναγωγικές. Τα αμμώδη εδάφη εμφανίζουν ισχυρότερες οξειδωτικές συνθήκες καθώς περιέχουν μεγαλύτερα επίπεδα οξυγόνου σε σχέση με τα ιλυώδη και αργιλώδη. Η είσοδος εξωγενούς οργανικής ύλης στο έδαφος συνήθως μειώνει σημαντικά την τιμή E_h λόγω της ταχείας μείωσης του διαθέσιμου οξυγόνου που οφείλεται στην έντονη μικροβιακή δραστηριότητα (Boulding and Ginn, 1994)

4.1.3 Φωτοαποδόμηση

Η φωτοαποδόμηση (φωτόλυση) μιας φ.ο. είναι η χημική αντίδραση διάσπασης που οφείλεται στη παρουσία φωτός. Η διεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί τόσο στο έδαφος όσο και σε υδάτινα περιβάλλοντα. Η φωτόλυση όμως στο έδαφος είναι πιο σύνθετη διεργασία λόγω της καταλυτικής δράσης του ίδιου του εδάφους. Η φωτοαποδόμηση στο έδαφος μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε άμεση και σε έμμεση. Η άμεση φωτόλυση ξεκινά με το μόριο της φ.ο. να απορροφά ένα φωτόνιο. Το μόριο μεταπίπτει σε κατάσταση διέγερσης με τελικό αποτέλεσμα τη διάσπαση ενός δεσμού. Η άμεση φωτοαποδόμηση είναι η λιγότερο σημαντική διεργασία στο εδαφικό περιβάλλον λόγω της περιορισμένης ποσότητας UV ακτινοβολίας που μπορεί να διεισδύσει στο επιφανειακό έδαφος. Έχει υπολογιστεί ότι το ηλιακό φως, ενώ μπορεί να διεισδύσει στα επιφανειακά ύδατα σε βάθος 5-6 μέτρων, στο έδαφος διεισδύει σε βάθος έως 2 mm με το 95% της προσπίπτουσας στο έδαφος ακτινοβολίας να εμποδίζεται στα πρώτα 0,5 mm. Η έμμεση διεργασία φωτόλυσης οφείλεται σε προσρόφηση του φωτός από ανόργανα ή οργανικά συστατικά του εδάφους τα οποία μεταπίπτουν έτσι σε κατάσταση διέγερσης (φωτοευαισθητοποιητές). Τα διεγερμένα αυτά συστατικά μπορούν να μεταφέρουν την ενέργεια στο μόριο της φ.ο. Επίσης μπορεί να συμβεί μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ της διεγερμένης ουσίας και της φ.ο. ή να σχηματιστούν ενεργά είδη (*reactive species*), όπως ελεύθερη ρίζα οξυγόνου ή υπεροξειδίου, που μετέχουν στη συνέχεια σε διάφορες φωτοχημικές αντιδράσεις (*photo-induced reaction*). Πλεονέκτημα της έμμεσης φωτόλυσης σε σχέση με την άμεση είναι η εκμετάλλευση μεγαλύτερου εύρους μηκών κύματος σε σχέση με το περιορισμένο μήκος κύματος στο οποίο απορροφά η φ.ο. (Schnoor, 1991). Παράγοντες που επηρεάζουν την φωτοαποδόμηση είναι τα ανόργανα συστατικά της αργίλου, η περιεχόμενη οργανική ουσία, η υδατική κατάσταση του εδάφους και η παρουσία άλλων οργανικών ουσιών. Πολλά ανόργανα συστατικά της αργίλου περιέχουν σίδηρο που εμπλέκεται στο σχηματισμό ενεργών αντιδρώντων, όπως οι ρίζες υδροξυλίου. Επίσης η τιμή του pH μπορεί να επηρεάσει την πορεία φωτόλυσης ιονιζόμενων φ.ο. και έχει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή ριζών υδροξυλίου. Η ανταγωνιστική προσρόφηση του ηλιακού φωτός από τις χρωμοφόρες ουσίες του εδάφους, διάφορες διεργασίες προσρόφησης καθώς και η ανταγωνιστική βιοτική και αβιοτική διάσπαση περιπλέκουν ακόμη περισσότερο την διεργασία φωτοαποδόμησης σε φυσικές συνθήκες. Επίσης, βοηθητικές ουσίες που περιέχονται στα σκεύασματα μπορούν σε ορισμένες περιπτώσεις να εμπλακούν στην φωτοαποδόμηση ως ενδιάμεσοι αποδέκτες φωτονίων. Ο ρυθμός φωτοαποδόμησης k_p (s^{-1}) μπορεί να υπολογιστεί από την εξίσωση

$$k_p = \frac{2,303}{J} \cdot \phi \cdot \sum I_\lambda \cdot \varepsilon_\lambda \quad (4.3)$$

όπου

J η σταθερά μετατροπής (*conversion constant*) και ισούται με $6,02 \times 10^{20}$

ϕ η κβαντική απόδοση (*quantum yield*)

I_λ η ένταση του φωτός σε μήκος κύματος λ ($cm^{-2} \cdot s^{-1}$) και

ε_λ ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης σε μήκος κύματος λ ($molarity^{-1} \cdot cm^{-1}$)

Η κβαντική απόδοση ϕ είναι μέτρο της αποτελεσματικότητας της διεργασίας της φωτοχημικής ενεργοποίησης και ισούται με το λόγο του αριθμού των μορίων που διεγέρθηκαν προς την ένταση του απορροφημένου φωτός. Τιμή ϕ ίση με μηδέν δείχνει ότι καμία χημική αντίδραση δεν

πραγματοποιήθηκε ενώ τιμή 1 δείχνει ότι το σύνολο των μορίων της φ.ο. διεγέρθηκαν εξαιτίας της απορρόφησης φωτονίων (Meallier, 1998).

4.2. Βιοαποδόμηση

4.2.1. Χαρακτηριστικά του μικροβιακού μεταβολισμού

Βακτήρια, ακτινοβακτήρια και μύκητες είναι οι κυριότεροι μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στην ενζυμικά ελεγχόμενη αποδόμηση και είναι ικανοί να μεταβολίσουν και συχνά να οδηγήσουν σε πλήρη ανοργανοποίηση μεγάλο αριθμό οργανικών μορίων. Εκτιμάται ότι τα είδη των βακτηρίων που απαντώνται σε ένα γραμμάριο εδάφους είναι 6400 έως 38000, ενώ ο πληθυσμός τους μπορεί να υπερβαίνει τα 10^8 κύτταρα ανά γραμμάριο. Επίσης, ο αριθμός των αποικιών των μυκήτων στην ίδια ποσότητα εδάφους μπορεί να υπερβαίνει τις 10^5 . Η αποδόμηση με τη βοήθεια μικροοργανισμών θεωρείται υπεύθυνη για το 90% των συνολικών αντιδράσεων αποδόμησης στο περιβάλλον (Alexander, 1981; Kearney and Karns, 1987).

Βιοαποδόμηση είναι η βιολογικά καταλυόμενη διάσπαση των χημικών ουσιών. Θεωρείται παράγοντας κλειδί για τον καθορισμό της τύχης των φ.ο. και άλλων ξενοβιοτικών ουσιών στο περιβάλλον. Στη διεργασία αυτή τα οργανικά μόρια συνήθως χρησιμοποιούνται σαν πηγή άνθρακα και ενέργειας από ετερότροφους μικροοργανισμούς. Αν και η αποδόμηση μιας φ.ο. μπορεί να οφείλεται στην δράση ενός μικροοργανισμού, συνήθως οφείλεται σε κοινότητες (*consortia*) μικροοργανισμών, όπου κάθε είδος μικροοργανισμού παράγει ένζυμα ικανά να καταλύσουν ένα συγκεκριμένο στάδιο στην πορεία αποδόμησης του αρχικού μορίου (Golovlieva et al., 1990). Η πλήρης πορεία αποδόμησης ονομάζεται ανοργανοποίηση (*mineralization*) και οδηγεί στην παραγωγή CO_2 , αλάτων και νερού. Η αποδόμηση ενός μορίου μπορεί επίσης αντί της πλήρους ανοργανοποίησης να οδηγήσει στο σχηματισμό ενδιάμεσων προϊόντων. Οι ρυθμοί και τα μεταβολικά μονοπάτια της πορείας βιοαποδόμησης των φ.ο. στο έδαφος καθορίζονται από παράγοντες που έχουν σχέση με τις ιδιότητες της φ.ο., το έδαφος και τους αποδομητικούς μικροοργανισμούς, ενώ πολλές φορές οι παράγοντες αυτοί αλληλεπιδρούν.

4.2.2. Διεργασίες που περιλαμβάνονται στη μικροβιακή αποδόμηση

Η συμβολή των μικροοργανισμών στην αποδόμηση των φ.ο. μπορεί να σχετίζεται με ενζυμικές ή μη ενζυμικές διεργασίες. Στις μη ενζυμικές αντιδράσεις περιλαμβάνονται η συνεισφορά των μικροοργανισμών στην πορεία της αποδόμησης μέσω των μεταβολών που επιφέρουν στην τιμή του εδαφικού pH και η παραγωγή προϊόντων που αλληλεπιδρούν με τις φ.ο. σε χημικές και φωτοχημικές αντιδράσεις. Κατά τη φωτοχημική διάσπαση οι μικροοργανισμοί λειτουργούν ως δότες ή δέκτες H^+ και OH^- ή επηρεάζουν τη φωτοχημική διεργασία απορροφώντας μια ποσότητα φωτεινής ενέργειας την οποία στη συνέχεια αποδίδουν στο μόριο της φ.ο. (Crosby, 1976; Matsumura, 1989).

Υπάρχουν τρεις κύριοι τύποι ενζυμικά καταλυόμενων αντιδράσεων των μικροοργανισμών με τις φ.ο.: ο καταβολισμός, ο συμμεταβολισμός και η βιοσυσσώρευση.

Στον **καταβολισμό** η φ.ο. στηρίζει τη μικροβιακή ανάπτυξη παρέχοντας θρεπτικά συστατικά, όπως άνθρακα και άζωτο, και λειτουργώντας σαν πηγή ενέργειας. Στην περίπτωση αυτή η μείωση της συγκέντρωσης της ουσίας που μεταβολίζεται συμβαδίζει με την αύξηση του αριθμού των αποδομητικών μικροοργανισμών (*growth-linked degradation*). Σε πολλές περιπτώσεις μόνο ένα μέρος

της ενέργειας του μορίου της φ.ο. χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη και επομένως η πλήρης ανοργανοποίηση της ουσίας δεν είναι αναγκαία συνθήκη (Matsumura, 1989). Για την εκκίνηση της καταβολικής διαδικασίας η συγκέντρωση της φ.ο. θα πρέπει να υπερβαίνει μια ορισμένη τιμή ενεργοποίησης (*threshold concentration for growth*).

Ο δεύτερος τύπος μεταβολισμού ονομάζεται **συμμεταβολισμός** (*cometabolism*) και είναι η πιο κοινή διεργασία αποδόμησης των φ.ο. Ο συμμεταβολισμός είναι, σύμφωνα με τον Bouwer (1989), η διεργασία αποδόμησης μιας ουσίας (δευτερεύον υπόστρωμα) παρουσία μιας άλλης ουσίας (κύριο υπόστρωμα) που χρησιμοποιείται από τους μικροοργανισμούς για την αύξηση και ανάπτυξη τους. Το κύριο υπόστρωμα χρησιμοποιείται για τη ανάπτυξη των μικροοργανισμών οι οποίοι παράγουν ένα ή περισσότερα ένζυμα χαμηλής ειδικευσης (*broad spectrum enzymes*) που μπορούν να δράσουν και στο συμμεταβολιζόμενο (δευτερεύον) υπόστρωμα. Ο συμμεταβολισμός είναι μια τυχαία διεργασία στην οποία δεν εμφανίζεται περίοδος υστέρησης και η φ.ο. δεν χρησιμοποιείται ως πηγή ενέργειας (Bending and Rodriguez-Cruz, 2007). Τα ένζυμα που σχετίζονται με αυτό τον τύπο αποδόμησης είτε εμφανίζουν χαμηλή ειδικευση υποστρώματος, όπως υδρολάσες, ρεδοκτάσες και οξειδάσες, είτε πρόκειται για εξειδικευμένα ένζυμα, που παράγονται όμως από μεγάλο αριθμό μικροοργανισμών. Τα κύρια υποστρώματα μπορεί να είναι άλλα οργανικά φυσικά υποστρώματα που το μόριο τους εμφανίζει δομικές ομοιότητες με το μόριο του δευτερεύοντος υποστρώματος (φ.ο.) (Matsumura, 1989). Μέσω συμμεταβολισμού είναι δυνατή η αποδόμηση φ.ο. που βρίσκονται στο εδαφικό περιβάλλον σε συγκεντρώσεις μικρότερες από αυτές του ορίου ενεργοποίησης του μεταβολισμού (Torang, 2003). Ο συμμεταβολισμός κατά κανόνα επιτρέπει τη βιολογική μετατροπή του μορίου της φ.ο. αλλά όχι την ανοργανοποίηση του. Μπορεί όμως να αποτελέσει μέρος της πορείας πλήρους ανοργανοποίησης, εφόσον τα προϊόντα της αρχικής συμμεταβολικής αντίδρασης λειτουργούν ταυτόχρονα ως υποστρώματα άλλων βιολογικών αντιδράσεων. Επίσης, ουσίες που εκκρίνονται από το ριζικό σύστημα πολλών φυτών μπορεί να αποτελούν υποστρώματα ανάπτυξης συγκεκριμένων μικροβιακών πληθυσμών που διασπούν συμμεταβολικά διάφορες φ.ο. Η διαδικασία αυτή εξηγεί και την αυξημένο ρυθμό αποδόμησης πολλών φ.ο. στη ριζόσφαιρα σε σχέση με άλλα σημεία στο ίδιο έδαφος.

Ο τρίτος τύπος μεταβολισμού είναι η **βιοσυσσώρευση** (*bioaccumulation*). Χαρακτηρίζεται από πρόσληψη και συσσώρευση της φ.ο. με ενεργητικό ή παθητικό τρόπο από μικροοργανισμούς του εδάφους (Aislabie and Lloyd-Jones, 1995; Muller et al., 2007)

Η αποδόμηση των φ.ο. μπορεί να διακριθεί σε τρεις κατηγορίες:

- Στην πρώτη κατηγορία η αποδόμηση ξεκινά αμέσως μετά την επαφή των μικροοργανισμών με τη φ.ο. Η ουσία επομένως μπορεί άμεσα να χρησιμοποιηθεί σαν πηγή ενέργειας από τη μικροβιακή κοινότητα των αποδομητών. Φυτοπροστατευτικές ουσίες των οποίων η χημική δομή των μορίων τους ομοιάζει με φυσικές πηγές ενέργειας των μικροοργανισμών (απλούς υδατάνθρακες, αμινοξέα, πρωτεΐνες, αλκοόλες, οξέα) αποδομούνται χωρίς την απαίτηση για χρόνο προσαρμογής.
- Στην δεύτερη κατηγορία εμφανίζεται μια περίοδος υστέρησης που προηγείται του σταδίου της ταχείας αποδόμησης. Η υστέρηση σχετίζεται με μια περίοδο προσαρμογής, κατά την οποία παρατηρούνται μεταβολές στη γενετική σύσταση του μικροβιακού πληθυσμού και επαγωγή της σύνθεσης ενζύμων απαραίτητων για τον μεταβολισμό των φ.ο.

- Στην τρίτη κατηγορία περιλαμβάνονται περιπτώσεις φ.ο. που αποδομούνται με αργό ρυθμό. Τέτοιες φ.ο. χαρακτηρίζονται ως ιδιαίτερα ανθεκτικές στη διάσπαση (*recalcitrant*) ουσίες, συνήθως είναι μικρής υδατοδιαλυτότητας και περιέχουν άτομα αλογόνου στο μόριο τους. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οργανοχλωριωμένες ενώσεις και αποδομούνται κυρίως συμμεταβολικά. Η ανθεκτικότητα στη μικροβιακή αποδόμηση αυτών των φ.ο. έχει αποδωθεί στην αδυναμία σύνθεσης ενζύμων που απαιτούνται για την ανοργανοποίηση των ουσιών αυτών από τους μικροοργανισμούς (Seiber, 2002)

4.2.3. Φάση υστέρησης

Σε μερικές περιπτώσεις πριν τη φάση της αποδόμησης παρατηρείται μια αρχική περίοδος όπου η ταχύτητα αποδόμησης είναι μικρή ή μηδενική. Η αρχική αυτή περίοδος χαρακτηρίζεται ως φάση υστέρησης (*lag phase*) ή χρόνος προσαρμογής (*acclimation period*). Η διάρκεια της φάσης αυτής μπορεί να κυμαίνεται από μερικές ώρες έως και μήνες. Τα πιθανά αίτια εμφάνισης της φάσης υστέρησης είναι:

- Ο χρόνος που απαιτείται για την επαγωγή σύνθεσης των απαραίτητων ενζύμων από τους μικροβιακούς αποδομητές
- Ο μικροβιακός πληθυσμός που χρησιμοποιεί τη φ.ο. ως πηγή άνθρακα ή άλλου θρεπτικού συστατικού θα πρέπει να υπερβεί ένα συγκεκριμένο κατώφλι ώστε να καταστεί δυνατή η ταχύτερη μείωση της συγκέντρωσης της φ.ο.
- Ταυτόχρονη παρουσία δύο υποστρωμάτων. Η σύνθεση των ενζύμων, που είναι υπεύθυνα για την αποδόμηση της φ.ο., είναι δυνατή μόνο μετά από την πλήρη διάσπαση μιας δεύτερης ουσίας που αποτελεί προτιμότερο υπόστρωμα ανάπτυξης (φαινόμενο *diauxy*)
- Διάφορες διεργασίες μεταλλάξεων γονιδίων που κωδικοποιούν τη σύνθεση νέων ενζύμων που εμπλέκονται στην αποδόμηση τη φ.ο.
- Οριζόντια μεταφορά γονιδίων (*horizontal gene transfer*). Είναι η μεταφορά γονιδίων μεταξύ μελών της μικροβιακής κοινότητας που οδηγούν σε γενετικό ανασυνδυασμό και δημιουργία νέων μεταβολικών οδών για αποδόμηση (Anonymous, 2000)
- Στην παρουσία τοξινών και στην ανασταλτική δράση ορισμένων φ.ο. στη μικροβιακή κοινότητα, ιδιαίτερα σε υψηλές συγκεντρώσεις. Στις περιπτώσεις αυτές η αποδόμηση δεν αναστέλλεται πλήρως αλλά προχωρά με βραδείς ρυθμούς έως ότου η συγκέντρωση των υπολειμμάτων της φ.ο. φτάσει σε ένα επίπεδο, όπου η ταχεία αποδόμηση να είναι δυνατή (Alexander, 1999)


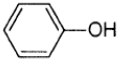
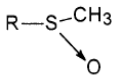

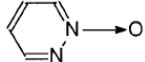
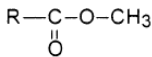
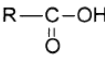

Σε ορισμένες περιπτώσεις η φάση υστέρησης μπορεί να εμφανιστεί σε εργαστηριακής κλίμακας πειράματα αποδόμησης ως αποτέλεσμα πειραματικού σφάλματος οφειλόμενου στη μακροχρόνια αποθήκευση του εδάφους σε συνθήκες που οδηγούν σε μείωση της ενεργής βιομάζας (π.χ. υπερβολική ξήρανση του αρχικού δείγματος). Η μορφή αυτή της υστέρησης μπορεί να αποφευχθεί με αποθήκευση του αρχικού δείγματος σε κατάλληλες συνθήκες και με επαναφορά της ισορροπίας του μικροβιακού μεταβολισμού μετά την αποθήκευση και πριν την έναρξη της διαδικασίας επώασης (OECD, 2002). Στις περιπτώσεις που η φάση υστέρησης οφείλεται σε σφάλμα του πειραματικού σχεδιασμού η αρχική αυτή φάση υστέρησης δεν πρέπει να συνυπολογίζεται στη εκτίμηση της κινητικής συμπεριφοράς.

4.2.4. Μηχανισμοί βιοαποδόμησης

Στους μηχανισμούς βιοαποδόμησης περιλαμβάνονται:

Υδρόλυση: Η υδρόλυση (*hydrolysis*) περιλαμβάνει διάσπαση αμιδικών ή εστερικών δεσμών (**πίνακας 4.1**). Συχνά αποτελεί το πρώτο βήμα στο μεταβολισμό πολλών φ.ο. Η αντίδραση καταλύεται από μεγάλο αριθμό ενζύμων (εστεράσες, αμιδάσες, φωσφατάσες, χιτινάσες) που καταλύουν ποικίλα υποστρώματα, κυρίως αυτά που στο μόριο τους περιέχονται αμιδικές, καρβαμιδικές ή εστερικές λειτουργικές ομάδες (Golovíeva et al., 1990). Οι περισσότερες από τις υδρολάσες είναι εξωκυτταρικά ένζυμα που εμφανίζουν χαμηλή εξειδίκευση υποστρώματος. Τέτοιες αντιδράσεις μπορούν να πραγματοποιηθούν τόσο σε αερόβιες όσο και σε αναερόβιες συνθήκες. Τα προϊόντα της υδρολυτικής δραστηριότητας είναι περισσότερο υδρόφιλα από τα αρχικά μόρια και για το λόγο αυτό μπορούν να εκπλυθούν σε βαθύτερα εδαφικά στρώματα πιο εύκολα από τα μητρικά μόρια. Η διάκριση μεταξύ χημικής και βιολογικής υδρόλυσης δεν είναι πάντα εφικτή

Πίνακας 4.1. Σχηματική απεικόνιση των κυριότερων αντιδράσεων αποδόμησης των φ.ο. (Van Eerd et al., 2003)

| Αντίδραση | | Σχηματική απεικόνιση | |
|-----------|----------------------|--|---|
| Οξειδωση | Αρυλο-υδροξυλίωση |  | →  |
| | O-απαλκυλίωση | R—OCH ₃ | → R—OH |
| | N-απαλκυλίωση | R—NHCH ₃ | → R—NH ₂ |
| | Οξειδωτική απαμίνωση | R—NH—NH ₂ | → R—NH ₂ |
| | Σουλφοξειδωση | R—S—CH ₃ | →  |
| | N-οξειδωση |  | →  |
| Αναγωγή | Νιτρο-αναγωγή | R—NO ₂ | → R—NH ₂ |
| Υδρόλυση | Εστέρας |  | →  |
| | Αμίδιο | R—NH—  —CH ₂ CH ₃ | → R—NH ₂ |
| | Νιτρίλιο | R—C≡N | → R—C—O—NH ₂ |

Οξειδωση: Οι οξειδωτικές διεργασίες (*oxidation*) είναι μείζονος σημασίας στην αποδόμηση των φ.ο. και άλλων ξενοβιοτικών ουσιών, ειδικά σε περιπτώσεις όπου η οξειδωτική αντίδραση ακολουθεί ένα αρχικό στάδιο υδρόλυσης ή απομάκρυνσης αλογόνων του αρχικού μορίου (Golovíeva et al., 1990). Οι κυριότερες αντιδράσεις της κατηγορίας αυτής είναι η υδροξυλίωση, η διάνοιξη του αρωματικού δακτυλίου, η οξειδωτική O- και N- απαλκυλίωση και η εποξειδωση. Πολλές από τις αντιδράσεις αυτές σχετίζονται με οξειδωτικά ένζυμα μονοξυγενασών του κυτοχρώματος P450, υπεροξειδάσες, λακάσες, τυροσινάση και πολυφαινολοξειδάσες. Ένζυμα όπως οι μονοξυγενάσες, οι διοξυγενάσες και οι

φλαβινο-μονοξυγενάσες, που παράγονται από ορισμένα βακτήρια, εμπλέκονται στις αρχικές οξειδωτικές αντιδράσεις πολλών νιτροαρωματικών φ.ο. (Van Eerd et al., 2003)

Απομάκρυνση αλογόνων: Η απομάκρυνση αλογόνων (*dehalogenation*) από το μόριο της φ.ο. είναι σημαντικός μηχανισμός αποδόμησης αλογονομένων φ.ο. και μπορεί να συμβεί τόσο σε αερόβιες όσο και σε αναερόβιες συνθήκες. Η βιοαποδόμηση των αλογονωμένων φ.ο. μπορεί να θεωρηθεί πλήρης μόνο εφόσον τα αλογόνα μεταπέσουν από την οργανική στην ανόργανη κατάσταση. Επομένως ο ρυθμός μεταβολισμού τέτοιων ουσιών μπορεί να υπολογιστεί από τη μέτρηση των ιόντων αλογόνου που παράγονται (Wolfaardt, 1995)

Σύζευξη: Οι αντιδράσεις σύζευξης (*conjugation*) περιλαμβάνουν ξυλοσυλίωση (*xylosylation*), αλκυλίωση (*alkylation*), ακυλίωση (*acylation*) και νιτρώδωση (*nitrosation*) και μπορούν να πραγματοποιηθούν τόσο ενδοκυτταρικά όσο και εξωκυτταρικά. Η μεθυλίωση είναι συνήθης μεταβολική οδός σε ορισμένα βακτήρια και μύκητες. Η ακυλίωση συμβαίνει συχνά από μύκητες σε προϊόντα αποδόμησης φαινυλοακυλανιλίων, φαινυλ-καρβαμιδικών και υποκατεστημένων φαινυλουριών, δηλαδή φαινόλες και ανιλίνες. Η νιτρώδωση (*nitrosation*) είναι διεργασία κατά την οποία η νιτρωδω-ομάδα αντιδρά με δευτερογενείς αμίνες για το σχηματισμό παραγώγων της νιτροζαμίνης (Van Eerd et al., 2003)

Αναγωγικές αντιδράσεις: Γενικά έχουν χαρακτηριστεί τρία μονοπάτια αναγωγικού μεταβολισμού (*reduction processes*), η αρωματική νιτρική αναγωγή, η μερική νιτρική αναγωγή και η προσθήκη υδρογόνου (*hydrogenation*). Οι αναγωγικές αυτές αντιδράσεις καταλύονται από τις νιτρορεδουκτάσες πολλών αερόβιων και αναερόβιων βακτηρίων και ορισμένων μυκήτων. Οι νιτρορεδουκτάσες είναι φλαβονοπρωτεΐνες που χρησιμοποιούν NAD(P)H σαν ισοδύναμο αναγωγής, απαιτούν FMN/FAD σαν συμπαραγόντες και έχουν ποικίλη ευαισθησία σε διαφορετικές συγκεντρώσεις O₂. Πολλές φορές είναι δύσκολος ο διαχωρισμός μεταξύ βιολογικών και χημικών αναγωγικών αντιδράσεων (Van Eerd et al., 2003)

4.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την αποδόμηση στο έδαφος

Η μικροβιακή δραστηριότητα, άρα και η πορεία αποδόμησης των οργανικών ουσιών, ελέγχεται σε μεγάλο βαθμό από εδαφοκλιματικούς παράγοντες, όπως θερμοκρασία, pH, διαθέσιμα ανόργανα συστατικά αλλά και από τα χαρακτηριστικά της φ.ο.

4.3.1. Παρουσία οξυγόνου

Στην αερόβια βιοαποδόμηση το οξυγόνο λειτουργεί ως τελικός αποδέκτης ηλεκτρονίων. Αντίθετα στον αναερόβιο μεταβολισμό ως τελικοί αποδέκτες ηλεκτρονίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες ανόργανες και οργανικές ουσίες. Τα εδάφη καθίστανται ανοξικά (*anoxic*) όταν είναι πολύ συμπυκνή ή αργιλώδη με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η διάχυση του οξυγόνου και σε περιπτώσεις που προστίθενται μεγάλες ποσότητες βιοαποσυντιθέμενης οργανικής ύλης. Περιοχές μειωμένης συγκέντρωσης οξυγόνου μπορούν να εμφανιστούν και εντός των εδαφικών συσσωματωμάτων (*soil aggregates*). Πολλές βιολογικές δραστηριότητες πραγματοποιούνται με βραδύτερους ρυθμούς σε περιβάλλοντα μειωμένης συγκέντρωσης οξυγόνου, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις (οργανοχλωριωμένες ή νιτροαρωματικές φ.ο.) η αποδόμηση εμφανίζεται σχετικά γρήγορη κάτω από αναερόβιες συνθήκες.

4.3.2. Υγρασία εδάφους

Η θερμοκρασία και η περιεχόμενη υγρασία είναι οι κυριότεροι παράγοντες ρύθμισης της μικροβιακής δραστηριότητας και επομένως της ενζυμικά ελεγχόμενης αποδόμησης στο έδαφος. Οι δύο αυτοί παράγοντες αλληλεπιδρούν αν και σε όλες τις μελέτες βιοαποδόμησης χρησιμοποιούνται ως διαφορετικές και ανεξάρτητες μεταβλητές (Soulas and Lagacherie, 2001). Η επαρκής υγρασία είναι απαραίτητη για τις μεταβολικές διεργασίες στο εσωτερικό του κυττάρου και επιπλέον είναι μέσο μεταφοράς οργανικών και ανόργανων συστατικών στο κύτταρο και μετακίνησης των προϊόντων της βιοαποδόμησης από το εσωτερικό του κυττάρου στο περιβάλλον. Εδαφική υγρασία που αντιστοιχεί στο 40-60% της μέγιστης υδατοχωρητικότητας θεωρείται ιδανική για τις αντιδράσεις αποδόμησης. Σε επίπεδα υγρασίας μικρότερα των παραπάνω τιμών η ταχύτητα αποδόμησης εμφανίζεται μειωμένη, ενώ σε υψηλότερα η αποδόμηση αναστέλλεται μερικώς καθώς μειώνεται η συγκέντρωση οξυγόνου στους μικροπόρους του εδάφους. Σε μη κορεσμένες με υγρασία υπεδάφεις ζώνες (*vadose zone*) οι συνθήκες υψηλής υγρασίας είναι μόνιμες και επομένως κατάλληλες για βιοαποδόμηση (Jones and Vogt, 1999)

4.3.3. Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία είναι σημαντικός παράγοντας ελέγχου του ρυθμού μικροβιακής ανάπτυξης. Ο ρυθμός ανάπτυξης αυξάνεται γρήγορα με αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι ενός σημείου. Πέρα από το σημείο αυτό ακόμη και μικρή αύξηση της θερμοκρασίας μπορεί να μειώσει δραματικά το ρυθμό ανάπτυξης. Σε αντίθεση με τις υψηλές θερμοκρασίες οι χαμηλές θερμοκρασίες δεν είναι θανατηφόρες. Η μείωση της μεταβολικής δραστηριότητας σε θερμοκρασίες μικρότερες της ιδανικής για ανάπτυξη οφείλεται σε μειωμένη ενζυμική δραστηριότητα και στην απώλεια ρευστότητας των κυτταρικών μεμβρανών. Η απότομη μείωση της θερμοκρασίας έχει μεγαλύτερο αντίκτυπο στη μείωση της μικροβιακής δραστηριότητας σε σχέση με τη βαθμιαία μείωση της θερμοκρασίας, καθώς η βαθμιαία μείωση επιτρέπει τον εγκλιματισμό του μικροβιακού πληθυσμού στις χαμηλές θερμοκρασίες. Κάθε μικροβιακός πληθυσμός έχει ένα ευρύ ή περιορισμένο θερμοκρασιακό εύρος για ανάπτυξη. Οι μικροοργανισμοί κατατάσσονται σύμφωνα με το θερμοκρασιακό αυτό εύρος ανάπτυξης σε ψυχρόφιλους, μεσόφιλους και θερμόφιλους. Επομένως όποιες μεταβολές στις συνθήκες θερμοκρασίας του εδάφους μπορεί να προκαλέσουν μεγάλες αλλαγές στη σύνθεση του μικροβιακού πληθυσμού. Αυξημένες συνθήκες θερμοκρασίας, όμως, δεν οδηγούν πάντα σε μεγαλύτερη τιμή μικροβιακής δραστηριότητας. Σε ορισμένες περιοχές μπορεί να παρατηρηθεί εντονότερη μικροβιακή δραστηριότητα την άνοιξη ή το φθινόπωρο σε σχέση με τη δραστηριότητα κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού ακόμη και όταν οι συνθήκες εδαφικής υγρασίας παραμένουν ίδιες σε όλη τη διάρκεια του χρόνου. Αυτό οφείλεται στην παρουσία ορισμένων μικροβιακών πληθυσμών προσαρμοσμένων να αναπτύσσονται ιδανικά σε σχετικά ψυχρά κλίματα (Matsumura, 1989). Η επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό της βιολογικής δραστηριότητας εκφράζεται συνήθως από την εξίσωση του Arrhenius

$$k = A \cdot \exp\left(-\frac{E_a}{R \cdot T}\right) \quad (4.4)$$

όπου

k είναι ο ρυθμός αποδόμησης (day^{-1})

A είναι ο ρυθμός αποδόμησης βάσης, ισοδύναμος με την τιμή του ρυθμού αποδόμησης σε άπειρη θερμοκρασία (d^{-1}),

E_a είναι η ενεργεία ενεργοποίησης ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$),

R είναι η παγκόσμια σταθερά των αερίων ($0,008314 \text{ kJ}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$) και

T είναι η απόλυτη θερμοκρασία ($^{\circ}\text{K}$).

Η εξίσωση του Arrhenius δίνει ακριβείς εκτιμήσεις σε ένα θερμοκρασιακό εύρος μεταξύ 0 και 30°C . Χρησιμοποιώντας την τιμή E_a μπορεί να υπολογιστεί η αναλογία του ρυθμού αποδόμησης σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες. Η ανάλυση βιβλιογραφικών δεδομένων έδειξε ότι η κατανομή των μέσων τιμών E_a για όλες τις φ.ο. εμφανίζει κανονικότητα σε λογαριθμική κλίμακα (*lognormal*), με αρμονικό μέσο όρο ίσο με $65.4 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (τιμή βάσης) (EFSA, 2007). Σε πολλές περιπτώσεις η τιμή E_a σχετίζεται και με τη χημική ομάδα στην οποία ανήκει μια ουσία. Για παράδειγμα, οι σουλφονυλοουρίες εμφανίζουν τιμές E_a σημαντικά μικρότερες από αυτές άλλων ομάδων φ.ο. Επίσης, φ.ο. της ίδιας ομάδας, που εμφανίζουν παρόμοιο τρόπο δράσης, μπορεί να παρουσιάζουν διαφορετική τιμή ενέργειας ενεργοποίησης αν η αποδόμηση τους στο έδαφος ακολουθεί διαφορετικά μεταβολικά μονοπάτια.

Σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius ο ρυθμός αποδόμησης σε ομοιογενή διαλύματα και κατά συνεπεία ο χρόνος ημιζωής μιας φ.ο. εξαρτάται από την ενέργεια ενεργοποίησης E_a και τη θερμοκρασία. Αν και τέτοιες σταθερές συνθήκες απέχουν από τις πραγματικές συνθήκες στα σύνθετα εδαφικά περιβάλλοντα η παραπάνω εξίσωση μπορεί να περιγράψει ικανοποιητικά την εξάρτηση του ρυθμού αποδόμησης από τη θερμοκρασία του εδάφους. Αν η αποδόμηση μιας φ.ο. περιγράφεται από κινητική πρώτης τάξης η εξίσωση Arrhenius μπορεί να λάβει τη μορφή

$$DT_{50(T_1)} = DT_{50(T_2)} \cdot \exp\left(\frac{E_a}{R} \cdot \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right]\right) \quad (4.5)$$

όπου

$DT_{50(T_1)}$ και $DT_{50(T_2)}$ είναι οι χρόνοι ημιζωής σε θερμοκρασίες T_1 και T_2 αντίστοιχα

Για τη μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας στο ρυθμό αποδόμησης των φ.ο. στο έδαφος έχει χρησιμοποιηθεί και ο συντελεστής Q_{10} . Η τιμή Q_{10} είναι ο λόγος της αύξησης του ρυθμού αποδόμησης με αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10 μονάδες. Η εξίσωση χρησιμοποιείται συχνά για να εκφράσει τη εξάρτηση της μικροβιακής δραστηριότητας από τη θερμοκρασία

$$Q_{10} = \frac{k_{T+10}}{k_T} \quad (4.6)$$

όπου

k_{T+10} και k_T είναι οι σταθερές ρυθμού σε θερμοκρασία $T+10$ και T , αντίστοιχα

Ως τιμή βάσης (*default value*) του Q_{10} έχει προταθεί η τιμή 2,2 (FOCUS, 1997) και πιο πρόσφατα η τιμή 2,58 (EFSA, 2007). Οι συντελεστές Q_{10} και E_a των παραπάνω εξισώσεων συνδέονται με τη σχέση

$$Q_{10} = \exp\left(\frac{\Delta T \cdot E_a}{R \cdot T_1 \cdot T_2}\right) \quad (4.7)$$

4.3.4. Τιμή pH

Η μεταβολική δραστηριότητα είναι ευαίσθητη σε αλλαγές της τιμής του εδαφικού pH και μάλιστα υπάρχει μια ορισμένη τιμή pH στην οποία η δραστηριότητα αυτή μεγιστοποιείται. Για παράδειγμα, η υδρόλυση των σουλφονουλουριών καταλύεται σε όξινο περιβάλλον και επομένως οι ουσίες αυτές είναι πιο υπολειμματικές σε αλκαλικά περιβάλλοντα. Σε ακραία όξινα ή αλκαλικά περιβάλλοντα εμφανίζεται μικρότερη μικροβιακή ποικιλότητα και επομένως η χημική αποδόμηση συχνά υπερτερεί της μικροβιακής. Τα περισσότερα βακτήρια αναπτύσσονται ιδανικά σε τιμές ουδέτερου έως ελαφρώς αλκαλικού pH, ενώ ορισμένες ομάδες βακτηρίων είναι σε θέση να επιβιώσουν σε έντονα όξινες (pH<4) ή αλκαλικές συνθήκες (pH>9). Οι όξινες συνθήκες περιβάλλοντος ευνοούν τους μύκητες, που αναπτύσσονται ιδανικά σε τιμές pH 5-6. Ακόμη είναι δυνατό οι μικροβιακοί πληθυσμοί να μεταβάλουν, εντός ορισμένων ορίων, τη τιμή του pH του περιβάλλοντος ανάπτυξης του. Παράδειγμα, οι ζυμώσεις, η νιτροποίηση και η παραγωγή CO₂ κατά την αερόβια αναπνοή οδηγούν σε μείωση της τιμής του pH, ενώ η διάσπαση οργανικών ουσιών που περιέχουν άζωτο μπορεί να αυξήσει την τιμή του pH λόγω απελευθέρωσης NH₄⁺. Τέτοιες μεταβολές της τιμής του pH μπορούν να οδηγήσουν σε αλλαγές στη σύνθεση του μικροβιακού πληθυσμού ακόμη και να δημιουργήσουν ένα περιβάλλον ανάπτυξης τοξικό για ορισμένες κατηγορίες μικροοργανισμών

4.3.5. Διαθεσιμότητα ανόργανων συστατικών

Από τα ανόργανα συστατικά που είναι απαραίτητα για τη μικροβιακή ανάπτυξη, συχνά το άζωτο και ο φώσφορος δεν βρίσκονται σε επαρκή ποσότητα στο έδαφος. Η προσθήκη των συστατικών αυτών, με τη μορφή ανόργανης λίπανσης, μπορεί να επηρεάσει θετικά τη μικροβιακή δραστηριότητα. Η προσθήκη ανόργανης λίπανσης μπορεί επίσης να επηρεάσει έμμεσα την πορεία αποδόμησης, μέσω μεταβολών στην οσμωτική πίεση.

4.3.6. Τοξικές συνθήκες και ανταγωνισμός με άλλους μικροοργανισμούς

Συνθήκες μερικής ή πλήρους αναστολής της πορείας βιοαποδόμησης μπορεί να επέλθουν όταν η συγκέντρωση ενός ή περισσοτέρων ουσιών είναι μεγαλύτερη από αυτή που θεωρείται ανεκτή από τους μικροοργανισμούς. Το ίδιο ισχύει και όταν στο έδαφος περιέχονται ανόργανα συστατικά, κυρίως μέταλλα, σε τοξικές για τους μικροοργανισμούς συγκεντρώσεις ή αντιβιοτικές ουσίες που παράγονται από ανταγωνιστικούς μικροοργανισμούς. Οι οργανισμοί που είναι ικανοί για αποδόμηση μιας συγκεκριμένης φ.ο. θα πρέπει να ανταγωνιστούν άλλους μικροοργανισμούς που συνυπάρχουν στο ίδιο περιβάλλον για θρεπτικά συστατικά και για χώρο.

4.3.7. Αρχική συγκέντρωση φ.ο.

Η ενζυμικά ελεγχόμενη πορεία αποδόμησης μπορεί να πραγματοποιηθεί σε ένα εύρος συγκεντρώσεων της ουσίας-στόχου. Πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις της ουσίας δεν μπορούν να υποστηρίξουν τη μικροβιακή ανάπτυξη, ενώ πολύ υψηλές μπορεί να οδηγήσουν σε αναστολή της βιοαποδόμησης λόγω τοξικότητας. Κάτω από ένα όριο συγκέντρωσης της ουσίας στο νερό (τυπικά <10 μg·L⁻¹) η ανάπτυξη των αποδομητικών μικροοργανισμών δεν είναι δυνατή, καθώς σε τόσο χαμηλές συγκεντρώσεις δεν είναι δυνατή η επαγωγή σύνθεσης αποδομητικών ενζύμων. Κάτω από το όριο αυτό επομένως οι αποδομητικοί πληθυσμοί εμφανίζουν μείωση του αριθμού τους ή μείωση του μεγέθους του κυττάρου τους και η συνεχής πορεία του μεταβολισμού σταματά (Torang, 2003).

Αντίθετα, σε περίπτωση που η συγκέντρωση της φ.ο. είναι πολύ υψηλή παρατηρούνται συχνά τοξικές επιδράσεις στους αποδομητικούς μικροβιακούς πληθυσμούς με αποτέλεσμα τη μείωση της ταχύτητας αποδόμησης. Η τοξικότητα ορισμένων φ.ο. σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να αυξηθεί από την ταυτόχρονη παρουσία άλλων οργανικών ή ανόργανων ρύπων.

4.3.8. Επαναλαμβανόμενη εφαρμογή της ουσίας

Η επαναλαμβανόμενη εφαρμογή της ίδιας φ.ο. στο ίδιο έδαφος είναι πιθανό να οδηγήσει σε επιτάχυνση της μικροβιακής διάσπασης της φ.ο. λόγω μικροβιακής προσαρμογής και το φαινόμενο αυτό ονομάζεται επιταχυνόμενη βιοαποδόμηση (*enhanced biodegradation*). Η εμφάνιση του εξελικτικού αυτού φαινομένου προϋποθέτει την ύπαρξη ενός μικροβιακού πληθυσμού ικανού να χρησιμοποιήσει τη φ.ο. σαν πηγή άνθρακα και ενέργειας. Η προσαρμογή των μικροβιακών αποδομητών στην ταχεία βιοαποδόμηση μιας συγκεκριμένης ουσίας είναι αποτέλεσμα πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ εδάφους, της φ.ο., μικροοργανισμών και περιβαλλοντικών συνθηκών. Επαναλαμβανόμενες εφαρμογές της ίδιας φ.ο. οδηγούν σε αύξηση του πληθυσμού των αποδομητών της, άρα και σε αύξηση της συνολικής αποδομητικής ικανότητας. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να αποδωθεί στην επαγωγή σύνθεσης νέων καταβολικών ενζύμων ή στην αύξηση της φυσιολογικής τους δραστηριότητας και στην οριζόντια γονιδιακή μεταφορά.

4.3.9. Ιδιότητες και βιοδιαθεσιμότητα της φ.ο.

Στις ιδιότητες της φ.ο. που επηρεάζουν την πορεία αποδόμησης περιλαμβάνονται η χημική δομή, το μοριακό βάρος, λειτουργικές ομάδες στο μόριο της, η συγκέντρωσή της, η βιοτοξικότητα και η υδατοδιαλυτότητα (Aislabie and Lloyd-Jones, 1995). Χαμηλή τιμή υδατοδιαλυτότητας, ισχυρή προσρόφηση σε εδαφικά συστατικά, διάχυση σε μακροπόρους και μη αντιστρεπτή πρόσδεση σε συστατικά εδάφους καθιστούν τις φ.ο. λιγότερο βιοδιαθέσιμες και συνεπώς μειώνουν τη δυνατότητα βιοαποδόμησης. Παράδειγμα, είναι η ισχυρή προσρόφηση του ζιζανιοκτόνου paraquat στο έδαφος που καθιστά το μόριο πρακτικά μη βιοδιαθέσιμο στους μικροβιακούς αποδομητές του. Πολλές φορές η αρχική διάσπαση μιας φ.ο. συνοδεύεται από ισχυρή προσρόφηση των μεταβολιτών στο έδαφος με αποτέλεσμα τα προϊόντα αυτά να καθίστανται μη βιοδιαθέσιμα (Golovlieva et al., 1990).

4.4. Επίδραση της ενσωμάτωσης στο έδαφος λιγνινοκυτταρινούχων υποστρωμάτων και χουμοποιημένης ύλης στην ικανότητα αποδόμησης φ.ο.

Η ενσωμάτωση χουμοποιημένης οργανικής ύλης στο έδαφος μπορεί να μεταβάλει τις κινητικές παραμέτρους της αποδόμησης των φ.ο. Η μεταβολή αυτή εξαρτάται τόσο από τα φυσικοχημικά και βιολογικά χαρακτηριστικά των υλικών που ενσωματώνονται όσο και από τις ιδιότητες της φ.ο. Η προσθήκη οργανικής ουσίας εξωγενούς προέλευσης αυξάνει τη σταθεροποίηση (*stabilization*) των φ.ο. στο βιομίγμα κυρίως μέσω των διεργασιών προσρόφησης, που οδηγεί σε μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των φ.ο. Αντίθετα, η βελτίωση του ρυθμού αποδόμησης συχνά ερμηνεύεται από την αύξηση της συνολικής μικροβιακής δραστηριότητας, η οποία ευνοεί την αποδόμηση των φ.ο. μέσω συμμεταβολικών διεργασιών (Bariusso et al., 1997; Hance, 1973). Η προσθήκη οργανικής ουσίας εξωγενούς προέλευσης με τη μορφή κομπόστας μπορεί να επηρεάσει την αποδόμηση των φ.ο. με τρεις τρόπους:

- Η παρουσία κομπόστας στο έδαφος ευνοεί τους ρυθμούς αποδόμησης. Η βελτίωση της αποδομητικής ικανότητας μπορεί να οφείλεται στην αύξηση της μικροβιακής δραστηριότητας παρουσία εξωγενούς προέλευσης οργανικού άνθρακα που οδηγεί σε αύξηση των συμμεταβολικών διεργασιών ή σε αλλαγή των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του υποστρώματος (π.χ. τιμή pH). Παράδειγμα τέτοιας συμπεριφοράς είναι η ταχεία αποδόμηση του carbetamide μετά από προσθήκη κομπόστας στο έδαφος και οφείλεται στην αύξηση της υδρόλυσης της ουσίας σε αλκαλικές τιμές pH (Bariusso et al., 1997). Άλλες περιπτώσεις παρόμοιας συμπεριφοράς έχουν αναφερθεί για το sulcotrione μετά από προσθήκη κομποστοποιημένης ζωικής κοπριάς (Cherrier et al., 2004) και για το simazine με προσθήκη σταθεροποιημένων υπολειμμάτων ελαιοτριβείων σε αναλογία 5% (Cox et al., 2001). Σε μερικές περιπτώσεις η θετική επίδραση της κομπόστας στο ρυθμό αποδόμησης μιας ουσίας είναι ευθέως ανάλογη της ποσότητας της κομπόστας που ενσωματώνεται (π.χ. για τις ουσίες atrazine και 2,4-D) (Getenga, 2003). Σε άλλες περιπτώσεις παρατηρείται βελτίωση του ρυθμού αποδόμησης με τη συνεχή προσθήκη κομποστοποιημένου υποστρώματος μέχρι ενός ορίου πέρα από το οποίο επιπλέον αύξηση της ποσότητας του οργανικού υποστρώματος δε διαφοροποιεί το τελικό αποτέλεσμα. Παράδειγμα τέτοιας συμπεριφοράς έχει αναφερθεί για το imazaquin (Wang et al., 2007)
- Η προσθήκη κομπόστας δεν διαφοροποιεί τους ρυθμούς αποδόμησης. Για παράδειγμα η αποδόμηση του endosulfan μετά από προσθήκη κομπόστας από αστικά λύματα σε ποσοστό 2% βρέθηκε να μη διαφέρει σημαντικά από το έδαφος μάρτυρα (Al-Hassan et al., 2004).
- Η προσθήκη κομπόστας οδηγεί σε αύξηση του χρόνου ημιζωής. Σε ορισμένες περιπτώσεις η αναστολή της αποδόμησης είναι ανάλογη της περιεκτικότητας σε κομπόστα στο μίγμα (π.χ. atrazine, simazine, terbutryn). Σε άλλες περιπτώσεις η προσθήκη ακόμη και μικρής ποσότητας αυξάνει το χρόνο ημιζωής αλλά περαιτέρω αύξηση της ποσότητας που ενσωματώνεται δεν επιφέρει σημαντικές διαφοροποιήσεις (π.χ. 2,4-D) (Bariusso et al., 1997). Άλλες περιπτώσεις μείωσης της ταχύτητας αποδόμησης αναφέρονται για το thiazopyr μετά την προσθήκη κομποστοποιημένων αστικών λυμάτων (Fernandez et al., 2001) και για το tricyclazole μετά την προσθήκη σταθεροποιημένων υπολειμμάτων ελαιουργίας (Fernandes et al., 2006). Η παρατηρούμενη μείωση του ρυθμού αποδόμησης με την προσθήκη εξωγενούς προέλευσης οργανικής ύλης έχει αποδοθεί είτε στην αυξημένη προσρόφηση της φ.ο. παρουσία των οργανικών υποστρωμάτων (η πιο έντονη επίδραση της κομπόστας στο ρυθμό αποδόμησης εμφανίστηκε στις περιπτώσεις ουσιών με υψηλή τιμή K_{oc} -τυπικά >100- και ήταν αποτέλεσμα της διάχυσης των φ.ο. στο μικροπορώδες της κομπόστας), είτε σε φαινόμενα τοξικότητας, είτε στην προτίμηση των αποδομητικών μικροοργανισμών στην αφομοίωση συστατικών της εξωγενούς οργανικής ύλης ως πηγών N ή C σε βάρος της αποδόμησης των φ.ο. (Fernandes et al., 2006).

Η προσθήκη άχυρου έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για βελτίωση της ικανότητας αποδόμησης πολλών φ.ο. στο έδαφος και για τη μείωση του κινδύνου έκπλυσης τους σε βαθύτερα εδαφικά στρώματα. Σε ορισμένες μάλιστα περιπτώσεις προ της ενσωμάτωσής του άχυρου προηγήθηκε ένα στάδιο κομποστοποίησης του για βελτίωση της σχετικής αποδομητικής ικανότητας του τελικού μίγματος. Σε εργαστηριακές δοκιμές η απομάκρυνση του metsulfuron-methyl, triasulfuron και

amidoflufenuron σε υψηλές δόσεις εφαρμογής επιταχύνθηκε με την ενσωμάτωση άχυρου στο έδαφος, γεγονός που αποδόθηκε στη μείωση της τιμής του pH που οδήγησε σε αύξηση της υδρολυτικής δραστηριότητας (Menne and Berger, 2001). Η ενσωμάτωση 0,5% κονιοροποιημένου άχυρου στο έδαφος αύξησε το ρυθμό ανοργανοποίησης του methabenzthiazuron (Azam et al., 1988), η προσθήκη 2% άχυρο στο έδαφος οδήγησε σε αύξηση του ρυθμού ανοργανοποίησης του dithianon (Wanner et al., 2005), ενώ η αποδόμηση της ουσίας atrazine ευνοήθηκε από τη προσθήκη άχυρου στο έδαφος (Benoit and Preston, 1999). Επίσης, η παρουσία άχυρου ευνόησε το σχηματισμό του μεταβολίτη hydroxy-atrazine. Το αρχικό αυτό στάδιο αποδόμησης διευκόλυνε τον περαιτέρω μεταβολισμό του μορίου (διάνοιξη του τριαζινικού δακτυλίου) άρα και στην τελική πορεία ανοργανοποίησης του atrazine (Houot et al., 1998).

Η προσθήκη υπολειμμάτων καλλιέργειας αραβόσιτου (*corn stalks*) στο έδαφος σε κατ' όγκον αναλογία έως 5% οδήγησε σε επιτάχυνση της αποδόμησης του atrazine και του metolachlor σε σχέση με τη διάσπαση στο έδαφος. Η προσθήκη κομπόστας ή τύρφης στην ίδια αναλογία δεν οδήγησε σε αντίστοιχα υψηλούς ρυθμούς αποδόμησης παρά τη σημαντική αύξηση της μικροβιακής δραστηριότητας που επέφεραν (Moortman et al., 2001). Υπολείμματα καλλιέργειας αραβόσιτου (ενσωμάτωση σε επίπεδο 1,5% κατ' όγκον στο έδαφος) οδήγησε στην αύξηση του ρυθμού ανοργανοποίησης του methabenzthiazuron (Printz et al., 1995), ενώ και η ενσωμάτωση τους σε αμμώδη και αμμοπηλώδη εδάφη σε επίπεδο 0,5 έως 4% οδήγησε στην πλήρη ανοργανοποίηση του ζιζανιοκτόνου glyphosate (Accinelli et al., 2005).

Επίσης υπολείμματα καλλιεργειών και ποικίλα παραπροϊόντα της αγροτικής βιομηχανίας έχουν ελεγχθεί ως προς την επαγωγή συνθηκών βελτιωμένης αποδόμησης του εδάφους μετά από ενσωμάτωση τους σε ποικίλες αναλογίες. Η κάλυψη του επιφανειακού εδάφους με κέλυφος καρύδας (αναλογία 10% κατ' όγκον) οδήγησε σε θεαματική μείωση του χρόνου ημιζωής του chlorpyrifos σε σχέση με το έδαφος μάρτυρα και σε αντίστοιχη μείωση του κινδύνου έκπλυσης σε βαθύτερα εδαφικά στρώματα. Στο ίδιο πείραμα η προσθήκη υπολειμμάτων ρυζιού στην ίδια αναλογία δεν επηρέασε τις κινητικές παραμέτρους του chlorpyrifos στο έδαφος (Romyen et al., 2007). Η προσθήκη κονιοροποιημένων φύλλων σε έδαφος σε αναλογία 1,75% κατ' όγκον οδήγησε σε σημαντική μείωση του αναμενόμενου χρόνου ημιζωής του μυκητοκτόνου difenoconazole με παράλληλη βελτίωση της συνολικής μικροβιακής δραστηριότητας (Thom et al., 1997), ενώ αντίθετα η προσθήκη υπολειμμάτων ξύλου βελανιδιάς και πεύκου στο έδαφος οδήγησε σε μεγάλη αύξηση του χρόνου ημιζωής του linuron παρά την βελτίωση της δραστηριότητας της διυδρογενάσης (Grenni et al., 2009).

4.5. Κινητικά μοντέλα και χρόνος $t_{1/2}$

Όλα τα μοντέλα που έχουν χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή της πορείας απομάκρυνσης (*dissipation*) ή αποδόμησης (*degradation*) μιας δεδομένης φ.ο. στο περιβάλλον είναι μια σειρά από μαθηματικές σχέσεις που χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν πειραματικά δεδομένα και όχι τις πραγματικές χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα. Όσο αυξάνει η πολυπλοκότητα του κινητικού μοντέλου που χρησιμοποιείται τόσο περισσότεροι παράμετροι πρέπει να συνυπολογιστούν και συνεπώς τόσο περισσότερα σημεία μέτρησης είναι απαραίτητα, ώστε να είναι δυνατή η ασφαλής εκτίμηση των παραμέτρων του μοντέλου.

Ως χρόνος ημιζωής ή χρόνος ημιζωής (*half life*) θεωρείται ο χρόνος που απαιτείται για την αποδόμηση ή απομάκρυνση του 50% της αρχικής συγκέντρωσης της υπό εξέταση ουσίας όταν η αποδόμηση του μορίου ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης. Η τιμή του χρόνου ημιζωής είναι ανεξάρτητη της αρχικής συγκέντρωσης της ουσίας. Η παράμετρος DT_{50} (*dissipation time 50*) αναφέρεται στο χρόνο που απαιτείται για μείωση της συγκέντρωσης της υπό εξέταση ουσίας στο 50% της αρχικής, όταν για την περιγραφή της πορείας αποδόμησης χρησιμοποιείται κάποιο σύνθετο κινητικό μοντέλο. Επομένως η παράμετρος DT_{50} διαφοροποιείται από το χρόνο ημιζωής στις περιπτώσεις που η αποδόμηση δεν ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης (OECD, 2002). Ο όρος $t_{1/2}$ (ή $degT_{50}$) χρησιμοποιείται για να εκφράσει την απώλεια του 50% της αρχικά εφαρμοσθείσας ποσότητας μέσω της αποδόμησης (FOCUS, 2006). Επίσης σε πολλές περιπτώσεις αντί του χρόνου ημιζωής ή DT_{50} χρησιμοποιούνται οι παράμετροι DT_{75} και DT_{90} που αντιστοιχούν στο χρόνο που απαιτείται ώστε τα υπολείμματα της ουσίας να μειωθούν στο 75 και 90% της αρχικής συγκέντρωσης. Γενικά οι χρόνοι $t_{1/2}$ από πειράματα στον αγρό είναι μικρότεροι αυτών που υπολογίζονται κάτω από ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες λόγω των περισσότερων διεργασιών αποδόμησης που συμμετέχουν σε συνθήκες αγρού (Wagenet and Rao, 1990).

4.5.1. Κινητική 1^{ης} τάξης

Το μοντέλο κινητικής 1^{ης} τάξης στηρίζεται στην υπόθεση ότι ο αριθμός των μορίων της φ.ο. είναι μικρός συγκριτικά με τον αριθμό των αποδομητικών μικροοργανισμών και των ενζύμων τους ή του αριθμού των μορίων νερού στην περίπτωση της αβιοτικής υδρόλυσης. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα ο ρυθμός μείωσης της συγκέντρωσης της φ.ο. (dC/dt) να είναι συνεχώς ανάλογος της πραγματικής συγκέντρωσης της φ.ο. που είναι βιοδιαθέσιμη στο σύστημα. Επομένως, ο χρόνος που απαιτείται για μείωση της συγκέντρωσης της φ.ο. από το 100% στο 50% επί της αρχικής συγκέντρωσης είναι ίδιος με αυτόν που απαιτείται για τη ποσοστιαία μείωση από το 50% στο 25%. Η απλή κινητική πρώτης τάξης (*simple first order, SFO*) είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο μοντέλο για εκτίμηση της πορείας αποδόμησης για τους παρακάτω λόγους:

- Πολλές βιοτικές και αβιοτικές διεργασίες στο περιβάλλον ακολουθούν με ικανοποιητική ακρίβεια κινητική πρώτης τάξης παρά το γεγονός ότι η συμπεριφορά αποδόμησης μπορεί να ελέγχεται ταυτόχρονα από πολυάριθμες και ανταγωνιστικές μεταξύ τους διεργασίες
- Η εξίσωση αυτή είναι απλή και απαιτεί τον υπολογισμό δύο μόνο παραμέτρων (C_0 , k)
- Είναι συχνά εύκολο να προσαρμοστεί σε πειραματικά δεδομένα
- Είναι εύκολος ο υπολογισμός του χρόνου ημιζωής
- Οι παράμετροι είναι θεωρητικά ανεξάρτητοι από τη συγκέντρωση και το χρόνο επώασης
- Μπορεί εύκολα να προσαρμοστεί σε μοντέλα εκτίμησης κινδύνου έκπλυσης (*pesticide leaching models*) (FOCUS, 2006)

$$C = C_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (4.8)$$

όπου

C η συγκέντρωση της ουσίας σε χρόνο t

C_0 η συγκέντρωση της ουσίας σε χρόνο $t=0$

k ο ρυθμός αποδόμησης

$$DT_x = \frac{\ln \frac{100}{100-x}}{k} \quad (4.9)$$

Ο χρόνος που απαιτείται ώστε η συγκέντρωση της φ.ο. να μειωθεί στο μισό της αρχικής ποσότητας αναφέρεται ως χρόνος ημιζωής (*half life*) και εκφράζεται σε ημέρες μετά την εφαρμογή της υπό μελέτη φ.ο. Ο χρόνος ημιζωής υπολογίζεται από τη σχέση:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (4.10)$$

4.5.2. Μοντέλα αποδόμησης δύο φάσεων

Υπάρχουν περιπτώσεις όπου η κινητική πρώτης τάξης δεν περιγράφει με ακρίβεια τη συμπεριφορά αποδόμησης μιας φ.ο. στο έδαφος και σε διάφορα οργανικά υποστρώματα, ιδιαίτερα όταν η αποδόμηση ακολουθεί μια πορεία δύο φάσεων όπου την αρχική περίοδο ταχείας αποδόμησης διαδέχεται μια περίοδος μειωμένης αποδόμησης. Στις περιπτώσεις αυτές χρησιμοποιούνται τα διφασικά μοντέλα για να περιγράψουν τις αλλαγές στους ρυθμούς αποδόμησης που είναι ανάλογες της συγκέντρωσης της ουσίας που παραμένει στο υπόστρωμα (**πίνακας 4.2**). Η χρήση της κινητικής πρώτης τάξης στις περιπτώσεις διφασικής συμπεριφοράς αποδόμησης οδηγεί σε υποεκτίμηση της ταχύτητας αποδόμησης στο αρχικό στάδιο της αποδόμησης και σε υπερεκτίμηση της στο δεύτερο και πιο αργό στάδιο. Τα μοντέλα αυτά χρησιμοποιούνται για να αποδώσουν μαθηματικά τα εργαστηριακά δεδομένα και η χρήση τους προϋποθέτει ότι οι μηχανισμοί που επηρεάζουν την πορεία αποδόμησης στο εργαστήριο αναμένεται να επηρεάσουν την αποδόμηση σε συνθήκες αγρού με τον ίδιο τρόπο (FOCUS, 2006).

Πίνακας 4.2. Χαρακτηριστικά των διαφορετικών μοντέλων για περιγραφή της κινητικής απομάκρυνσης φ.ο. (FOCUS, 2006)

| Όνομα | Συντόμευση | Αριθμός παραμέτρων | Συνεχής στο χρόνο | Ο ρυθμός αποδόμησης εξαρτάται από τη συγκέντρωση σε κάθε χρονική στιγμή | Υπολογισμός των παραμέτρων αποδόμησης |
|--------------------------------|------------|--------------------|-------------------|---|---------------------------------------|
| Κινητική 1 ^{ης} τάξης | SFO | 2 | ΝΑΙ | ΝΑΙ | ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ |
| Gustafson & Holden | GH | 3 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ |
| Bi-exponential | Bi-Ex | 4 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΗ |
| Hockey stick model | HS | 4 | ΟΧΙ | ΟΧΙ | ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ |
| Suett model | SM | 3 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ |
| Hamaker model | HA | 3 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ |
| Hoerl function | HF | 3 | ΝΑΙ | ΟΧΙ | ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ |

Πιθανές αιτίες της διφασικής συμπεριφοράς είναι:

- Η μικρή βιοδιαθεσιμότητα της ουσίας στην πορεία του χρόνου. Το ποσοστό της ουσίας που είναι βιοδιαθέσιμη τείνει να μειώνεται με το χρόνο λόγω φαινόμενων προσρόφησης στα κolloειδή του εδάφους

- Σε εργαστηριακές δόκιμες αποδόμησης η δραστηριότητα των αποδομητικών πληθυσμών μπορεί να μειωθεί με το χρόνο λόγω μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας θρεπτικών ουσιών και πηγών άνθρακα (Anderson, 1987).
- Όταν η μελέτη της πορείας αποδόμησης γίνεται σε συνθήκες αγρού τότε οι παρατηρούμενες αποκλίσεις από την κινητική πρώτης τάξης μπορεί να αποδοθούν σε εποχιακές αλλαγές στη θερμοκρασία και στην υγρασία. Για παράδειγμα, το χειμώνα είναι πιθανό οι ρυθμοί αποδόμησης λόγω χαμηλών θερμοκρασιών να είναι μικρότεροι από αυτούς που αναμένονται τους καλοκαιρινούς μήνες
- Τέλος, σε ορισμένες περιπτώσεις οι αποκλίσεις μπορεί να είναι συνέπεια πειραματικών σφαλμάτων (*experimental artifacts*). Τα πειραματικά αυτά σφάλματα μπορεί να επιφέρουν αλλαγή στην πορεία αποδόμησης από πρώτης τάξης σε διφασική ή να οδηγήσουν σε αρχική περίοδο μηδενικής αποδόμησης (*lag phase*) (FOCUS, 2006).

Μοντέλο Hockey stick (HS)

Το μοντέλο hockey stick αποτελείται από δύο διαδοχικές εξισώσεις πρώτης τάξης. Η αρχική αποδόμηση προχωρεί με ρυθμό k_1 έως το χρόνο διαφοροποίησης (*breakpoint*, t_b). Από το σημείο αυτό και έπειτα ο ρυθμός αποδόμησης μεταβάλλεται σε k_2 που μπορεί να είναι μικρότερος ή μεγαλύτερος του αρχικού. Σε αντίθεση με το διεκθετικό μοντέλο η καμπύλη που περιγράφει το μοντέλο αυτό δεν είναι συνεχής στην πορεία του χρόνου. Τυπικά ο ρυθμός αποδόμησης k_1 είναι μεγαλύτερος της τιμής k_2 αν και υπάρχουν περιπτώσεις που η ταχύτητα αποδόμησης είναι μικρή στις πρώτες ημέρες μετά της εφαρμογή της φ.ο., λόγω φαινομένων υστέρησης (*lag phase*), και ακολουθεί περίοδος ταχείας αποδόμησης. Μειονέκτημα της χρήσης του μοντέλου αυτού είναι η ανάγκη για εκτίμηση τεσσάρων παραμέτρων σε αντίθεση με άλλα διφασικά μοντέλα τριών παραμέτρων (π.χ. Gustafson and Holden). Επίσης, η εκτίμηση της συγκέντρωσης της φ.ο. και των παραμέτρων αποδόμησης (π.χ. χρόνος $t_{1/2}$) είναι πιο δύσκολη καθώς η χρησιμοποιούμενη εξίσωση για τον υπολογισμό της εξαρτάται από το αν ο χρόνος $t_{1/2}$ είναι μικρότερος (**εξίσωση 4.13**) ή μεγαλύτερος (**εξίσωση 4.14**) του χρόνου διαφοροποίησης (FOCUS, 2006). Το μοντέλο αυτό πλεονεκτεί όμως στο ότι είναι πιο ευαίσθητο σε απότομες αλλαγές του ρυθμού αποδόμησης

$$C = C_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t}, \quad (t \leq t_b) \quad (4.11)$$

$$C = C_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t_b} \cdot e^{-k_2 \cdot (t - t_b)}, \quad (t > t_b) \quad (4.12)$$

$$DT_x = \frac{\ln \frac{100}{100 - x}}{k_1}, \quad (t \leq t_b) \quad (4.13)$$

$$DT_x = t_b + \frac{\left[\ln \frac{100}{100 - x} - k_1 \cdot t_b \right]}{k_2}, \quad (t > t_b) \quad (4.14)$$

Μια παραλλαγή του μοντέλου αυτού μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις που παρατηρείται φάση υστέρησης με μηδενικό αρχικό ρυθμό αποδόμησης. Στην περίπτωση αυτή, ο ρυθμός

αποδόμησης k_1 ορίζεται ίσος με μηδέν και η μεταβολή των υπολειμμάτων της φ.ο. είναι μηδενική μέχρι το χρόνο διαφοροποίησης t_b . Οι εξισώσεις 4.11 έως 4.14 μπορεί να ξαναγραφτούν ως εξής

$$C = C_0, \quad (t \leq t_b) \quad (4.15)$$

$$C = C_0 \cdot e^{-k(t-t_b)}, \quad (t > t_b) \quad (4.16)$$

$$DT_x = \frac{\ln \frac{100}{100-x}}{k}, \quad (t \leq t_b) \quad (4.17)$$

$$DT_x = t_b + \frac{\ln \frac{100}{100-x}}{k}, \quad (t > t_b) \quad (4.18)$$

Διεκθετικό μοντέλο (Bi-Ex)

Το διεκθετικό (*bi-exponential*) μοντέλο αποτελείται από δύο διαδοχικές και αυτόνομες εκθετικές εξισώσεις πρώτης τάξης. Δεν υπάρχει αναλυτική εξίσωση για υπολογισμό του χρόνου ημιζωής και η παράμετρος αυτή υπολογίζεται με την επαναληπτική μέθοδο (*iterative method*). Ο αριθμός των παραμέτρων που πρέπει να υπολογιστούν είναι τέσσερις (C_1, C_2, k_1, k_2)

$$C = C_1 \cdot e^{-k_1 \cdot t} + C_2 \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (4.19)$$

Η ίδια εξίσωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί και με τη μορφή

$$C = F(C_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t}) + (1-F)(C_0 \cdot e^{-k_2 \cdot t}) \quad (4.20)$$

όπου

k_1 και k_2 είναι οι ρυθμοί αποδόμησης κάθε μιας από τις εκθετικές εξισώσεις
 C_1, C_2, F είναι παράμετροι των παραπάνω εξισώσεων

Μοντέλο Gustafson and Holden model (GH)

Η ανάπτυξη του μοντέλου αυτού για περιγραφή της μείωσης των υπολειμμάτων των φ.ο. στην πορεία του χρόνου στηρίζεται στην αρχική παραδοχή ότι το έδαφος είναι ετερογενές μέσο και ο ρυθμός αποδόμησης της ίδιας ουσίας είναι διαφορετικός σε διαφορετικές περιοχές του εδάφους (FOCUS, 2006).

$$C = \frac{C_0}{\left(\frac{t}{\beta} + 1\right)^{\alpha}} \quad (4.21)$$

όπου

C η συγκέντρωση της ουσίας σε χρόνο t
 C_0 η συγκέντρωση της ουσίας σε χρόνο $t=0$
 α, β παράμετροι του μοντέλου

$$DT_x = \beta \cdot \left[\left(\frac{100}{100-x} \right)^{\left(\frac{1}{\alpha}\right)} - 1 \right] \quad (4.22)$$

$$DT_{50} = \beta \cdot \left(2^{\left(\frac{1}{\alpha}\right)} - 1 \right) \quad (4.23)$$

Suett model (SM)

Η εξίσωση της μορφής αυτής έχει χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό της μεταβολής των υπολειμμάτων των νηματοδοκτών *aldicarb* και *carbofuran* στο έδαφος (Suett et al, 1993)

$$C = C_0 \cdot \exp \left\{ k_1 \left[1 - \exp(k_2 \cdot t) \right] \right\} \quad (4.24)$$

$$DT_{50} = \ln \left(\frac{1 - \ln 0,5}{k_1} \right) / k_2 \quad (4.25)$$

Hamaker model (HA)

Το μοντέλο αυτό έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία στο παρελθόν για την περιγραφή της μείωσης των υπολειμμάτων του εντομοκτόνου *deltamethrin* στο έδαφος (Hill and Schaalje, 1985) και του ζιζανιοκτόνου *metribuzin* σε έδαφος και σε μίγματα εδάφους και υπολειμμάτων καλλιέργειας σόγιας (Locke and Harper, 1991)

$$C = \left[C_0^{(1-n)} + (n-1) \cdot k \cdot t \right]^{1/(1/n)} \quad (4.26)$$

$$DT_{50} = \frac{C_0^{(1-n)} \cdot (0,5^{(1-n)} - 1)}{(n-1) \cdot k} \quad (4.27)$$

Hoerl function (HF)

Η εξίσωση αυτή περιλαμβάνει τις παραμέτρους C_0 και b που είναι αντίστοιχοι των παραμέτρων C_0 και k στην κινητική εξίσωση 1ης τάξης. Η παράμετρος c είναι μέτρο της απόκλισης από την εκθετική συμπεριφορά. Όταν ο εκθέτης αυτός είναι 0 τότε η εξίσωση μεταπίπτει σε απλή κινητική πρώτης τάξης ενώ όταν $c < 0$ η εξίσωση περιγράφει τη διφασική συμπεριφορά αποδόμησης (Zimdahl et al., 1994)

$$C = C_0 \cdot e^{b \cdot t} \cdot t^c \quad (4.28)$$

4.5.3. Κινητικά μοντέλα περιγραφής της πορείας των μεταβολιτών

Η περιγραφή της πορείας των μεταβολιτών από το σχηματισμό τους μέχρι τη πλήρη αποδόμηση τους απαιτεί την εκτίμηση μεγαλύτερου αριθμού παραμέτρων σε σχέση με το μητρικό μόριο, ακόμη και όταν η κάθε μια από τις διεργασίες σχηματισμού και αποδόμησης ξεχωριστά ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης. Η μεταβολή της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων των τελικών μεταβολιτών στις περιπτώσεις που ο σχηματισμός τους ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης μπορεί να περιγραφεί από τη σχέση:

$$C = C_{\max} [1 - \exp(-k \cdot t)] \quad (4.29)$$

Όπου

C_{\max} είναι η μέγιστη συγκέντρωση του σχηματιζόμενου μεταβολίτη

k είναι ο ρυθμός σχηματισμού του μεταβολίτη

Στις περιπτώσεις ενδιάμεσων μεταβολιτών η σχέση που συνδέει τη συγκέντρωση του μεταβολίτη με το χρόνο παρακολούθησης, υποθέτοντας ότι τόσο ο σχηματισμός της ενδιάμεσης ουσίας όσο και η ταυτόχρονη πορεία αποδόμησης της ακολουθούν κινητική πρώτης τάξης, δίνεται από την παρακάτω σχέση

$$C = \frac{a \cdot k_1 [\exp(-k_1 \cdot t) - \exp(-k_2 \cdot t)]}{k_1 - k_2} \quad (4.30)$$

όπου

k_1 είναι ο ρυθμός με τον οποίο σχηματίζεται ο μεταβολίτης

k_2 είναι ο ρυθμός αποδόμησης του μεταβολίτη

a είναι η θεωρητική μέγιστη αναλογία σχηματισμού του μεταβολίτη που προκύπτει αν απομονωθεί η διεργασία σχηματισμού από τη διεργασία αποδόμησης

Η τιμή της μέγιστης συγκέντρωσης σχηματισμού του ενδιάμεσου μεταβολίτη όσο και του αντίστοιχου χρόνου δίνονται από τις παρακάτω εξισώσεις:

$$C_{\max} = \frac{a - k_1}{k_2 - k_1} \left[\exp\left(\frac{k_1 \cdot \ln k_1 - k_1 \cdot \ln k_2}{k_2 - k_1}\right) - \exp\left(\frac{k_2 \cdot \ln k_1 - k_2 \cdot \ln k_2}{k_2 - k_1}\right) \right] \quad (4.31)$$

$$t_{\max} = \frac{\ln k_2 - \ln k_1}{k_2 - k_1} \quad (4.32)$$

Στις περιπτώσεις που ο σχηματισμός των μεταβολιτών δεν ξεκινά σε χρόνο μηδέν αλλά σε μεταγενέστερο χρόνο οι εξισώσεις 4.30 και 4.31 μπορούν να ξαναγραφούν ως εξής:

$$C = d + C_{\max} [1 - \exp(-k \cdot t)] \quad (4.33)$$

$$C = d + \frac{a \cdot k_1 [\exp(-k_1 \cdot t) - \exp(-k_2 \cdot t)]}{k_1 - k_2} \quad (4.34)$$

όπου

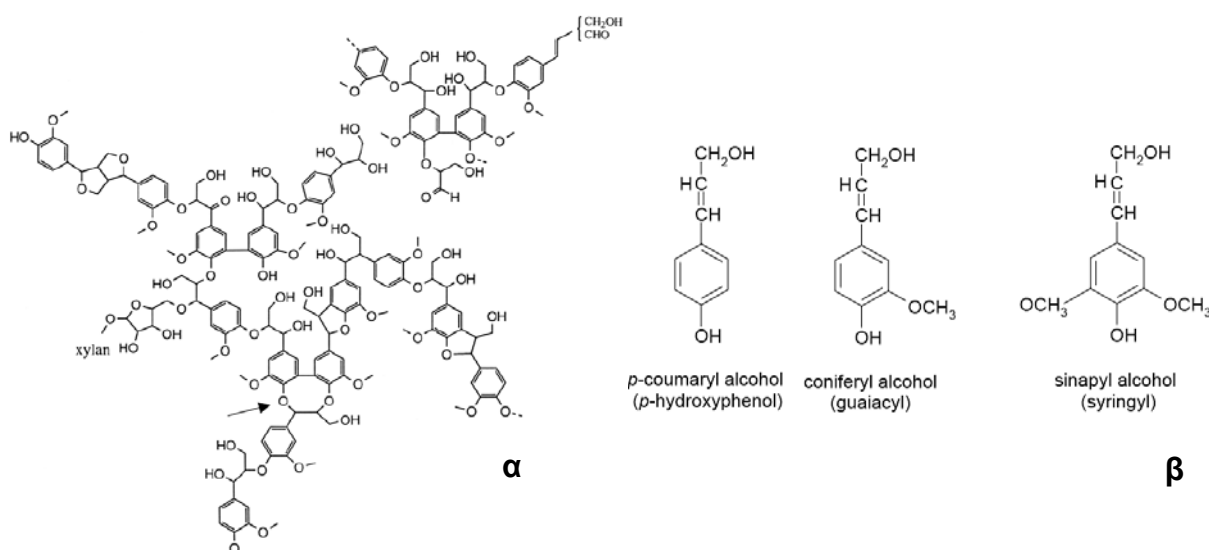
d είναι ο χρόνος που αντιστοιχεί στο διάστημα μεταξύ της έναρξης του χρόνου παρακολούθησης και της εμφάνισης του μεταβολίτη

Αποδόμηση φυτοπροστατευτικών ουσιών με τη βοήθεια μυκήτων λευκής σήψης

5.1. Λιγνινόλυση και λιγνινολυτικά ένζυμα

5.1.1. Λιγνίνη

Η λιγνινοκυτταρινούχα βιομάζα των φυτών είναι η πιο σημαντική πηγή ανανεώσιμης ενέργειας καθώς αντιπροσωπεύει το 60% της συνολικά παραγόμενης βιομάζας. Τα κύρια συστατικά των λιγνινοκυτταρινούχων υλικών είναι η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη. Η λιγνίνη αποτελεί απαραίτητο συστατικό του φυτικού κυτταρικού τοιχώματος καθώς προσδίδει σκληρότητα και προστατεύει την εύκολα αποδομήσιμη κυτταρίνη από τους μικροβιακούς αποδομητές (Lankinen, 2004). Περιέχεται στο ξύλο και στο άχυρο σε ποσοστό 20-40% και 16-18%, αντίστοιχα (Tuomela, 2002).



Εικόνα 5.1. Πολυμερές της λιγνίνης μαλακού ξύλου (α) και μονομερείς μονάδες της λιγνίνης (β)

Το μόριο της λιγνίνης είναι ένα φαινολικό πολυμερές μεγάλου μοριακού βάρους το οποίο αποτελείται από 3 βασικές μονομερείς υπομονάδες (κονιφεριλική αλκοόλη, σιναπιλική αλκοόλη, ρ-κουμαριλική αλκοόλη), που συνδέονται μεταξύ τους με σταθερούς ανθρακικούς και αιθερικούς δεσμούς, δημιουργώντας έτσι το ιδιαίτερα πολύπλοκο και πολύ σταθερό μόριο της λιγνίνης (**Εικόνα 5.1α,β**).

5.1.2. Λιγνινόλυση

Λιγνινόλυση είναι η διαδικασία αποδόμησης της λιγνίνης και είναι αναπόσπαστο συστατικό του κύκλου του άνθρακα στη φύση. Το μόριο της λιγνίνης είναι ιδιαίτερα πολύπλοκο και έντονα διακλαδιζόμενο και επομένως οι μικροοργανισμοί δυσκολεύονται να το διασπάσουν. Η παρουσία σταθερών ανθρακικών και αιθερικών δεσμών μεταξύ των υπομονάδων της λιγνίνης, η ύπαρξη στερεοϊσομερείας στο μόριο του πολυμερούς καθώς και η μη διαλυτότητα της λιγνίνης στο νερό είναι παράγοντες που περιορίζουν σημαντικά το εύρος των λιγνινολυτικών μηχανισμών και εξηγούν γιατί οι πιο αποτελεσματικοί μηχανισμοί διάσπασης της λιγνίνης είναι εξωκυττάριοι, μη εξειδικευμένοι και κατά βάση οξειδωτικοί παρά υδρολυτικοί. Η αποδόμηση της λιγνίνης πραγματοποιείται κυρίως από τους μύκητες λευκής σήψης.

5.1.3. Μύκητες λευκής σήψης

Οι μύκητες λευκής σήψης (*white-rot fungi*) ονομαστήκαν έτσι λόγω της λευκής εμφάνισης των ξυλωδών υποστρωμάτων τα οποία προσβάλλουν. Αποτελούν περισσότερο μια φυσιολογική παρά μια ταξινομική ομάδα καθώς περιλαμβάνονται μύκητες με κοινό γνώρισμα την ικανότητα αποδόμησης της λιγνίνης (Fragoeiro, 2005). Οι γνωστότεροι και πλέον αποτελεσματικοί μύκητες λευκής σήψης είναι βασιδιομύκητες. Κάποιοι από τους μύκητες αυτούς αποικίζουν σκληρά ξυλώδη υποστρώματα (*hardwood*), ενώ άλλοι μαλακά υποστρώματα (*softwood*) (Pointing, 2001). Η αποδόμηση της λιγνίνης είναι εκλεκτική όταν δεν συνοδεύεται από αντίστοιχη αποδόμηση της κυτταρίνης στο κυτταρικό τοίχωμα (π.χ *Phanerochaete chrysosporium*) και μη εκλεκτική όταν αποδομούνται ταυτόχρονα όλα τα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος (π.χ *Trametes versicolor*). Η παραγωγή των ενζύμων της διάσπασης της λιγνίνης πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια του δευτερογενή μεταβολισμού και έχει ως αποτέλεσμα τη διάνοιξη αρωματικών δακτυλίων και δημιουργία νέων καρβονυλικών ομάδων (Tuomela, 2002). Το σημαντικότερο στάδιο στην αποδόμηση της λιγνίνης είναι ο σχηματισμός ελεύθερων ενδιάμεσων ριζών που εμφανίζουν σημαντική χημική ενεργότητα και καταλύουν την οξειδωση ή αναγωγή άλλων ουσιών. Οι σημαντικότεροι μύκητες λευκής σήψης είναι οι: *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus pulmonarius*, *Coriolus (Trametes) versicolor*, *Phanerochaete eryngii*, *Bjerkandera adusta*, *Coriolopsis polyzona*, *Stereum hirsutum*, *Phlebia radiata*, *Dichomitus squalens*.

5.1.4. Λιγνινολυτικά ένζυμα

Η λιγνινολυτική δραστηριότητα οφείλεται σε μια δεξαμενή εξωκυτταρικών ενζύμων, των λιγνινολυτικών ενζύμων (*lignin-modifying enzymes* ή *LME*) τα κυριότερα από τα οποία είναι η λακάση (Lac), η μαγγάνιο-υπεροξειδάση (MnP), η λίγνινο-υπεροξειδάση (LiP) και ένζυμα που παράγουν H₂O₂. Πέραν των λιγνινολυτικών ενζύμων, διάφοροι άλλοι παράγοντες συμμετέχουν στη λιγνινόλυση κυρίως ρυθμίζοντας την παραγωγή συνενζύμων, όπως Mn. Παρόλα αυτά δεν έχει διαπιστωθεί ακόμα η σειρά με την οποία παράγονται τα εξωκυτταρικά ένζυμα, όπως και η σχετική συνεισφορά καθενός από τα

ένζυμα στη συνολική λιγνολυτική διεργασία, καθώς διαφορετικά είδη μυκήτων είναι σε θέση να παράγουν διαφορετικούς συνδυασμούς ενζύμων επιτυγχάνοντας όμως το ίδιο τελικό αποτέλεσμα (Fragoieiro, 2005; Hatakka, 1994).

Λίγνινο-υπεροξειδάση

Οι λίγνινο-υπεροξειδάσες (*Lignin peroxidases, LiP*) ανήκουν στην ομάδα των υπεροξειδάσων και είναι γλυκοπρωτεΐνες, που περιέχουν στο μόριο τους την ομάδα της αίμης. Οξειδώνονται από το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) και η οξειδωμένη μορφή τους επανέρχεται στην αρχική της κατάσταση προσλαμβάνοντας από τον αρωματικό δακτύλιο του υποστρώματος τα δύο ηλεκτρόνια που της λείπουν. Παρουσιάζουν μεγαλύτερο αναγωγικό δυναμικό σε σχέση με τις περισσότερες υπεροξειδάσες και για το λόγο αυτό είναι ικανές για αποδόμηση μεγάλου εύρους χημικών ουσιών (Tuomela, 2002). Χαρακτηριστικό των λιγνινασών είναι η σταθερότητα τους σε χαμηλές τιμές pH (<3) (Tortella et al., 2005).

Mn-υπεροξειδάσες

Η μαγγάνιο-υπεροξειδάση (*Manganese peroxidases, MnP*) ανήκει στην ομάδα των υπεροξειδάσων που παράγονται από τους μύκητες λευκής σήψης. Το τυπικό μοριακό τους βάρος κυμαίνεται μεταξύ 50-60 kDa και το ισοηλεκτρικό τους σημείο βρίσκεται στην όξινη περιοχή. Υπάρχουν πολλές ενδείξεις για τον καθοριστικό ρόλο των MnP στην αποδόμηση της λιγνίνης, που μπορεί να περιλαμβάνει αποπολυμερισμό ή απομεθυλίωση του μορίου. Με τη βοήθεια του H_2O_2 ιόντα Mn^{+2} οξειδώνονται σε χηλικό σύμπλοκο του Mn^{+3} . Ο καταλυτικός κύκλος του MnP ξεκινά με τη δέσμευση του H_2O_2 στο ενεργό κέντρο του ενζύμου (αίμη). Η διάσπαση του δεσμού O-O απαιτεί τη μεταφορά 2 ηλεκτρονίων από την αίμη οπότε σχηματίζεται το MnP I. Ακολουθεί η αναγωγή της MnP I σε MnP II με παράλληλη οξειδωση του Mn^{+2} σε Mn^{+3} . Η ένωση MnP II είναι ικανή να οξειδώσει ένα ιόν Mn^{+2} . Το στάδιο αυτό ολοκληρώνει τον κύκλο και η είσοδος ενός H_2O_2 καταλήγει στην παραγωγή 2 H_2O και 2 χηλικών ιόντων Mn^{+3} . Το Mn^{+3} ή το χηλικό σύμπλοκο του Mn^{+3} μπορεί με τη σειρά του να οξειδώσει μονομερείς ή διμερείς φαινόλες, λιπαρά οξέα, καρβοξυλικά οξέα και θειόλες σχηματίζοντας τις αντίστοιχες ρίζες (Δρίτσα, 2006).

Λακάσες

Οι λακάσες (*Laccases, Lac*) ανήκουν στην ομάδα των φαινολοξειδάσων και παρουσιάζουν μικρή εκλεκτικότητα ως προς τα υποστρώματα που καταλύουν. Είναι, συνήθως, τα πρώτα λιγνολυτικά ένζυμα που εκκρίνονται στο περιβάλλον του μύκητα. Το μοριακό τους βάρος είναι 60-80 kDa και το ισοηλεκτρικό τους σημείο (pI) βρίσκεται στην περιοχή 3-4 (Lankinen, 2004). Τα ένζυμα αυτά είναι πιο σταθερά σε τιμές pH 5-6 και σε θερμοκρασία περίπου 45°C, αλλά διατηρούνται ενεργά ακόμα και σε εύρος pH 3-7. Έχουν την ικανότητα να καταλύουν την οξείδωση μεγάλου εύρους διϋδροξυ- και διάμινο- αρωματικών ουσιών (Reddy και Mathew, 2001). Εκτός της οξείδωσης των φαινολικών ουσιών προς φαινόξυ- ρίζες οι λακάσες είναι ικανές για οξείδωση και μη φαινολικών ουσιών. Πρόκειται για ένζυμα που περιέχουν πολλαπλά άτομα χαλκού και τα οποία ανάγονται οξειδώνοντας τα υποστρώματα στα οποία δρουν. Για ικανοποιητική αποδόμηση οι λακάσες απαιτούν ουσίες “μεσολαβητές” (*mediators*) όπως το 2,2'-αμινο-δις-3-αιθυλοβενζοθειαζολινο-6-σουλφονικό οξύ (ABTS), άλλα δρουν ανεξάρτητα από το H_2O_2 (Tuomela, 2002).

5.2. Αποδόμηση φ.ο. με τη βοήθεια λιγνινολυτικών ενζύμων

Οι μύκητες μπορούν να παίξουν ρόλο στη βιομετατροπή και ανοργανοποίηση μεγάλου εύρους τοξικών ουσιών στο οικοσύστημα και κάποιοι από αυτούς έχουν χρησιμοποιηθεί και για την βιοαποκατάσταση εδαφών και υδάτων. Από την κατηγορία αυτή των μικροοργανισμών αυτοί που έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενέστερα λόγω του χαμηλής εξειδίκευσης του ενζυμικού τους εξοπλισμού είναι οι μύκητες λευκής σήψης (Kirk et al., 1992). Το εύρος των οργανικών ρύπων που αποδομούνται από τους μύκητες αυτούς περιλαμβάνει πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAH), πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB), φ.ο., χλωριωμένες οργανικές ουσίες, συνθετικές βαφές, συνθετικά πολυμερή, νιτρο-υποκατεστημένες ουσίες καθώς και φαινολικά απόβλητα της επεξεργασίας του ελαιόλαδου. Οι κυριότεροι μηχανισμοί αποδόμησης με τη βοήθεια μυκήτων λευκής σήψης είναι η αποδόμηση μέσω συμματαβολικών διεργασιών, η χρησιμοποίηση της ουσίας στόχου ως πηγή άνθρακα και τέλος η πρόσληψη και συσώρευση της ουσίας στόχου εντός του οργανισμού. Η απομάκρυνση των ουσιών επιτυγχάνεται κυρίως με μηχανισμούς συμματαβολισμού και βιοσυσσώρευσης και δευτερευόντως με τη χρησιμοποίηση τους ως μοναδική πηγή άνθρακα (Bennett and Faison, 1997; Tortella et al., 2005). Στις χημικές ουσίες που έχουν επιτυχώς αποδομηθεί από μύκητες λευκής σήψης περιλαμβάνονται τα οργανοχλωριωμένα DDT, lindane, endosulfan και dieldrin (Fragoeiro, 2005), τα ζιζανιοκτόνα trifluralin, simazine, 2,4-D, isoproturon, diuron, atrazine, 2,4,5-T, terbuthylazine (Bending et al., 2002), τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα fonofos, terbufos, chlorpyrifos (Bumpus et al., 1993) και το μυκητοκτόνο metalaxyl (Bending et al., 2002).

Οι μύκητες λευκής σήψης έχουν αξιοποιηθεί για τη βελτιστοποίηση της ικανότητας αποδόμησης των φ.ο. σε συστήματα βιοκλινών. Η προσθήκη εμβολίου του μύκητα *Pleurotus ostreatus* στο ενεργό βιομίγμα ενός συστήματος βιοκλίνης δεν βελτίωσε την ικανότητα αποδόμησης των ζιζανιοκτόνων atrazine και metolachlor (Lamar, 2001). Αντίθετα οι Bending et al. (2002) παρατήρησαν ότι επιλεγμένα στελέχη μυκήτων λευκής σήψης μπορούσαν να επιταχύνουν την αποδόμηση φ.ο. σε συστήματα βιοαποκατάστασης νερού.

Τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τη διάσπαση της λιγνίνης (LME) είναι υπεύθυνα, εν μέρει τουλάχιστο, για την αποδομητική ικανότητα της ομάδα αυτής των μυκήτων (Barr and Aust, 1994; Tuomela, 2000; Fragoeiro, 2005). Οι κυριότερες αντιδράσεις που καταλούνται από λιγνινολυτικά ένζυμα περιλαμβάνουν αποπολυμερισμό, απομεθυλίωση, αποκαρβοξυλίωση, υδροξυλίωση και διάνοιξη αρωματικών δεσμών. Παρά όμως την επιβεβαιωμένη συμμετοχή των λιγνινολυτικών ενζύμων στη διαδικασία αποδόμησης φ.ο., συχνά δεν εμφανίζεται συσχέτιση μεταξύ αποδόμησης και παραγωγής των εξωκυτταρικών αυτών ενζύμων. Επίσης, καθώς έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις αποδόμησης οργανικών ρύπων χωρίς τη συμμετοχή λιγνινολυτικών ενζύμων, η αποδόμηση των ουσιών αυτών μπορεί να οφείλεται σε διαφορετικούς βιοχημικούς μηχανισμούς. Για παράδειγμα, το σύστημα μονοξειδασών του κυτοχρώματος P-450 καταλύει την αποδόμηση φ.ο. ανεξάρτητα από την παράγωγή λιγνινολυτικών ενζύμων από τους μύκητες λευκής σήψης (Mougin et al., 1997; Kullman and Matsumura, 1996).

5.3. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της χρήσης μυκήτων λευκής σήψης σε συστήματα απομάκρυνσης οργανικών ρύπων

Σε αντίθεση με τα βακτήρια, που είναι σε θέση να διασπούν ρύπους τόσο σε αερόβιες όσο και σε αναερόβιες συνθήκες, οι μύκητες λευκής σήψης είναι υποχρεωτικά αερόβιοι μικροοργανισμοί. Επίσης, ενώ τα βακτήρια χρησιμοποιούν τους οργανικούς ρύπους ως πηγή C και N, η ενζυμική οξειδωση του υποστρώματος από λιγνινολυτικά ένζυμα δεν οδηγεί σε ενεργειακό κέρδος και επομένως μια διαφορετική πηγή C και N είναι απαραίτητη για τον πρωτεύοντα μεταβολισμό. Οι μύκητες λευκής σήψης εμφανίζουν ορισμένα πλεονεκτήματα έναντι άλλων αποδομητικών μικροοργανισμών που έχουν μελετηθεί και χρησιμοποιηθεί για την απομάκρυνση οργανικών ρύπων τα οποία συνοψίζονται ως εξής:

- Μπορούν να αποδομήσουν, μέσω της οξειδωσης, μεγάλη ποικιλία ουσιών (Pointing, 2001)
- Είναι γενικά πιο ανεκτικοί στις υψηλές συγκεντρώσεις των ουσιών και η αποδομητική τους ικανότητα είναι ανεξάρτητη της συγκέντρωσης του ξενοβιοτικού παράγοντα (Fragoieiro, 2005; Barr and Aust, 1994). Επίσης, είναι σε θέση να αποδομήσουν οργανικές ουσίες που απαντώνται στο υπόστρωμα ανάπτυξης του μύκητα σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, μικρότερες και αυτών που απαιτούνται για την επαγωγή σύνθεσης αποδομητικών ενζύμων από άλλους μικροοργανισμούς (Mester and Tien, 2000; Fragoieiro, 2005)
- Τα ένζυμα που παράγουν εμφανίζουν χαμηλή εξειδίκευση και, επομένως, είναι δυνατή η ταυτόχρονη διάσπαση πολλών ρύπων από το ίδιο ενζυμικό σύστημα. Αντίθετα, στους βακτηριακούς αποδόμητες υπάρχει μεγαλύτερη εξειδίκευση υποστρώματος
- Οι μύκητες λευκής σήψης είναι σε θέση να αποδομήσουν και σχετικά αδιάλυτες στο νερό ουσίες ή ουσίες μεγάλου μοριακού βάρους που δεν αποτελούν υποστρώματα ανάπτυξης των βακτηρίων (Pointing, 2001)
- Οι οργανισμοί αυτοί χρησιμοποιούν σαν πηγές θρεπτικών συστατικών σχετικά άφθονα και ανέξοδα λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα (Fragoieiro, 2005)
- Μπορούν να λειτουργούν σε μεγάλο εύρος κλιματικών συνθηκών και δεν απαιτούν προσαρμογή σε κάποιο ξενοβιοτικό παράγοντα (*pre-conditioning*) για τη βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητας αποδόμησης
- Η ταχεία ανάπτυξη του μυκηλίου επιτρέπει το γρήγορο αποικισμό του υποστρώματος (Reddy and Mathew, 2001).

5.4. Ικανότητα αποικισμού του εδάφους και οργανικών υποστρωμάτων

Λόγω της φυσιολογικής ανάπτυξης των μυκήτων λευκής σήψης σε ξυλώδη υποστρώματα, αυτοί αποτελούν ασθενείς ανταγωνιστές των εδαφικών μικροοργανισμών, ενώ συχνά η παρουσία χουμικών ουσιών περιορίζει την αποτελεσματικότητα αποικισμού του εδάφους. Παρόλα αυτά, έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις επιτυχούς αποικισμού του εδάφους από μύκητες λευκής σήψης που συνοδεύονται από ταχύτατη ανάπτυξη των μυκηλιακών υφών σε προστατευμένα σημεία, όπου άλλοι αποδομητές δεν μπορούν να προσεγγίσουν (Reddy and Mathew, 2001). Συνθήκες όπως η υγρασία εδάφους, ο λόγος C/N και η θερμοκρασία επηρεάζουν τη δυνατότητα αποικισμού του εδάφους άρα και την ικανότητα αποδόμησης οργανικών ρύπων στο εδαφικό σύστημα. Η παραγωγή των εξωκυτταρικών ενζύμων δεν εξαρτάται από την ποσότητα της λιγνίνης ή άλλων αντίστοιχων μεγαλομοριακών ουσιών, αλλά επάγεται από την έλλειψη αζώτου, άνθρακα ή θείου (Pointing, 2001). Η αποδόμηση των

οργανικών ουσιών από μύκητες λευκής σήψης συχνά αναστέλλεται σε υψηλές συγκεντρώσεις N και άλλων θρεπτικών στοιχείων. Η συνύπαρξη των μυκήτων αυτών με τον ενδογενή μικροβιακό πληθυσμό του εδάφους μπορεί να επηρεάσει τους ρυθμούς αποδόμησης, είτε αρνητικά, λόγω ανάπτυξης συνθηκών ανταγωνισμού, είτε θετικά, λόγω συνδυασμένης αποδόμησης των ουσιών από κοινότητες (*consortia*) μυκήτων λευκής σήψης και βακτηρίων. Η αποτελεσματικότητα των μυκήτων λευκής σήψης σε *in vitro* καλλιέργειες πολλές φορές δεν αναπαράγεται σε συνθήκες αγρού για λόγους στους οποίους συμπεριλαμβάνονται ο ανταγωνισμός με φυσικούς βακτηριακούς πληθυσμούς και η αναστολή λόγω τοξικών φαινομένων. Κατά την αποδόμηση οι μύκητες λευκής σήψης, συχνά, μετατρέπουν σημαντική ποσότητα των οργανικών ρύπων σε συνδεδεμένα με χουμικές ουσίες προϊόντα συνήθως μέσω σχηματισμού σταθερών ομοιοπολικών δεσμών. Η πρόσδεση σε χουμικές ουσίες απενεργοποιεί τις ουσίες αυτές και για το λόγο αυτό είναι επιθυμητό αποτέλεσμα (Dec και Bollag, 1994).

5.5. *Pleurotus ostreatus*

Από φυσιολογικής πλευράς οι μύκητες του γένους *Pleurotus* χαρακτηρίζονται από μεγάλη ταχύτητα ανάπτυξης και υψηλή ικανότητα αποικισμού του υποστρώματος ανάπτυξής τους. Ο μύκητας αναπτύσσεται σε υπόστρωμα άχυρου ή σε πριονίδια, ενώ έχει διαπιστωθεί και η ικανοποιητική ανάπτυξη του σε βαμβακοστελέχη (Hattaka, 1994). Συνήθως τα υλικά που χρησιμοποιούνται και δεν αποστειρώνονται προ της προσθήκης του εμβολίου του μύκητα καθώς η παστερίωση του υποστρώματος θεωρείται επαρκής (Fragoheiro, 2005). Οι θερμοκρασιακές απαιτήσεις του μύκητα αυτού είναι σημαντικά μικρότερες από αυτές άλλων μυκήτων λευκής σήψης καθώς είναι ενεργός ακόμη και στους 8°C. Το pH του θρεπτικού υλικού, πάνω στο οποίο αναπτύσσεται ο μύκητας, είναι μεταξύ 5-6,5, ενώ τιμές κάτω του 4 και άνω του 7 παρεμποδίζουν σημαντικά ή αναστέλλουν την ανάπτυξη του.

Η ικανότητα του μύκητα για αποτελεσματικό αποικισμό του εδάφους σχετίζεται με μηχανισμούς βιοαναστολής (*biosuppressive mechanisms*) που είναι σε θέση να περιορίσουν την ανάπτυξη των βακτηριακών πληθυσμών του εδάφους. Ο μηχανισμός αυτός ελέγχου της ανάπτυξης άλλων ανταγωνιστικών πληθυσμών αφορά στην παράγωγή αντιβιοτικών ουσιών που δρουν ενάντια σε προκαρυωτικούς οργανισμούς και στην αναστολή της δραστηριότητας ανταγωνιστικών μυκήτων μέσω του ένζυμου β-(1,3)-γλουκανάση. Επιπλέον, λόγω της έντονα υδρόφοβης επιφάνειας του μυκηλίου του, είναι σε θέση να αναπτύσσεται σε σημεία του υποστρώματος που δεν είναι προσβάσιμα από βακτηριακούς πληθυσμούς (Bending et al., 2002). Για παράδειγμα, η προσθήκη του μύκητα *Pleurotus sp.* στο έδαφος οδήγησε σε περιορισμό των ενδογενών βακτηριακών πληθυσμών (Pointing, 2001). Ο μύκητας αυτός έχει χρησιμοποιηθεί με τη μορφή εμβολίου ή με τη μορφή του υποστρώματος ανάπτυξης του (SMS) για τη διάσπαση και ανοργανοποίηση ουσιών στο έδαφος ή σε υδατικά διαλύματα καθώς συνδυάζει ισχυρή μυκηλιακή ανάπτυξη και υψηλή ενζυμική δραστηριότητα. Η προσθήκη άχυρου σαν υπόστρωμα ανάπτυξης ευνοεί τον αποικισμό του εδάφους από το μύκητα *Pleurotus sp.* και το ρυθμό ανοργανοποίησης των ξενοβιοτικών ουσιών (Rodriguez et al., 2004; Matsubara et al., 2006).

Τα ένζυμα που σχετίζονται με τη λιγνολυτική δράση του μύκητα αυτού είναι κυρίως η MnP και η Lac, ενώ απουσιάζουν οι LiP (Bending et al., 2002; Rigas et al., 2005). Στον μηχανισμό αποδόμησης

διαφόρων ρύπων μπορεί να συμμετέχουν εναλλακτικοί ενζυμικοί μηχανισμοί, όπως του κυτοχρώματος P-450 (Bezalel et al., 1997; Mougín et al., 1997), ενώ λιγνινολυτικά ένζυμα (κυρίως Lac) παρεμβάλλονται σε επόμενα στάδια του μεταβολισμού (Eggen, 1999). Άλλα ένζυμα που έχει διαπιστωθεί ότι παράγονται από το μύκητα αυτό και πιθανώς σχετίζονται με το σύστημα αποδόμησης της λιγνίνης είναι οι οξειδάσες της βερατρυλικής αλκοόλης (VAO) και της οξειδάσης της αρυλικής αλκοόλης (AAO). Πιθανόν ο ρόλος τους να σχετίζεται με την παραγωγή H_2O_2 , που είναι συμπαραγόντας της MnP (Hatakka, 1994).

5.6. Εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης μανιταριών

Το εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης μανιταριών (*spent mushroom substrate, SMS*) είναι παραπροϊόν της καλλιέργειας μανιταριών που παράγεται σε τεράστιες ποσότητες. Μόνο το 1999 παρήχθησαν περίπου 40 χιλιάδες τόνοι SMS παγκοσμίως (Lau et al., 2003). Ανάλογα με το είδος του μανιταριού που καλλιεργείται παράγονται 2-5 kg SMS για κάθε κιλό εδωδιμων μανιταριών που παράγεται. Τα SMS υποστρώματα είναι πιθανό να περιέχουν μεγάλο αριθμό διάφορων μικροοργανισμών και μεγάλο εύρος εξωκυτταρικών ενζύμων υπεύθυνων για την αποδόμηση του άχυρου. Ένζυμα που ανιχνεύτηκαν στο SMS περιλαμβάνουν κυτταρινάσες, ημικυτταρινάσες, β-γλυκοσιδάση, LiP, MnP και Lac (Fragoeiro, 2005). Το SMS περιέχει N και S σε μορφή κυρίως ανόργανων νιτρικών και θειικών αλάτων. Επίσης χαρακτηριστικό των εξαντλημένων υποστρωμάτων είναι η υψηλή περιεκτικότητα τους σε χιτίνη, που είναι το κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος του μύκητα (Law et al., 2003). Η διαχείριση του τεράστιου όγκου εξαντλημένου υποστρώματος που παράγεται ως παραπροϊόν της διαδικασίας παραγωγής μανιταριών είναι δυσχερής. Μετά την παραγωγική διαδικασία απομακρύνονται και συνήθως απορρίπτονται ως άχρηστα υλικά ή καίγονται. Τα τελευταία όμως χρόνια υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον επαναχρησιμοποίησης τους. Το SMS έχει δοκιμαστεί, ως εδαφοβελτιωτικό εδάφους, για τον έλεγχο εδαφογενών ασθενειών, για την απορρύπανση νερού, ενώ έχει προταθεί και η αξιοποίηση του σε εφαρμογές βιοαποκατάστασης του εδάφους (Fragoeiro, 2005)

Το SMS του μύκητα *Pleurotus ostreatus* αποτελεί ένα υλικό βιοπροσρόφησης και βιοαποδόμησης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απομάκρυνση υπολειμματικών ρύπων (Law et al., 2003). Αποτελεί σημαντική πηγή θρεπτικών ουσιών, αλλά και ικανό υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροβιακών αποδομητών και κοινοτήτων μικροοργανισμών. Επιπλέον αποτελεί πηγή εξωκυτταρικών ενζύμων, που εκκρίνονται από τους μύκητες κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και καρποφορίας τους, ικανών να καταλύουν τη διάσπαση πολλών ουσιών συμπεριλαμβανομένων και των αρχικών αντιδράσεων αποδόμησης ορισμένων φ.ο. Σε εδάφη στα οποία προστέθηκε SMS σε αναλογία $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ εδάφους η ικανότητα αποδόμησης των ουσιών simazine, trifluralin και dieldrin βρέθηκε 17, 49 και 76% υψηλότερη σε σχέση με το έδαφος μάρτυρα 12 εβδομάδες μετά την εφαρμογή τους. Η αύξηση της δραστηριότητας με προσθήκη SMS συσχετίστηκε με την παρουσία μικροοργανισμών και εξωκυττάρων ενζύμων που αφθονούν σε αυτό το υπόστρωμα (Fragoeiro, 2005). Παράλληλα παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων CO_2 , υψηλότερα επίπεδα οργανικής ουσίας και υψηλότερη δραστηριότητα της διυδρογενάσης. Οι Kuo and Regan (1998) κατάφεραν να απομακρύνουν επιτυχώς ένα μίγμα καρβαμιδικών εντομοκτόνων (carbofuran, carbaryl και aldicarb) από υδατικό διάλυμα μέσω της προσρόφησης τους σε υπόστρωμα SMS. Η προσροφητική ικανότητα του SMS ήταν μεγαλύτερη σε σύγκριση με τα περισσότερα εδάφη που συμπεριελήφθηκαν στη δοκιμή, κυρίως λόγω της

υψηλότερης περιεκτικότητας του σε οργανική ουσία. Το ίδιο υπόστρωμα εμφάνισε σημαντική ικανότητα αποδόμησης των υπολειμμάτων των τριών αυτών καρβαμιδικών εντομοκτόνων σε υδατικό διάλυμα ενθαρρύνοντας την πιθανή εφαρμογή του SMS ως μέσο βιοαποκατάστασης του νερού που προέρχεται από ξέπλυμα ψεκαστικών συστημάτων στον αγρό (Regan, 1994; Kuo and Regan, 1998). Επίσης, η προσθήκη εξαντλημένου υποστρώματος σε έδαφος (σε αναλογία $9 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$) οδήγησε σε αυξημένη ικανότητα απομάκρυνσης του ζιζανιοκτόνου atrazine από το έδαφος (Kadian et al., 2008). Προς το παρόν υπάρχουν ελάχιστα δημοσιευμένα στοιχεία σχετικά με την ενσωμάτωση SMS σε βιοκλίνες, ενώ πρόσφατα οι Trevisan et al. (2007) το χρησιμοποίησαν σε πρότυπες βιοκλίνες με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Προσρόφηση φυτοπροστατευτικών ουσιών

6.1. Εισαγωγή

Μόλις οι φ.ο. έρθουν σε επαφή με το έδαφος κατανέμονται μεταξύ υδατικής και στερεής φάσης. Ο βαθμός κατανομής της φ.ο. στη μία ή στην άλλη φάση είναι καθοριστικής σημασίας για την τύχη της στο εδαφικό περιβάλλον. Η προσρόφηση θεωρείται μια από τις πιο σημαντικές μορφές αλληλεπίδρασης μεταξύ φ.ο. και εδάφους και μπορεί να είναι από προσωρινή και αντιστρεπτή μέχρι μόνιμη και μη αντιστρεπτή. Μπορεί να περιλαμβάνει παραμονή στην ελεύθερη επιφάνεια μεταξύ στερεής φάσης και του νερού ή διείσδυση των μορίων των υδρόφοβων φ.ο. εντός του φυσικού πλέγματος της στερεής φάσης (Weber et al., 1991). Στην πρώτη περίπτωση η φ.ο. περιορίζεται στη επιφάνεια της στερεής φάσης ή στη μεσοεπιφάνεια νερού και στερεάς φάσης, ενώ στη δεύτερη περίπτωση οι φ.ο. βρίσκονται τουλάχιστον μερικά νανόμετρα στο εσωτερικό των σωματιδίων του προσροφητικού μέσου.

Η έκταση της προσρόφησης εξαρτάται από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της φ.ο. όπως μοριακή δομή, διάφορες λειτουργικές ομάδες, πολικότητα και διαλυτότητα. Επίσης, η προσρόφηση σχετίζεται και με ιδιότητες των προσροφητικών μέσων, που αποτελούνται από σύνθετα και ετερογενή ως προς τη φύση και τις ιδιότητες τους συστατικά. Η ποσότητα και η φύση της οργανικής ουσίας, η κατανομή του μεγέθους των κοκκοειδών συστατικών, η ιοντοανταλλακτική ικανότητα, η ειδική επιφάνεια και η τιμή του pH είναι παράγοντες που συμβάλουν στη προσρόφηση των φ.ο. Η συνεισφορά κάθε μιας από τις παραπάνω ιδιότητες του εδαφικού υποστρώματος στην προσρόφηση εξαρτάται από τα ειδικά χαρακτηριστικά του μορίου της φ.ο.

Η προσρόφηση επηρεάζει την παραμονή των φ.ο. στο έδαφος, την κάθετη μετακίνηση τους και το βαθμό ρύπανσης βαθύτερων εδαφικών στρωμάτων. Επίσης, επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα και τη βιοδραστικότητα των φ.ο. στο έδαφος, τη φυτοτοξικότητα και το χημικό ή μικροβιακό μεταβολισμό τους (Delle Site, 2000)

6.2. Αλληλεπιδράσεις προσροφητικού μέσου - φ.ο.

Η κατανομή μιας φ.ο. μεταξύ υδατικής και στερεής φάσης είναι αποτέλεσμα της σχετικής συνάφειας των μορίων της φ.ο. με τα μόρια της υδατικής ή στερεής φάσης. Με κριτήριο τη φύση της αλληλεπίδρασης μεταξύ προσροφητικού μέσου και φ.ο. η προσρόφηση μπορεί να οφείλεται σε φυσικούς, χημικούς ή ηλεκτροστατικούς μηχανισμούς (Weber et al., 1991). Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις η προσρόφηση εξηγείται από τη ταυτόχρονη συνεισφορά δύο ή περισσότερων μηχανισμών.

Οι ηλεκτροστατικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν τους δεσμούς ιόντος-ιόντος ή ιόντος-διπόλου, ενώ η φυσική προσρόφηση (*physisorption*) περιλαμβάνει ασθενείς δυνάμεις αλληλεπίδρασης, όπως μοριακές δυνάμεις van der Waals. Η χημική προσρόφηση (*chemisorption*) χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό χημικών δεσμών μεταξύ των ιόντων ή των μορίων της ουσίας και της επιφάνειας των σωματιδίων του προσροφητικού μέσου. Χημικές αντιδράσεις φ.ο. ή των μεταβολιτών τους με συστατικά του υποστρώματος μπορεί να οδηγήσουν στο σχηματισμό σταθερών χημικών δεσμών, αυξάνοντας το χρόνο παραμονής των υπολειμμάτων στο έδαφος. Οι χημικοί αυτοί δεσμοί περιλαμβάνουν ιονικούς δεσμούς, δεσμούς υδρογόνου, σχηματισμό συμπλόκων με μεταφορά φορτίου, υδρόφοβη κατανομή και σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών.

Ιονικοί δεσμοί σχηματίζονται όταν οι φ.ο. εμφανίζονται με κατιονική μορφή στο διάλυμα ή μπορούν να πρωτονιωθούν και περιλαμβάνουν πρόσδεση σε ιονισμένες ή ιονιζόμενες ομάδες της οργανικής ουσίας (φαινολικές ή ομάδες υδροξυλίου). Χαρακτηριστική είναι η περίπτωση του σχηματισμού τέτοιων δεσμών μεταξύ χουμικών οξέων και πρωτονιωμένων δευτερογενών αμινομάδων των s-τριαζινών σε όξινες τιμές pH.

Δεσμοί υδρογόνου μπορούν να σχηματιστούν μεταξύ λειτουργικών ομάδων που περιέχουν O^- ή OH^- και συμπληρωματικών ομάδων στο μόριο των φ.ο. Οι δεσμοί αυτοί είναι χαρακτηριστικοί της προσρόφησης μη-ιονικών φ.ο. Επίσης, αν το εδαφικό pH είναι μικρότερο από το pKa όξινων ή ιονικών φ.ο. οι ουσίες αυτές εμφανίζονται σε μη ιονική μορφή, με την οποία είναι δυνατό να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου.

Υδρόφοβη πρόσδεση. Αναφέρεται σε μη πολικά μόρια φ.ο. ή ουσίες που περιέχουν στο μόριο τους μη πολικές περιοχές και είναι πιθανό να προσδεθούν σε υδρόφοβες περιοχές της οργανικής ουσίας του εδάφους. Η μορφή αυτή πρόσδεσης είναι υπεύθυνη σε μεγάλο βαθμό για την προσρόφηση πολλών οργανοχλωριωμένων φ.ο. όπως το DDT. Χαρακτηριστικό γνώρισμα αυτής του τύπου της προσρόφησης είναι η απουσία ανταγωνισμού μεταξύ των φ.ο. και του νερού για τις ίδιες θέσεις προσρόφησης.

Οι **ομοιοπολικοί δεσμοί** είναι συχνά μη αντιστρεπτοί και αφορούν φ.ο. που εμφανίζουν στο μόριο τους λειτουργικές ομάδες παρόμοιες με αυτές των χουμικών συστατικών της οργανικής ουσίας (π.χ. φαινολικές ομάδες), ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις η μικροβιακή δραστηριότητα είναι υπεύθυνη για το σχηματισμό παρόμοιων δεσμών μεταξύ μορίου φ.ο. και της στερεάς φάσης.

6.3. Παράγοντες που επηρεάζουν τη προσρόφηση

6.3.1. Οργανική ουσία

Η συνεισφορά της οργανικής ουσίας στην προσρόφηση μη πολικών φ.ο. είναι πιο σημαντική από τη συνεισφορά άλλων συστατικών της στερεής φάσης και συχνά ο συντελεστής προσρόφησης K_d της φ.ο. εμφανίζεται ευθέως ανάλογος της περιεκτικότητας σε οργανικό άνθρακα. Η οργανική ουσία (χούμος) είναι αποτέλεσμα βιολογικής και χημικής αποδόμησης της νεκρής φυτικής και ζωικής ύλης στο έδαφος. Έχει πολύπλοκη δομή και αποτελείται από άμορφα, τρισδιάστατης μορφής πολυμερή, που διαθέτουν περιοχές με υδρόφοβη ή υδρόφιλη συμπεριφορά και πολυάριθμες, χημικά ενεργές, λειτουργικές ομάδες

Οι χουμικές ουσίες είναι κυρίαρχα συστατικά του εδάφους και των ιζημάτων. Είναι ετερογενή μίγματα μακρομορίων με μοριακά βάρη που κυμαίνονται από εκατοντάδες έως χιλιάδες Daltons (Huang et al., 2003). Ανάλογα με τη διαλυτότητα τους σε όξινα και αλκαλικά περιβάλλοντα διακρίνονται σε χουμικά οξέα, φουλβικά οξέα και χουμίνες. Τα φουλβικά είναι ευδιάλυτα σε όξινο και αλκαλικό περιβάλλον, τα χουμικά είναι διαλυτά μόνο σε αλκαλικά διαλύματα, ενώ η χουμίνη είναι αδιάλυτη στο νερό. Τα φουλβικά οξέα έχουν κίτρινο ή καφέ-κίτρινο χρώμα και έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε καρβοξυλικές και φαινολικές ομάδες και μεγαλύτερη τιμή H/C και O/C σε σχέση με τα χουμικά οξέα. Η χουμοποιημένη οργανική ουσία διαθέτει ορισμένες περιοχές με σημαντική ειδική επιφάνεια και ιδιαίτερη προσροφητική ικανότητα. Τα δομικά χαρακτηριστικά των χουμικών ουσιών διαφόρων οργανικών υλικών, όπως τύρφη και κομπόστα, είναι διαφορετικά από τα αντίστοιχα του εδάφους. Τα χουμικά οξέα που περιέχονται στις κομπόστες είναι γενικά λιπόφιλα με αυξημένη τη παρουσία n-αλκανίων και λιπαρών οξέων, ενώ τα χουμικά οξέα των εδαφών έχουν πολυφαινολικό χαρακτήρα με μεγάλο βαθμό αρωματικότητας (Iglesias-Jimenez et al., 1997). Γενικά η ικανότητα προσρόφησης αυξάνει με το βαθμό χουμοποίησης της οργανικής ουσίας (Guo et al., 1991). Η βελτίωση της προσροφητικής ικανότητας με την αύξηση του βαθμού χουμοποίησης μπορεί να αποδοθεί σε αύξηση των κολλοειδών συστατικών, στο βαθμό πολυμερισμού και στην ενσωμάτωση ποικίλων λειτουργικών ομάδων (Iglesias-Jimenez et al., 1997; Benoit, 1994)

Η οργανική ουσία αποτελείται από δύο διακριτά τμήματα, το ελαστικό και το υαλώδες. Το ελαστικό (*rubbery ή soft carbon*) τμήμα αποτελείται από άμορφα υλικά, όπως μερικώς αποσυντιθέμενα και υποκατεστημένα βιοπολυμερή (πολυσακχαρίτες, λιγνίνη), λιποπρωτεΐνες, αμινοξέα, λιπίδια και χουμικές ουσίες. Το υαλώδες τμήμα (*glassy, hard carbon*) έχει άκαμπτη, τρισδιάστατη μορφή και η ελευθερία κίνησης των μορίων της προσροφημένης ουσίας σε αυτό είναι περιορισμένη (Cornelissen et al., 2005). Τα υαλώδη συστατικά της οργανικής ουσίας είναι συνήθως λιγότερο πολικά από τα ελαστικά και έχουν μικρότερη αναλογία O/C. Στην κατηγορία αυτή μπορούν να συμπεριληφθούν και χουμικά οξέα τα οποία μεταπίπτουν από την ελαστική κατάσταση στην υαλώδη αν η θερμοκρασία μειωθεί κάτω από ένα όριο (LeBoeuf and Weber, 1997). Η περιεκτικότητα σε υαλώδη συστατικά στα εδάφη και στα ιζήματα ποικίλει από λίγες ποσοστιαίες μονάδες έως 80% της συνολικού οργανικού άνθρακα. Οι τυπικές τιμές είναι 4% για το έδαφος και 9% για ιζήματα (Cornelissen et al., 2005; Huang et al., 2003)

Η προσρόφηση μιας φ.ο. στην οργανική ουσία των εδαφών και άλλων οργανικής προέλευσης υλικών είναι συνδυασμός προσρόφησης στο ελαστικό και στο υαλώδες τμήμα της οργανικής ουσίας

(Cornelissen et al., 2005). Ανάλογα με τη σχετική περιεκτικότητα της οργανικής ουσίας των εδαφών σε άμορφα ή υαλώδη συστατικά η ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης σε κατάσταση ισορροπίας μπορεί να είναι γραμμική ή μη-γραμμική. Η προσρόφηση στο υαλώδες τμήμα είναι μη-γραμμική, εκτεταμένη και ανταγωνιστική. Στο ελαστικό τμήμα είναι συνήθως γραμμική, μη ανταγωνιστική, και η ταχύτητα μετάβασης σε κατάσταση ισορροπίας είναι σχετικά μεγάλη (Cornelissen et al., 2005; Weber et al., 1998). Επίσης, φαινόμενα που παρατηρούνται στη μελέτη προσρόφησης φ.ο. σε εδάφη, όπως η υστέρηση, οι μικρές ταχύτητες προσρόφησης και εκρόφησης και ο ανταγωνισμός μεταξύ των μορίων του φ.ο. για τις ίδιες θέσεις προσρόφησης, έχουν συνδεθεί με την παρουσία υαλώδους φύσεως συστατικών στην οργανική ουσία (Huang et al., 2003). Η επίδραση της ετερογένειας της οργανικής ουσίας στη προσρόφηση υδρόφοβων οργανικών ουσιών αποτυπώνεται από την εξάρτηση του συντελεστή προσρόφησης K_{oc} της εξίσωσης Freundlich από την αναλογία O/C της οργανικής ουσίας. Όσο μικρότερη είναι η τιμή του λόγου O/C τόσο αυξάνει η υδροφοβικότητα της οργανικής ουσίας άρα και η ικανότητα προσρόφησης υδρόφοβων ουσιών (Huang and Weber, 1997)

$$\log K_{oc} = 4,39 - 4,36 \cdot (O / C) \quad (6.1)$$

Η οργανική ουσία μπορεί επίσης να διακριθεί σε ευδιάλυτη (*Dissolved Organic Matter*, DOM) και σε αδιάλυτη. Το κυρίαρχο κλάσμα της DOM είναι χαμηλού μοριακού βάρους (<10000 Da) και διαλυτό στο νερό. Η DOM είναι παρόμοια, δομικά και λειτουργικά, με επιφανειοδραστικές ουσίες, επομένως μπορεί η παρουσία τους να αυξήσει την κινητικότητα των ουσιών με μικρή τιμή υδατοδιαλυτότητας. Η παρατηρούμενη μείωση της προσρόφησης των φ.ο. παρουσία DOM μπορεί να αποδοθεί σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ ευδιάλυτης οργανικής ουσίας και των μορίων της φ.ο. ή σε ανταγωνισμό μεταξύ DOM και φ.ο. για τις ίδιες θέσεις προσρόφησης (Fernandes et al., 2006). Οι αλληλεπιδράσεις φ.ο. και DOM οφείλονται στη δημιουργία δεσμών υδρογόνου, δυνάμεων van der Waals ή υδρόφοβων συζεύξεων.

6.3.2. Ανόργανα κολλοειδή

Το αργιλώδες τμήμα του εδάφους αποτελείται από κρυσταλλικά ή άμορφα ανόργανα συστατικά, ενώ το μέγεθος των σωματιδίων του είναι μικρότερο από 0,002 mm. Η συνεισφορά των κολλοειδών συστατικών της αργίλου στην προσρόφηση των φ.ο. είναι συνήθως λιγότερο σημαντική σε σχέση με την οργανική ουσία του εδάφους. Η μορφή αυτή προσρόφησης κυριαρχεί σε περιπτώσεις εδαφών με μεγάλη αναλογία αργίλου σε σχέση με την περιεκτικότητα σε οργανική ουσία. Τα κολλοειδή της αργίλου θεωρούνται σημεία πρόσδεσης κυρίως ιονικών ουσιών καθώς τα αρνητικώς φορτισμένα κολλοειδή του εδάφους προσελκύουν και συγκρατούν θετικώς φορτισμένα ιόντα. Έχει παρατηρηθεί μάλιστα συσχέτιση μεταξύ περιεκτικότητας σε άργιλο και της προσρόφησης ορισμένων ιονιζόμενων φ.ο. και ουσιών με βασικό χαρακτήρα (Villaverde et al., 2008; Savage, 1976). Συχνά η έκταση της προσρόφησης στα ανόργανα συστατικά του εδάφους είναι ανάλογη της θερμοκρασίας και επηρεάζεται από τη σχετική αναλογία μεταξύ των ανόργανων συστατικών. Έτσι, ο μοντμοριλονίτης και ο βερμικουλίτης εμφανίζουν μεγαλύτερη ειδική επιφάνεια προσρόφησης και μεγαλύτερη ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων σε σχέση με άλλα ανόργανα συστατικά, όπως ο каолинίτης (Delle Site, 2000). Επίσης, τα άμορφα ανόργανα συστατικά της αργίλου μπορούν να παρέχουν και υδρόφοβες θέσεις προσρόφησης. Για παράδειγμα, ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου ή δυνάμεων van der Waals

συνεισφέρουν σημαντικά στην προσρόφηση ισχυρά υδρόφοβων ουσιών στο έδαφος (Houang and Liao, 1970). Για παράδειγμα οι μεθυλενικές ομάδες της αλειφατικής αλυσίδας ορισμένων φ.ο. σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου της μορφής C–H...O–Si με τα συστατικά της αργίλου. Στην περίπτωση αυτή το μέγεθος της αλειφατικής επηρεάζει το βαθμό προσρόφησης. Άλλος πιθανός μηχανισμός είναι ο σχηματισμός ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ των υδροξυλιωμένων επιφανειών των ανόργανων συστατικών του εδάφους και των ατόμων οξυγόνου των οργανικών μορίων. Εδαφικοί παράμετροι που μπορεί να επιδράσουν στο μηχανισμό προσρόφησης-εκρόφησης μιας δεδομένης ουσίας στα ανόργανα κολλοειδή είναι η ενεργός ιοντοανταλακτική ικανότητα (CEC) και η περιεκτικότητα σε άμορφα οξειδία σιδήρου και αλουμινίου.

6.3.3. Επίδραση του pH

Οι μεταβολές του pH έχουν γενικά μικρή επίδραση στην προσρόφηση μη ιονικών ουσιών. Το 1/3 περίπου των φ.ο. είναι ασθενή ή ισχυρά οξέα και μπορούν να ιονιστούν σε μεγάλο εύρος τιμών pH. Επομένως φ.ο. με τιμή ιονικής ισορροπίας κοντά στη τιμή του pH του εδάφους εμφανίζουν τιμή συντελεστή προσρόφησης που είναι ευαίσθητη στις μεταβολές του εδαφικού pH. Για παράδειγμα, οι τριαζίνες σε ισχυρά όξινα εδάφη μπορεί να πρωτονιωθούν με αποτέλεσμα να παρατηρούνται υψηλότερες τιμές συντελεστών προσρόφησης τους. Ορισμένα άλλα ζιζανιοκτόνα (οι σουλφονουλουρίες και τα καρβοξυλικά οξέα) μπορούν να εμφανιστούν με την ιονισμένη τους μορφή σε υψηλές τιμές pH και στις περιπτώσεις αυτές αναμένεται μεγαλύτερη κινητικότητα των μορίων αυτών στο έδαφος (Vauchope et al., 2002).

6.3.4. Άλλοι παράγοντες

Η δυνατότητα προσρόφησης μιας φ.ο. στο έδαφος ελέγχεται μερικώς από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της. Φυτοπροστατευτικές ουσίες που είναι θετικά φορτισμένες (diquat, paraquat) ή ουσίες που μπορούν να φορτιστούν θετικά μέσω πρωτονίωσης (s-τριαζίνες, πυριμιδίνες) είναι ικανές για ηλεκτροστατική έλξη στα αρνητικά φορτισμένα κολλοειδή του εδάφους. Η προσρόφηση πολικών ενώσεων εξαρτάται σε ποικίλο βαθμό από την περιεχόμενη υγρασία του συστήματος προσρόφησης, την παρουσία ιοντοανταλλακτικών κατιόντων, τη συγκέντρωση ηλεκτρολυτών και το pH. Σε σχέση με τη θερμοκρασία ο γενικός κανόνας είναι ότι η προσρόφηση μειώνεται με αύξηση της θερμοκρασίας αν και έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις όπου η αύξηση της θερμοκρασίας δεν επηρέασε ή επηρέασε θετικά την προσρόφηση. Η επίδραση της θερμοκρασίας στην έκταση της προσρόφησης μπορεί να είναι και έμμεση μέσω των αλλαγών που επιφέρει στη διαλυτότητα των ουσιών. Η προσρόφηση των φ.ο. τείνει να είναι μεγαλύτερη σε ξηρά εδάφη καθώς τα μόρια του νερού ανταγωνίζονται τα μόρια των φ.ο. για τις ίδιες θέσεις προσρόφησης. Το επιφανειακό έδαφος τυπικά εμφανίζει μεγαλύτερους συντελεστές προσρόφησης σε σχέση με τα βαθύτερα εδαφικά στρώματα εξαιτίας της μεγαλύτερης περιεκτικότητας σε οργανική ουσία και βιομάζα. Σε περιπτώσεις σημειακής ρύπανσης του εδάφους με φ.ο. συχνά εμφανίζονται συγκεντρώσεις φ.ο. που υπερβαίνουν τη υδατοδιαλυτότητα τους οπότε σε τέτοιες υψηλές συγκεντρώσεις είναι δυνατό να επηρεαστούν οι συνθήκες ισορροπίας προσρόφησης/εκρόφησης (Novak et al., 1995)

6.4. Παλαίωση και σχηματισμός δεσμευμένων υπολειμμάτων

Η έννοια της παλαίωσης (*aging*) χρησιμοποιείται για να εκφράσει την αύξηση της προσρόφησης μιας φ.ο. στη στερεή φάση που παρατηρείται μετά από παρατεταμένο χρόνο επαφής της φ.ο. με τις δύο φάσεις. Το φαινόμενο οφείλεται στο σχηματισμό ισχυρών δεσμών μεταξύ της ουσίας και των συστατικών της στερεής φάσης (ομοιοπολικοί δεσμοί), σε φυσική παγίδευση των μορίων της φ.ο. στην οργανική ουσία ή σε μη αντιστρεπτή διάχυση σε μικροπόρους και μακροπόρους του εδάφους. Ο αυξημένος χρόνος επαφής μπορεί να επηρεάσει τη βιοδιαθεσιμότητα του μορίου, αλλά και να μειώσει την ποσότητα της ουσίας που μπορεί να παραληφθεί με ήπιες διεργασίες εκχύλισης. Επίσης σύμφωνα με τη IUPAC ως μονίμως δεσμευμένα υπολείμματα (*bound residues*) ορίζονται τα υπολείμματα μιας χημικής ουσίας που παραμένουν στο έδαφος με τη μορφή της μητρικής ουσίας ή των συστατικών της μετά από εκχύλιση. Ο σχηματισμός μονίμως δεσμευμένων υπολειμμάτων επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα των φ.ο. Τα υπολείμματα των φ.ο. και των μεταβολιτών τους μπορεί κάτω από προϋποθέσεις να απελευθερωθούν με αργό ρυθμό στο εδαφικό διάλυμα. Σχηματισμός μονίμως δεσμευμένων υπολειμμάτων λόγω χημικής προσρόφησης παρατηρείται συχνά σε περιπτώσεις φ.ο. που οι μεταβολίτες τους περιέχουν υδροξυλικές ή αμινικές ομάδες στο μόριο τους, καθώς οι μεταβολίτες αυτοί είναι χημικά πιο ενεργοί (Gevao et al., 2000)

6.5. Κατάσταση ισορροπίας

Συνήθως παρατηρούνται τρία διακριτά στάδια ισορροπίας στην πορεία προσρόφησης-εκρόφησης μιας φ.ο. Αρχικά παρατηρείται μια ταχεία και αντιστρεπτή διάχυση και ακολούθως πρόσδεση των μορίων της φ.ο. στις πιο προσβάσιμες θέσεις προσρόφησης της επιφάνειας της στερεάς φάσης. Η διαδικασία αυτή είναι στιγμιαία ή ολοκληρώνεται σε μερικά λεπτά από την εφαρμογή της φ.ο. (αρχική ισορροπία). Σε δεύτερο στάδιο παρατηρείται μια πιο αργή σε ταχύτητα μετακίνηση των μορίων της φ.ο. μεταξύ στερεής και υδατικής φάσης που διαρκεί μερικές ώρες έως και λίγες ημέρες (κινητική ισορροπία). Αυτή η κινητική πορεία λαμβάνει χώρα ταυτόχρονα με το προηγούμενο στάδιο της ταχείας αντίδρασης. Μια τρίτη πιο αργή αντίδραση οδηγεί σε μη αντιστρεπτή απομάκρυνση της φ.ο. από το εδαφικό διάλυμα και η διάρκεια της αντίδρασης αυτής έχει μέγεθος μερικών εβδομάδων έως μερικών ετών. Στην πορεία αυτής της αντίδρασης τα μόρια της φ.ο. παραμένουν ως έχουν και μπορούν κάτω από ορισμένες συνθήκες να επανέλθουν στην υδατική φάση (Wauchop et al., 2002)

6.6. Ισόθερμες

Οι ισόθερμες καμπύλες χρησιμοποιούνται για την κατανόηση του φαινομένου της προσρόφησης. Περιγράφουν την κατανομή της φ.ο. μεταξύ νερού και προσροφητικού μέσου σε κατάσταση ισορροπίας. Τα σημαντικότερα μοντέλα προσρόφησης παρουσιάζονται στην **εικόνα 6.1**.

Το **γραμμικό** μοντέλο περιγράφεται από τη σχέση

$$q_e = K_d \cdot C_e \quad (6.2)$$

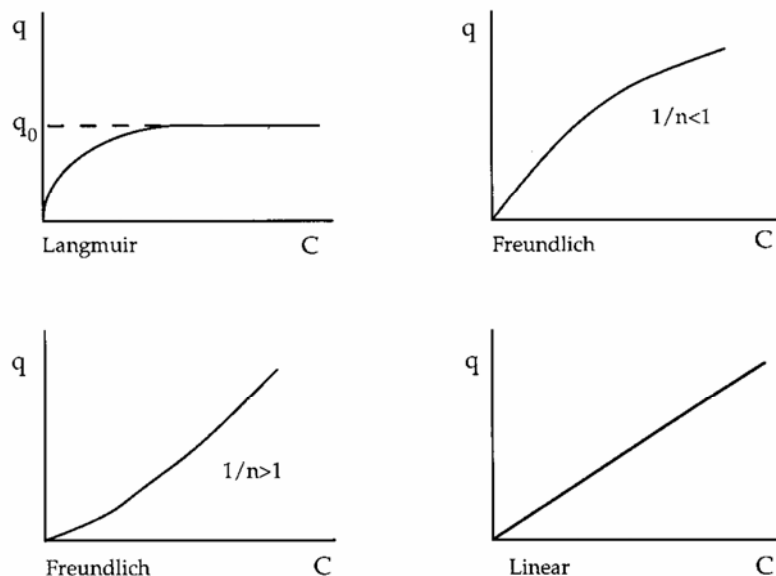
όπου

K_d είναι ο συντελεστής προσρόφησης ή συντελεστής κατανομής ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)

q_e είναι η συγκέντρωση της φ.ο. που βρίσκεται προσροφημένη στην εδαφική φάση σε κατάσταση ισορροπίας ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) και

C_e είναι η συγκέντρωση της φ.ο. στο υδατικό διάλυμα ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) σε κατάσταση ισορροπίας

Υψηλές τιμές του συντελεστή K_d είναι ένδειξη μεγάλης συνάφειας της φ.ο. με τα κolloειδή συστατικά του εδάφους, μικρής κινητικότητας και βιοδιαθεσιμότητας της φ.ο. Συνήθως φανερώνει ότι η φ.ο. είναι σχετικά υδρόφοβη, αν και υπάρχουν ορισμένες εξαιρέσεις (Wauchore et al., 2002).



Εικόνα 6.1. Μοντέλα προσομοίωσης της συμπεριφοράς προσρόφησης: μοντέλο Langmuir (α), μοντέλο Freundlich- τύπου L (β), μοντέλο Freundlich- τύπου S (γ) και γραμμικό μοντέλο (δ) (Delle Site, 2000)

Η προσρόφηση υδρόφωβων και σχετικά άπολων ουσιών στα συστατικά του εδάφους είναι συχνά ανάλογη της περιεκτικότητας του εδάφους σε οργανική ουσία. Για το λόγο αυτό, ο συντελεστής προσρόφησης συχνά κανονικοποιείται ως προς την περιεκτικότητα σε οργανική ουσία, προκειμένου να αποσυνδεθεί ο συντελεστής προσρόφησης από τον τύπο του εδάφους

$$K_{oc} = \frac{K_d}{\%OC} \times 100 \quad (6.3)$$

$$K_{foc} = \frac{K_f}{\%OC} \times 100 \quad (6.4)$$

Ο συντελεστής K_{oc} χρησιμοποιείται σε μεγάλη κλίμακα ως μέτρο της πιθανότητας μετακίνησης των φ.ο. στο έδαφος. Η χρήση του συντελεστή K_{oc} για πρόβλεψη της συμπεριφοράς προσρόφησης συνεπάγεται ότι η προσρόφηση λαμβάνει χώρα στα υδρόφοβα συστατικά του προσροφητικού μέσου και δεν λαμβάνεται υπόψη η επίδραση της σύστασης της οργανικής ουσίας ή των ανόργανων συστατικών του εδάφους, η τιμή του pH και η θερμοκρασία.

Η εξίσωση **Freundlich** αποτελεί μια εμπειρική εξίσωση που περιγράφει την προσρόφηση σε μια ετερογενή επιφάνεια, θεωρώντας ότι οι θέσεις προσρόφησης δεν είναι ισοδύναμες ή ανεξάρτητες. Η μαθηματική έκφραση του μοντέλου Freundlich είναι

$$q_e = K_f \cdot C_e^{1/n} \quad (6.5)$$

όπου

- q_e είναι η συγκέντρωση της φ.ο. που προσροφάται σε κατάσταση ισορροπίας ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$),
- K_f συντελεστής προσρόφησης Freundlich και εκφράζει την κατανομή της φ.ο. μεταξύ στερεής και υδατικής φάσης σε κατάσταση ισορροπίας
- C_e είναι η συγκέντρωση της φ.ο. στην υδατική φάση σε κατάσταση ισορροπίας και
- $1/n$ η κλίση της ισόθερμης καμπύλης

Ο εκθέτης $1/n$ μπορεί να θεωρηθεί ότι αντιπροσωπεύει την κατανομή ενέργειας στις θέσεις προσρόφησης (Weber et al., 1992). Για την εξήγηση της μη γραμμικής συμπεριφοράς προσρόφησης έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί. Σύμφωνα με την πιο κοινή θεωρία καθώς όλο και περισσότερες θέσεις προσρόφησης καταλαμβάνονται η πιθανότητα των μορίων της φ.ο. που παραμένουν στο διάλυμα να συναρτήσουν μια από τις εναπομείναντες θέσεις προσρόφησης μειώνεται. Άλλη εξήγηση του φαινομένου της μη γραμμικότητας είναι ότι οι θέσεις προσρόφησης παρουσιάζουν μια κατανομή συνάφειας με τη φ.ο. και οι πλέον προτιμητέες θέσεις καταλαμβάνονται αμέσως (Sabatini and Austin, 1990). Το σφάλμα που εισέρχεται όταν θεωρούμε μια ισόθερμη προσρόφησης τύπου Freundlich ως γραμμική ισοδυναμεί με C^{n-1} (Rao and Davidson, 1980). Η τιμή του δείκτη $1/n$ στο έδαφος συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 0,7 και 1 (Wauchope et al., 2002). Συνέπεια της ύπαρξης του δείκτη $1/n$ είναι οι τιμές K_d ή K_{oc} των φ.ο. που εφαρμόζονται σε πολύ υψηλές δόσεις στο έδαφος να εμφανίζονται μικρότερες από αυτές που θα υπολογίζονταν αν οι συντελεστές προσδιορίζονταν σε χαμηλές συγκεντρώσεις και αντίστροφα (Wauchope et al., 2002)

Οι Gills et al. (1960) κατέταξαν τις ισόθερμες Freundlich ανάλογα με τη τιμή του δείκτη $1/n$ σε τρεις διακριτούς τύπους ισόθερμων καμπύλων (**Εικόνα 6.1**)

S-type ($1/n > 1$): Είναι χαρακτηριστική περιπτώσεων ισχυρής διαμοριακής έλξης εντός του προσροφητικού μέσου και διείσδυσης της φ.ο. στο υλικό προσρόφησης. Τέτοια συμπεριφορά είναι χαρακτηριστική λεπτόκοκκων κλασμάτων των εδαφών με υψηλή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία

L-type ($1/n < 1$): Σε αυτή τη περίπτωση υπάρχει ελάχιστος ανταγωνισμός μεταξύ των μορίων της φ.ο. και της υδατικής φάσης για θέσεις προσρόφησης ή το μόριο της προσροφηθείσας φ.ο. είναι μονοδιάστατο (*planar*).

C-type ($1/n \approx 1$): Σε αυτή τη περίπτωση η ισόθερμη μεταπίπτει σε γραμμική. Ο τύπος αυτός χαρακτηρίζει περιπτώσεις όπου η ουσία εμφανίζεται σταθερή κατανομή μεταξύ στερεής και υδατικής φάσης και είναι χαρακτηριστική πολλών περιπτώσεων προσρόφησης υδρόφοβων ουσιών στην οργανική ουσία εδαφών και ιζημάτων

Το μοντέλο **Langmuir** αρχικά χρησιμοποιήθηκε για την περιγραφή της κινητικής της προσρόφησης αερίων σε στερεά προσροφητικά υλικά, αλλά έχει χρησιμοποιηθεί και για την περιγραφή της προσρόφησης φ.ο. σε φυσικά περιβάλλοντα. Η ισόθερμη αυτή στηρίζεται στο πρότυπο ενός μονομοριακού στρώματος προσροφημένων μορίων, εντοπισμένων στην επιφάνεια του στερεού προσροφητικού μέσου, χωρίς παράπλευρες μεταξύ τους επιδράσεις. Το προσροφητικό μέσο στο μοντέλο Langmuir έχει περιορισμένες θέσεις προσρόφησης, σε αντίθεση με το μοντέλο Freundlich. Το μοντέλο Langmuir περιγράφεται από την εξίσωση

$$q_e = \frac{Q_{\max} \cdot b \cdot C_e}{1 + b \cdot C_e} \quad (6.6)$$

όπου

- q_e είναι η συγκέντρωση της φ.ο. που έχει προσροφηθεί σε κατάσταση ισορροπίας ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$),
 Q_{\max} αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση της προσροφημένης φ.ο. στη στερεά φάση θεωρώντας ότι έχουν καλυφθεί πλήρως όλες οι διαθέσιμες θέσεις για προσρόφηση ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
 b είναι παράμετρος που εκφράζει τη συγγένεια της φ.ο. με τις θέσεις προσρόφησης ($\text{mL}\cdot\mu\text{g}^{-1}$)
 C_e είναι η συγκέντρωση της φ.ο. στην υδατική φάση μετά την επίτευξη ισορροπίας ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

Το σύνθετο μοντέλο που ενσωματώνει στην ίδια εξίσωση το γραμμικό μοντέλο και το μη-γραμμικό μοντέλο Langmuir αναφέρεται ως **Dual mode model** και έχει χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει τη συμπεριφορά της προσρόφησης φ.ο. σε διάφορους τύπους εδαφών και άλλων οργανικών υλικών (Huang et al., 2003; Weber et al., 1992). Συνδυάζει την προσρόφηση στην υαλώδη φάση, που περιγράφεται από το μοντέλο Langmuir, και την προσρόφηση στο ελαστικό τμήμα της οργανικής ουσίας, που εκφάζεται από το γραμμικό μοντέλο

$$q_e = \frac{Q_{\max} b C_e}{1 + b C_e} + K_d C_e \quad (6.7)$$

όπου

- Q_{\max} είναι η μέγιστη συγκέντρωση προσρόφησης
 b ο συντελεστής προσρόφησης στο πρώτο τμήμα της εξίσωσης
 q_e και C_e είναι οι συγκεντρώσεις στην υδατική και εδαφική φάση σε κατάσταση ισορροπίας
 K_d είναι ο συντελεστής κατανομής στο γραμμικό τμήμα της εξίσωσης

6.7. Εκρόφηση και υστέρηση

Εκρόφηση (*desorption*) είναι η αντίστροφη διεργασία της προσρόφησης κατά την οποία τα μόρια της ουσίας που είναι προσροφημένα στα συστατικά της στερεής φάσης απελευθερώνονται και επαναδιαλύονται στην υδατική φάση. Η εκρόφηση καθορίζει σημαντικά τη βιοδιαθεσιμότητα μιας φ.ο. στο έδαφος. Το φαινόμενο της υστέρησης (*hysteresis*) είναι έκφραση μη ιδανικής συμπεριφοράς της προσρόφησης υδρόφοβων οργανικών μορίων στο έδαφος (Weber et al., 1998). Η υστέρηση εκτιμάται από τη σύγκριση των συντελεστών προσρόφησης και εκρόφησης και καθορίζει το κατά πόσο η προσρόφηση της φ.ο. στα συστατικά του εδάφους είναι πλήρως ή μερικώς αντιστρεπτή.

Η υστέρηση εξαρτάται τόσο από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της φ.ο. όσο και από τις ιδιότητες των συστατικών του προσροφητικού μέσου (Boivin et al., 2005) και αποδίδεται:

- Στην ισχυρή (μη αντιστρεπτή) πρόσδεση των μορίων στα σωματίδια του προσροφητικού μέσου (π.χ. στην οργανική ουσία). Παράδειγμα είναι ο σχηματισμός ομοιοπολικών δεσμών και δεσμών υδρογόνου μεταξύ υποκατεστημένων πολικών ή ιονιζόμενων οργανικών ουσιών (s-τριαζίνες, υποκατεστημένα παράγωγα της ουρίας, φαινόλες, ανιλίνες) και των συστατικών της οργανικής ουσίας ή των ανόργανων συστατικών της αργίλου
- Στην παγίδευση των προσροφημένων μη πολικών μορίων στο μικροπορώδες των ανόργανων συστατικών του εδάφους εξαιτίας του χαμηλού ρυθμού εκρόφησης και της ετερογένειας στη δομή των μικροπόρων

- Στη μη αντιστρεπτή παγίδευση των προσροφημένων μορίων στα συστατικά του υαλώδους τμήματος της οργανικής ουσίας. Από τη μελέτη της συμπεριφοράς προσρόφησης 12 διαφορετικής προέλευσης εδαφών και ιζημάτων προέκυψε ότι η έκταση της υστέρησης σχετίζεται με την περιεκτικότητα των εδαφών σε υαλώδη συστατικά (Weber et al., 1998)
- Σε διάφορα πειραματικά σφάλματα όπως οι πιθανές απώλειες λόγω βιοαποδόμησης κατά τη διάρκεια του πειραματισμού
- Στη μη επίτευξη κατάστασης ισορροπίας που οδηγεί σε χαμηλό ρυθμό εκρόφησης (Cox et al., 1995)

Το φαινόμενο της υστέρησης έχει πρακτική σημασία καθώς η αυξημένη τιμή του συντελεστή υστέρησης οδηγεί σε μειωμένη βιολογική ενεργότητα και τοξικότητα της ουσίας (Huang et al., 2003).

Ο δείκτης υστέρησης σύμφωνα με τους Huang et al. (1998) υπολογίζεται από τη σχέση

$$Hysteresis\ Index = \frac{q_e^d - q_e^s}{q_e^s} \Bigg|_{T, C_e} \quad (6.8)$$

όπου οι δείκτες d και s αναφέρονται στη συγκέντρωση της φ.ο. στο προσροφητικό μέσο κατά την εκρόφηση και τη προσρόφηση, αντίστοιχα, ενώ οι δείκτες T και C_e αναφέρονται σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας και συγκέντρωσης της φ.ο. στην υδατική φάση. Αρνητική τιμή του δείκτη υστέρησης αποδεικνύει ότι η υστέρηση είναι αμελητέα. Με τη σχέση αυτή υπολογίζεται η εκρόφηση σε όλες τις συγκεντρώσεις ισορροπίας και για συγκεκριμένο χρόνο αντίδρασης (*single point desorption isotherm*) Μια άλλη μορφή έκφρασης της υστέρησης που χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις υπολογισμού του συντελεστή κατανομής μέσα από διαδοχικές εκροφήσεις σε δεδομένη συγκέντρωση ισορροπίας (*consecutive method*) δίνεται από τη σχέση (O'Connor and Connolly, 1980)

$$H = \left(1/n_{fd}\right) / \left(1/n_f\right) \quad (6.9)$$

όπου 1/n_{fd} και 1/n_f είναι οι σταθερές της ισόθερμης Freundlich της εκρόφησης και της προσρόφησης αντίστοιχα (Barriuso et al., 1994).

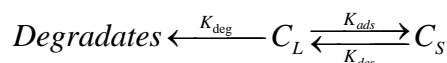
Άλλη μορφή έκφρασης της παραπάνω σχέσης όπως προτάθηκε από τους Ma et al. (1993) είναι

$$\omega = \left[\left(\frac{1}{n_{ad}} / \frac{1}{n_{des}} \right) - 1 \right] \times 100 \quad (6.10)$$

6.8. Σχέση μεταξύ μικροβιακής αποδόμησης και προσρόφησης

Η επίδραση της προσρόφησης στην αποδόμηση είναι σύνθετη διεργασία και εξαρτάται από τις μικροβιακές, εδαφικές και περιβαλλοντικές συνθήκες αλλά και από τις ιδιότητες των φ.ο. Η προσρόφηση συχνά θεωρείται διεργασία που περιορίζει το ρυθμό αποδόμησης λόγω μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας των προσροφημένων ουσιών στους μικροοργανισμούς του εδάφους. Σε συνθήκες αγρού όμως η προσρόφηση μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένους ρυθμούς συνολικής αποδόμησης

αυξάνοντας το χρόνο παραμονής των φ.ο. στη ριζόσφαιρα, όπου οι ρυθμοί αποδόμησης είναι συχνά υψηλότεροι. Η σχέση μεταξύ ρυθμού αποδόμησης και προσρόφησης μπορεί να περιγραφεί από το μοντέλο των Hamaker και Goring, (1975). Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό οι φ.ο. βρίσκονται στο έδαφος σε δύο καταστάσεις. Ένα τμήμα της ουσίας είναι εύκολα βιοδιαθέσιμο και οι ρυθμοί αποδόμησης του είναι έντονοι και ένα δεύτερο, που προσδένεται με αργό αλλά αντιστρεπτό ρυθμό στην επιφάνεια του εδάφους, δεν είναι βιοδιαθέσιμο και η αποδόμηση του προχωρά με βραδύτερο ρυθμό



όπου

C_L και C_S η συγκέντρωση στην υγρή και στερεή φάση αντίστοιχα

Αν η εκρόφηση πραγματοποιείται με ρυθμό ίσο ή μικρότερο από αυτό της αποδόμησης, η εξάρτηση της αποδόμησης από τη προσρόφηση οδηγεί σε σύνθετη κινητική ακόμη και αν η ίδια η διαδικασία αποδόμησης είναι μια απλή κινητική πρώτης τάξης. Η σύνθετη κινητική εξίσωση εκφράζει την κατανομή της φ.ο. μεταξύ στερεάς και υγρής φάσης και περιλαμβάνει ένα ρυθμό αποδόμησης για την υδατική και ένα για τη στερεή φάση. Το σύνθετο κινητικό μοντέλο αποδόμησης μπορεί να περιγράψει τη κινητική αποδόμησης φ.ο. που βρίσκεται προσροφημένη τόσο στην οργανική φάση του εδάφους όσο και στα ανόργανα συστατικά της αργίλου.

6.9. Προσρόφηση σε μίγμα εδάφους και οργανικών υλικών

Παρά το μεγάλο αριθμό των εργασιών που εξετάζουν τη συμπεριφορά προσρόφησης των φ.ο. στο έδαφος δεν υπάρχουν αντιστοίχως επαρκή δεδομένα για την προσρόφηση των φ.ο. σε φυτικής προέλευσης οργανική ύλη. Γενικά, η παρουσία εξωγενούς προέλευσης οργανικών συστατικών, όπως τύρφη, κομπόστα, χουμικά οξέα και άχυρο, αυξάνει την προσρόφηση των φ.ο. στο έδαφος και συνεπώς μειώνει τη πιθανότητα κάθετης μετακίνησης τους σε βαθύτερα στρώματα του εδάφους. Η επίδραση της προσθήκης οργανικών υλικών στο έδαφος είναι πιο έντονη σε εδάφη με χαμηλή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία. Η αύξηση του συντελεστή προσρόφησης που αναμένεται με την προσθήκη τέτοιων υλικών συνοδεύεται και από αλλαγή της ισόθερμης καμπύλης από τυπική καμπύλη C- σε καμπύλη L- τύπου σύμφωνα με την ταξινόμηση των ισόθερμων καμπύλων κατά Gills (Inglesias-Jimenez et al., 1997; De Wilde et al., 2009). Επίσης η προσθήκη κομπόστας στο έδαφος μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του δείκτη υστέρησης συγκριτικά με το έδαφος που δεν έχει δεχθεί ενσωμάτωση οργανικής ύλης εξωγενούς προέλευσης. Η επίδραση της οργανικής ουσίας στην προσρόφηση φ.ο. δεν είναι μόνο συνάρτηση της ποσότητας του οργανικού άνθρακα που προστίθεται αλλά σχετίζεται και με δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά της οργανικής ύλης. Οι Benoit et al., (1996) μελέτησαν τη συμπεριφορά προσρόφησης φ.ο. σε τέσσερα υλικά οργανικής προέλευσης. Η προσρόφηση των ουσιών ήταν ανάλογη του βαθμού χουμοποίησης των οργανικών υλικών (άχυρο < λιγνίνη < κομποστοποιημένο άχυρο < χουμικά οξέα). Τα οργανικά μόρια προσροφώνται ισχυρότερα στη λιγνίνη και λιγότερο στην κυτταρίνη ή σε πρωτεϊνικής σύστασης υποστρώματα (Benoit et al., 1996) και σε ορισμένες μάλιστα περιπτώσεις η τιμή των συντελεστών προσρόφησης συσχετίζεται θετικά με την τιμή της περιεχόμενης λιγνίνης (Rodríguez-Cruz et al., 2007). Η προσθήκη μερικώς κομποστοποιημένων υπολειμμάτων φυτικής προέλευσης (ατελώς χουμοποιημένα υλικά) αυξάνει τη σχετική αναλογία σε

λιγνίνη καθώς συστατικά όπως η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη διασπώνται ταχύτατα στα πρώτα στάδια της πορείας χουμοποίησης (Benoit, 1994). Επιπλέον, η αύξηση της ευδιάλυτης μορφής της οργανικής ουσίας (DOM), που αναμένεται με τη προσθήκη οργανικών υλικών στο έδαφος, μπορεί να επηρεάσει τη συμπεριφορά των φ.ο. στο έδαφος και ιδιαίτερα των πιο υδρόφοβων (Fernandes et al., 2006; Iglesias-Jimenez et al., 1997). Για παράδειγμα, η προσθήκη τύρφης σε αμμώδες έδαφος είχε σαν αποτέλεσμα την κατά 55% αύξηση της έκπλυσης του metalaxyl σε σχέση με το έδαφος που δεν είχε υποστεί καμία μεταχείριση (Petronic et al., 1996). Η αύξηση της κινητικότητας του metalaxyl αποδόθηκε στην παρουσία του ευδιάλυτου κλάσματος της οργανικής ουσίας της τύρφης. Σε άλλη μελέτη η προσρόφηση του chlorpyrifos σε εδάφη μειώθηκε μετά από προσθήκη DOC, γεγονός που οδήγησε σε αύξηση της κινητικότητας του μορίου στα εδάφη αυτά (Huang and Lee, 2001)

Οι De Wilde et al. (2009) μελέτησαν τη συμπεριφορά προσρόφησης πέντε φ.ο., με διαφορετικά μεταξύ τους φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, σε οργανικά υλικά (κομπόστα, τύρφη, λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα). Η ικανότητα προσρόφησης των οργανικών υλικών που εξεταστήκαν ήταν σε κάθε περίπτωση μεγαλύτερη από την αντίστοιχη προσροφητική ικανότητα που εμφάνισε το έδαφος. Τις μεγαλύτερες τιμές K_f εμφάνισε το μίγμα τύρφης ακολουθούμενο από την κομπόστα, η οποία με τη σειρά της εμφάνισε μεγαλύτερη ικανότητα προσρόφησης σε σχέση με τα λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα (άχυρο, πριονίδια, και φλούδες κακαόδεντρου). Επίσης, η χρήση του συντελεστή προσρόφησης K_{oc} δεν οδήγησε σε μείωση της παραλλακτικότητας των διαφόρων τιμών του συντελεστή προσρόφησης στα διάφορα υποστρώματα, παρά το γεγονός ότι παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ περιεχόμενου οργανικού άνθρακα και τιμών K_f . Σε μελέτη της προσρόφησης των ουσιών mecorpro και isoprocturon σε βιοκλίνη οι τιμές του συντελεστή προσρόφησης ήταν 1,6-5,2 φορές υψηλότερες στο βιομίγμα σε σχέση με το έδαφος, ενώ δεν εμφανίστηκε καμία συσχέτιση μεταξύ τιμών K_d και συγκέντρωσης εφαρμογής. Εμφανίστηκε, όμως, συσχέτιση μεταξύ της τιμής του συντελεστή προσρόφησης και της περιεκτικότητας σε οργανικό άνθρακα (Henriksen et al., 2003).

Πειραματικό μέρος

Σκοπός της έρευνας

Σκοπός της έρευνας-πειραματικά σχέδια

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον για τη προστασία του περιβάλλοντος και ειδικότερα την προστασία των υπόγειων και επιφανειακών υδάτινων πόρων από οργανικούς ρύπους. Συστήματα βιοαπορρύπανσης, όπως οι βιοκλίνες, έχουν εγκατασταθεί σε αρκετές χώρες για την προστασία των υδάτινων αποδεκτών από φ.ο. προερχόμενες από σημειακές πηγές ρύπανσης. Παρά την ευρεία υιοθέτηση των συστημάτων αυτών δεν υπάρχει μια πρότυπη μορφή βιοκλίνης με κοινή αποδοχή. Αντίθετα έχουν προταθεί πολλές παραλλαγές του αρχικού σχεδίου ανάλογα με τις ιδιαίτερες απαιτήσεις κάθε περιοχής. Παράγοντες όπως η ποσότητα και η συχνότητα της χημικής ή υδατικής φόρτισης, το μικροκλίμα της περιοχής, οι απαιτήσεις της νομοθεσίας και το κόστος των υλικών, επηρεάζουν τον σχεδιασμό της βιοκλίνης. Οι μεγαλύτερες διαφοροποιήσεις μεταξύ των πρωτότυπων συστημάτων βιοκλινών που έχουν αναπτυχθεί και εφαρμοστεί εντοπίζονται στις διαστάσεις της βιοκλίνης και στη σύσταση του ενεργού βιομίγματος. Ιδιαίτερα όσον αφορά το ενεργό βιομίγμα απαιτείται η χρήση οργανικών υλικών που να βρίσκονται σε αφθονία στην περιοχή της εγκατάστασης της βιοκλίνης και που να εμφανίζουν αποδεκτό κόστος συλλογής, μεταφοράς και επεξεργασίας.

Η ανάπτυξη και αξιολόγηση συστημάτων βιοκλινών κάθε περιοχής μπορεί να επιτευχθεί μέσα από 3 επίπεδα δοκιμών:

- Εργαστηριακές δοκιμές. Οι αρχικές αυτές δοκιμές αφορούν την αξιολόγηση διαφόρων υλικών ως συστατικών του βιομίγματος. Η αξιολόγηση αυτή περιλαμβάνει δοκιμές αποδόμησης, προσρόφησης και έκπλυσης σε ελεγχόμενο περιβάλλον. Σε τέτοιες ελεγχόμενες συνθήκες είναι δυνατή η απομόνωση και μελέτη των διεργασιών αποδόμησης και προσρόφησης στο ενεργό βιομίγμα από άλλες διεργασίες απομάκρυνσης των φ.ο. που λαμβάνουν χώρα στο αγρό (π.χ. φωτοαποδόμηση, πτητικοποίηση)
- Δοκιμές semi-field. Οι δοκιμές αυτού του σταδίου περιλαμβάνουν επαναξιολόγηση των πλέον αποτελεσματικών υποστρωμάτων που προκρίθηκαν στις εργαστηριακές δοκιμές, ώστε να

διαπιστωθεί κατά πόσο τα υλικά που επιλέχθηκαν διατηρούν την αποτελεσματικότητα τους κάτω από πραγματικές συνθήκες περιβάλλοντος. Για τη σειρά αυτή των δοκιμών μπορούν να χρησιμοποιηθούν μικρής κλίμακας βιοκλίνες

- Δοκιμές σε επίπεδο αγρού. Οι τελικές αυτές δοκιμές περιλαμβάνουν την κατασκευή πειραματικών βιοκλινών και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας τους σε ρεαλιστικές συνθήκες χημικής και υδατικής φόρτισης. Οι πειραματικές αυτές βιοκλίνες μπορούν να αξιολογηθούν ως προς τις παραμέτρους του κόστους κατασκευής, των απαιτήσεων σε τεχνολογία και εργατοώρες, την ευκολία χειρισμού και κυρίως την αποτελεσματικότητα σε πραγματικά σενάρια έκθεσης κινδύνου σύμφωνα με τη κοινή γεωργική πρακτική

Η παρούσα έρευνα αφορά το **πρώτο** επίπεδο των δοκιμών (εργαστηριακές δοκιμές) για την αξιολόγηση υλικών που μπορούν να αποτελέσουν υλικά πλήρωσης συστημάτων βιοκλινών, προσαρμοσμένων στα Ελληνικά δεδομένα. Το βιομίγμα διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα του συστήματος καθώς αποτελεί ουσιαστικά το οργανικό φίλτρο της βιοκλίνης. Τυπικά συνίσταται από ένα μίγμα άχυρου, κομπόστας ή τύρφης και εδάφους σε ογκομετρική αναλογία 50:25:25 vol.%. Καθένα από τα συστατικά του βιομίγματος επηρεάζει τόσο τη συγκράτηση των φ.ο. όσο και την ικανότητα αποδόμησης τους. Πρωταρχικός στόχος της πειραματικής διαδικασίας, επομένως, είναι η συλλογή και η δοκιμή υλικών τα οποία είτε αυτούσια ή μετά από σταθεροποίηση μπορούν να ενσωματωθούν σε συστήματα βιοκλινών και η αξιολόγηση τους, ώστε να είναι δυνατή η επιλογή των πιο αποτελεσματικών από αυτά. Η επιλογή των υλικών έγινε με κριτήρια τη διάθεσιμότητά τους σε μεγάλες ποσότητες, τη μικρή οικονομική τους αξία και το ότι προέρχονται από τοπικές δραστηριότητες. Τα υλικά αυτά περιλαμβάνουν α) εδάφη με ποικίλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, β) ώριμες κομπόστες που είναι προϊόντα βιοσταθεροποίησης παραπροϊόντων της γεωργικής πρακτικής, γ) τύρφη που διατίθεται στο εμπόριο και δ) λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα που αποτελούν παραπροϊόντα της βιομηχανικής επεξεργασίας γεωργικών προϊόντων ή υπολειμμάτα καλλιέργειών που παραμένουν στον αγρό μετά τη συγκομιδή.

Οι φυτοπροστατευτικές ουσίες-στόχοι που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα είναι τα μυκητοκτόνα iprodione, metalaxyl-M, azoxystrobin, τα εντομοκτόνα buprofezin, indoxacarb, dimethoate, chlorpyrifos και τα ζιζανιοκτόνα metribuzin και terbuthylazine. Οι φ.ο. επιλέχθηκαν με κριτήρια: α) τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους (π.χ. υδατοδιαλυτότητα), β) την πιθανότητα ανίχνευσης τους σε υδάτινα περιβάλλοντα, που σχετίζεται με παραμέτρους όπως ο μέσος χρόνος παραμονής σε υδάτινα και εδαφικά περιβάλλοντα και η ικανότητα συγκράτησης τους στα συστατικά του εδάφους και γ) τη συχνότητα χρήσης τους στον αγρό.

Η όλη πορεία του εργαστηριακού πειραματισμού οργανώθηκε σε τρεις φάσεις (**διάγραμμα 7.1**)

Η πρώτη φάση των εργαστηριακών δοκιμών περιελάμβανε την αξιολόγηση των σχηματισθέντων υποστρωμάτων με κριτήριο την επαγωγή συνθηκών ταχείας μικροβιακής αποδόμησης ενός μίγματος φ.ο. Η σχετική αποδομητική ικανότητα των υποστρωμάτων αξιολογήθηκε με την παρακολούθηση, κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες επώασης, της πορείας απομάκρυνσης των υπολειμμάτων των φ.ο. (ή των μεταβολιτών τους) μετά την εφαρμογή τους. Οι παράμετροι $t_{1/2}$ και ρυθμός αποδόμησης k μετά από προσαρμογή κατάλληλου κινητικού μοντέλου στα αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκαν για την σύγκριση των αποτελεσμάτων. Έδαφος και δύο τυπικά βιομίγματα τύρφης χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Οι δοκιμές αποδόμησης αποσκοπούσαν:

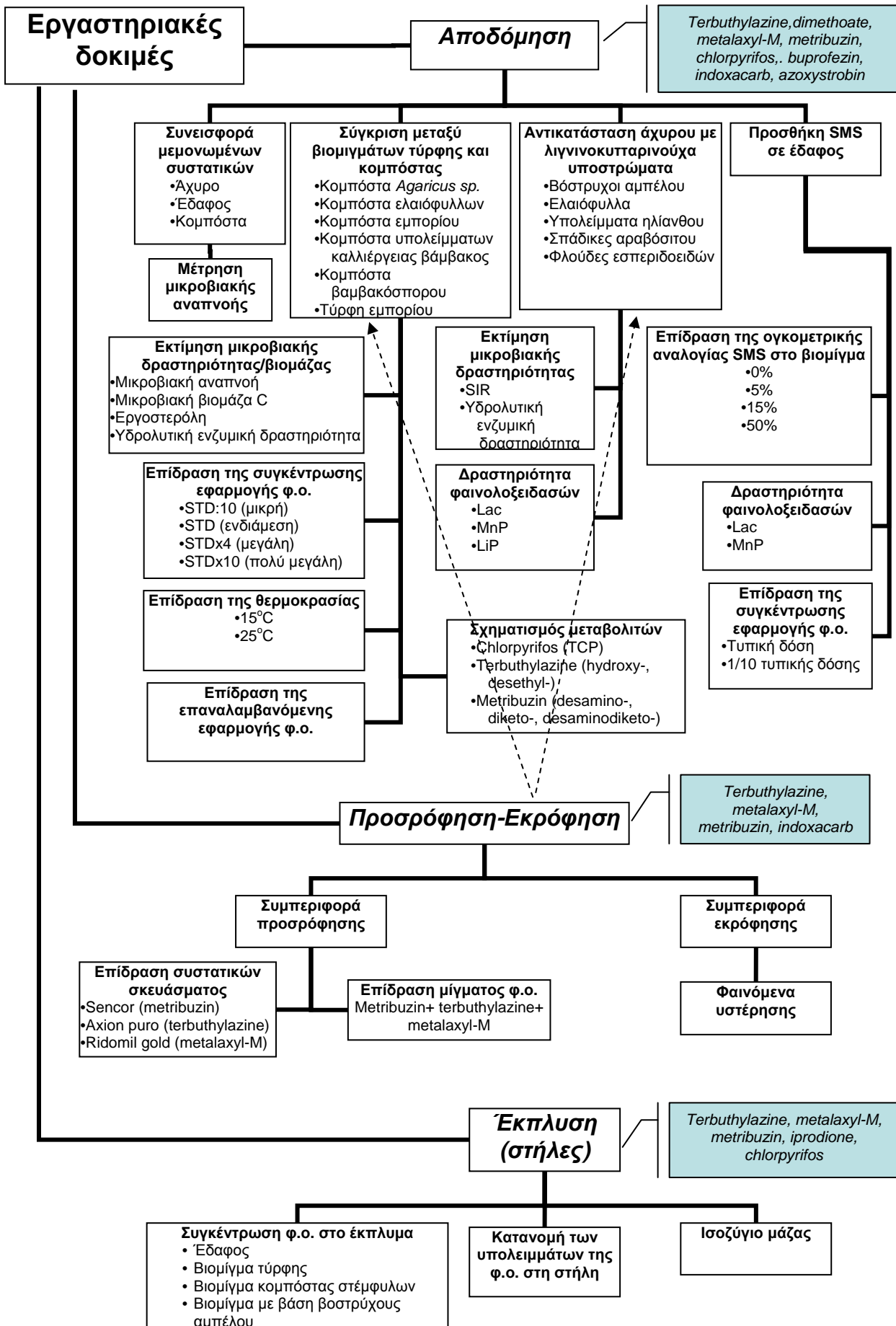
- Στην αξιολόγηση της χρήσης της κομπόστας ως υποκατάστατου της τύρφης σε βιομίγματα και στη σύγκριση βιομιγμάτων με βάση την κομπόστα ως προς την ικανότητα να επάγουν συνθήκες αυξημένης μεταβολικής δραστηριότητας στα βιομίγματα. Ταυτόχρονα, επιδιώχθηκε η εύρεση συγκεκριμένων φυσικοχημικών χαρακτηριστικών που μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για την επιλογή των κομποστών με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά για χρήση τους σε βιομίγματα
- Στη μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας, της συγκέντρωσης και της επαναλαμβανόμενης εφαρμογής στην αποδόμηση επιλεγμένων φ.ο. σε βιομίγματα.
- Στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του εξαντλημένου υποστρώματος του μανιταριού *Pleurotus ostreatus* (SMS) στη βελτιστοποίηση της αποδομητικής ικανότητας μετά από ενσωμάτωση του σε μίγμα άχυρου-εδάφους, σε διάφορες ογκομετρικές αναλογίες
- Στη μελέτη της αξιοποίησης λιγνινοκυτταρινούχων υλικών ως υποκατάστατων του άχυρου στα βιομίγματα και στη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ μικροβιακής δραστηριότητας - παραγωγής ενζύμων και της αποδομητικής ικανότητας των βιομιγμάτων
- Στη σχετική συνεισφορά κάθε συστατικού (άχυρο, έδαφος, κομπόστα) στην αποτελεσματικότητα του βιομίγματος και τις πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφορετικών συστατικών
- Στην παρακολούθηση της πορείας σχηματισμού των προϊόντων της αβιοτικής ή βιοτικής αποδόμησης των φ.ο.

Η δεύτερη φάση του πειραματισμού περιελάμβανε αξιολόγηση της ικανότητας των βιομιγμάτων για προσρόφηση επιλεγμένων φ.ο. Συγκεκριμένα:

- Πραγματοποιήθηκε σύγκριση μεταξύ βιομιγμάτων με βάση την κομπόστα και τυπικού σουηδικού βιομίγματος (με βάση την τύρφη) ως προς την ικανότητα προσρόφησης φ.ο. με διαφορετικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά
- Καταγράφηκε η διαφοροποίηση των παραμέτρων προσρόφησης σε βιομίγματα που περιέχουν διαφορετικής προέλευσης κομπόστες
- Πραγματοποιήθηκε η σύγκριση των υποστρωμάτων ως προς το βαθμό αντιστρεψιμότητας της διεργασίας προσρόφησης
- Διερευνήθηκε η επίδραση της προσρόφησης στις παραμέτρους της αποδόμησης
- Διερευνήθηκε η επίδραση της ταυτόχρονης εφαρμογής μίγματος φ.ο. στη συμπεριφορά προσρόφησης

Η τρίτη φάση του πειραματισμού αφορούσε στην αξιολόγηση των προκριθέντων βιομιγμάτων σε πειράματα έκπλυσης με τη βοήθεια στηλών. Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε:

- υπολογισμός της ποσότητας των φ.ο. που εκπλύνεται και συσχέτιση της έκπλυσης τόσο με τα χαρακτηριστικά του βιομίγματος που χρησιμοποιείται όσο και με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των φ.ο. της δοκιμής
- υπολογισμός του ισοζυγίου μάζας στις στήλες με το πέρας των πειραμάτων ώστε να διαπιστωθεί η σχετική συνεισφορά των διεργασιών προσρόφησης και αποδόμησης στην απομάκρυνση των φ.ο.



Διάγραμμα 7.1. Διαγραμματική απεικόνιση του πειραματικού σχεδίου της παρούσας διατριβής

Πειραματικό μέρος

Υλικά και μέθοδοι

Υλικά-σκεύη-αντιδραστήρια

8.1. Υποστρώματα

8.1.1. Έδαφος

Για την εκτίμηση της αποδομητικής και προσροφητικής ικανότητας βιομιγμάτων που περιέχουν κομπόστα ή τύρφη συλλέχθηκε έδαφος από αγροτεμάχιο καλλιέργειας ροδάκινου στην περιοχή Αμπελιές Γιαννιτσών. Το ίδιο έδαφος χρησιμοποιήθηκε και για την αξιολόγηση της ικανότητας του SMS του μύκητα *P. ostreatus* να βελτιστοποιεί την αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων. Έδαφος προερχόμενο από αγροτεμάχιο του Αγροκτήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Βελεστίνο του Βόλου χρησιμοποιήθηκε για το σύνολο των πειραμάτων που περιλαμβάνουν τη χρήση λιγνινοκυτταρινούχων υποστρωμάτων ως υποκατάστατων του άχυρου. Τέλος για τα πειράματα ελέγχου της κάθετης μετακίνησης φ.ο. με τη χρήση στηλών συλλέχθηκε έδαφος από την αμπελοοικονική περιοχή της Νέας Αγχιάλου Βόλου. Δείγματα εδάφους λήφθηκαν από τουλάχιστο 5 τυχαία σημεία εντός του κάθε αγροτεμαχίου και από βάθος 0-20 cm. Η ποσότητα που λήφθηκε από κάθε σημείο δειγματοληψίας ήταν περίπου 2 κιλά. Το σύνολο της ποσότητας του εδάφους από κάθε αγροτεμάχιο αναμίχθηκε και μεταφέρθηκε σε πλαστικές σακούλες στο σημείο αποθήκευσής τους. Για την επιλογή των αγροτεμαχίων δειγματοληψίας λήφθηκε υπόψη το λευκό ιστορικό εφαρμογής φ.π. κατά τα τελευταία έτη. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των συλλεχθέντων εδαφών αναφέρονται στον **πίνακα 8.1**.

Η αρχική προετοιμασία των εδαφών περιελάμβανε πέρασμα από κόσκινο με διάμετρο οπών 2 mm αποφεύγοντας οποιαδήποτε μεταχείριση που οδηγεί σε σπάσιμο των φυσικών συσσωματωμάτων των εδαφών. Ακολούθησε ανάμιξη του κοσκινισμένου εδάφους και μεταφορά σε πλαστικές σακούλες που να επιτρέπουν τον αερισμό. Η αποθήκευση του εδάφους πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος. Σε κάθε περίπτωση η χρησιμοποίηση των εδαφών για το σχηματισμό των

βιομιγμάτων πραγματοποιήθηκε εντός 1 μήνα από την ημερομηνία συλλογής, καθώς μεγαλύτεροι χρόνοι αποθήκευσης ενδέχεται να συντελούν στη μείωση της συνολικής μικροβιακής δραστηριότητας, άρα και της αποδομητικής ικανότητας (OECD, 2002).

Πίνακας 8.1. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των εδαφών που χρησιμοποιήθηκαν για τα βιομίγματα

| Περιοχή δειγματοληψίας | Μηχανική σύσταση (%) | | | Χαρακτηρισμός εδάφους | pH | Ειδικό βάρος (g·mL ⁻¹) | Οργανικός C (%) | Συνολικό N (%) | WHC |
|------------------------------|-------------------------|------|---------|--------------------------|------|--|--------------------|-------------------|------|
| | Άμμος | Ιλύς | Άργιλος | | | | | | |
| S1 Αμπελιές Γιαννιτσών | 54 | 26 | 20 | αμμοαργιλοπηλώδες | 6,57 | 1,08 | 1,80 | 0,19 | 50,8 |
| S2 Βελεστίνο, Βόλος | 47 | 30 | 23 | πηλώδες | 7,57 | 1,19 | 1,50 | 0,16 | nd |
| S3 Νεα Αγχίαλος, Βόλος | 8 | 59 | 33 | ιλοαργιλοπηλώδες | 7,90 | nd | 0,92 | nd | 48,7 |

^a nd: Χωρίς μέτρηση

8.1.2. Κομπόστες

Σε κάθε καλλιεργητική περίοδο παράγεται μεγάλη ποσότητα παραπροϊόντων αγροτικών βιομηχανιών και υπολειμμάτων καλλιεργειών και συχνά εμφανίζεται δυσκολία στην περαιτέρω διάθεση και αξιοποίηση τους. Η ανεξέλεγκτη απόρριψη τέτοιων υλικών μπορεί επίσης να οδηγήσει σε προβλήματα υποβάθμισης του φυσικού περιβάλλοντος. Μερικά από τα οργανικά αυτά υλικά μπορούν μετά από ένα στάδιο σταθεροποίησης (κομποστοποίηση) να μετατραπούν σε ασφαλή και οικονομικά ωφέλιμα προϊόντα. Η χουμοποιημένη οργανική ύλη που παράγεται με τον τρόπο αυτό μπορεί να αξιοποιηθεί για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των βιοκλινών και παράλληλα τη μείωση του κόστους κατασκευής και λειτουργίας τους. Η επιλογή των υλικών προς κομποστοποίηση έγινε με κριτήρια τη διάθεσιμότητά τους σε μεγάλες ποσότητες, τη μικρή οικονομική τους αξία και το ότι προέρχονται από τοπικές δραστηριότητες.

Κομπόστα από ελαιόφυλλα

Η κομποστοποίηση των ελαιόφυλλων πραγματοποιήθηκε σε κλειστό χώρο σε εγκαταστάσεις της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών στο Φυτόκο. Η τεχνολογία που χρησιμοποιήθηκε ήταν έγκλειστο σύστημα κομποστοποίησης εντός αυτοσχέδιου κάδου. Για τη δημιουργία του κάδου αυτού, διαστάσεων 74 x 74 x 80 cm, κατασκευάστηκε ένα μεταλλικό πλαίσιο και επενδύθηκε εσωτερικά με φύλλα μονωτικού υλικού πάχους 5 cm (**εικόνα 8.1α**). Η χρήση του μονωτικού υλικού επιλέχθηκε για διατήρηση της θερμότητας που παράγεται κατά τη θερμόφιλη φάση της κομποστοποίησης. Στην κάτω πλευρά του κάδου τοποθετήθηκε πλέγμα που επέτρεπε την απομάκρυνση της περίσσειας νερού και τον αερισμό. Τα ελαιόφυλλα συλλέχθηκαν από μονάδα παραγωγής ελαιόλαδου στην Ιωλκό Βόλου, κατά το αρχικό στάδιο καθαρισμού των ελαιοκαρπών. Ο όγκος των ελαιόφυλλων που συλλέχθηκε ήταν περίπου 210 L. Ο συνολικός χρόνος που απαιτήθηκε για την παραγωγή ώριμου τελικού προϊόντος ήταν 6 μήνες και περιελάμβανε μια θερμόφιλη φάση συνολικής διάρκειας 80 ημερών ακολουθούμενη από μια πιο αργή πορεία σταθεροποίησης της κομπόστας. Η μέγιστη τιμή θερμοκρασίας που μετρήθηκε ήταν 59°C και σημειώθηκε 4 μέρες από την τοποθέτηση των ελαιόφυλλων στον κάδο. Η πορεία της θερμοκρασίας στη διάρκεια της θερμόφιλης φάσης

κομποστοποίησης μετρήθηκε με τη βοήθεια ηλεκτρονικού θερμομέτρου επαφής και αναφέρεται στον **διάγραμμα 8.1γ**.

Ο χειρισμός της ώριμης κομπόστας περιελάμβανε πέρασμα από κόσκινο. Το μέγεθος των οπών που επιλέχθηκε (3,25 mm) επιτρέπει τουλάχιστο το 50% κάθε υποστρώματος να διέλθει από το κόσκινο ώστε τα τεμαχίδια που παραλαμβάνονται να ανταποκρίνονται στο τυπικό μέγεθος του υλικού.

Κομπόστα από βαμβακόσπορο

Ο βαμβακόσπορος είναι υποπροϊόν εκκόκκισης του βάμβακας το οποίο συνήθως μετά την απομάκρυνση του βαμβακέλαιου χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή. Ποσότητα αυτού του υλικού (90 kg) συλλέχθηκε από το εκκοκκιστήριο βάμβακος “Δακάρ”, (Κλοκωτός, Τρίκαλα) και μεταφέρθηκε σε αυτοσχέδιο κάδο κομποστοποίησης χωρίς ανάμιξη με άλλο υλικό ή ανόργανη λίπανση. Μετά τη ρύθμιση της υγρασίας, η θερμοκρασία της σωρού αυξήθηκε σημαντικά πλησιάζοντας τους 70 βαθμούς τρεις μέρες μετά την εκκίνηση της κομποστοποίησης. Η συνολική διάρκεια της θερμόφιλης φάσης ήταν 3 μήνες και περιελάμβανε 6 θερμόφιλους κύκλους μέσης διάρκειας 16 ημερών. Η μέγιστη θερμοκρασία που μετρήθηκε στο εσωτερικό της σωρού ήταν 70 βαθμοί (**διάγραμμα 8.1β**). Η ολοκλήρωση της αρχικής φάσης κομποστοποίησης ήταν εμφανής με την αλλαγή χρώματος και τη σταθεροποίηση της θερμοκρασίας στο εσωτερικό της σωρού. Το προϊόν παρέμεινε στον κάδο για 4 μήνες επιπλέον με ταυτόχρονη διατήρηση της υγρασίας σε υψηλά επίπεδα. Η έντονη οσμή που εκλύθηκε από τον κάδο κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της βιοξειδωτικής διεργασίας αποδώθηκε σε απώλεια της περίσσειας N, κυρίως με τη μορφή NH₃. Ο χειρισμός της ώριμης κομπόστας περιελάμβανε πέρασμα από κόσκινο με μέγεθος οπών 3,25 mm.

Κομπόστα από υπόστρωμα ανάπτυξης του μύκητα *Agaricus bisporus*

Ο μύκητας *Agaricus bisporus* αποτελεί το 1/3 των περίπου 3,2 εκατομμυρίων τόνων εδώδιμων μανιταριών που παράγονται παγκοσμίως. Στην Ελλάδα η παραγωγή το λευκού μανιταριού *Agaricus bisporus* ανέρχεται σε 2.200 τόνους ετησίως, ποσότητα που αντιστοιχεί στο 90% της συνολικής παραγωγής μανιταριών (Philippoussis and Zervakis, 2000a). Το υπόστρωμα ανάπτυξης του μύκητα αποτελείται από άχυρο (πηγή C), γύψο (ρύθμιση pH, βελτίωση της δομής) και κοπριά (εμπλουτισμός σε άζωτο και υδαάνθρακες μικρού μοριακού βάρους). Το υπόστρωμα παρασκευάζεται με ελεγχόμενη διαδικασία αερόβιων ζυμώσεων σε δύο φάσεις, μια κομποστοποίηση σε υψηλή θερμοκρασία (μέχρι 85°C) και μια παστερίωση (ξεκινώντας από τους 60°C με σταδιακή μείωση θερμοκρασίας έως τους 45°C) (Φιλιππούσης και Διαμαντοπούλου, 2001).

SMS του μύκητα αυτού συλλέχθηκε από μονάδα παραγωγής εδώδιμων μανιταριών στην περιοχή Λαζαρίνα του νομού Καρδίτσας. Το υποπροϊόν αυτό της παραγωγικής διαδικασίας απομακρύνεται μετά τη συγκομιδή του εδώδιμου προϊόντος, υφίσταται θερμική επεξεργασία και συνήθως διατίθεται στο εμπόριο ως ώριμη και απαλλαγμένη από παθογόνα κομπόστα. Το SMS που χρησιμοποιήθηκε στην υλοποίηση του πειραματικού σχεδιασμού της εργασίας αυτής συλλέχθηκε προ του σταδίου θερμικής επεξεργασίας, μεταφέρθηκε σε αποθήκη του εργαστηρίου και παρέμεινε για 4 μήνες σε θερμοκρασία δωματίου έως την ολοκλήρωση της τελικής φάσης ωρίμανσης. Κατά το χρονικό αυτό διάστημα η υγρασία του υποστρώματος διατηρήθηκε σταθερή με προσθήκη νερού σε τακτά χρονικά

διαστήματα. Η παράκαμψη του σταδίου θερμικής επεξεργασίας θεωρήθηκε αναγκαία προκειμένου να μη θανατωθούν τα σπόρια του μύκητα, καθώς το υπόστρωμα ανάπτυξης είναι πιθανή πηγή λιγνολυτικών ενζύμων που παράγονται από το μύκητα αυτό και τα οποία έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να συμμετάσχουν στην πορεία αποδόμησης μεγαλομοριακών ουσιών (Rajarathnama et al., 1998). Το τελικό προϊόν που παρήχθη κοσκινίστηκε (3,25 mm) και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου.

Κομπόστα από υπολείμματα καλλιέργειας βάμβακος

Η κομπόστα αυτή δημιουργήθηκε με δραστηριότητες του εργαστηρίου Εδαφολογίας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και αποτελεί το τελικό προϊόν βιοοξειδωσης υποπροϊόντων απόχρωσης βάμβακος (Γεωργιάδης, 2006). Η όλη διεργασία κομποστοποίησης πραγματοποιήθηκε σε εξωτερικό χώρο και εντός δύο όμοιων τάφρων με βάθος 1,5 μέτρα. Το συνολικό βάρος των υποπροϊόντων εκκόκκισης σε κάθε τάφρο ήταν περίπου 870 κιλά. Εξαιτίας της χαμηλής περιεκτικότητας των αρχικών υλικών σε άζωτο πραγματοποιήθηκε προσθήκη αζώτου με τη μορφή νιτρικής αμμωνίας σε αναλογία 23 g·kg⁻¹. Το τελικό προϊόν που παρήχθη απολυμάνθηκε με τη χρήση φωσφίνης. Η διεργασία κομποστοποίησης διήρκησε συνολικά 4 μήνες και περιελάμβανε τακτικές προσθήκες νερού για διατήρηση της υγρασίας σε βέλτιστο επίπεδο, αναμόχλευση της σωρού για αερισμό και τακτική θερμομέτρηση. Το μέγεθος των τεμαχιδίων του τελικού προϊόντος εξομαλύνθηκε με πέρασμα από κόσκινο διαμέτρου 3,25 mm. Τα κυριότερα χαρακτηριστικά της κομπόστας αυτής εμφανίζονται στον **πίνακα 8.2**.

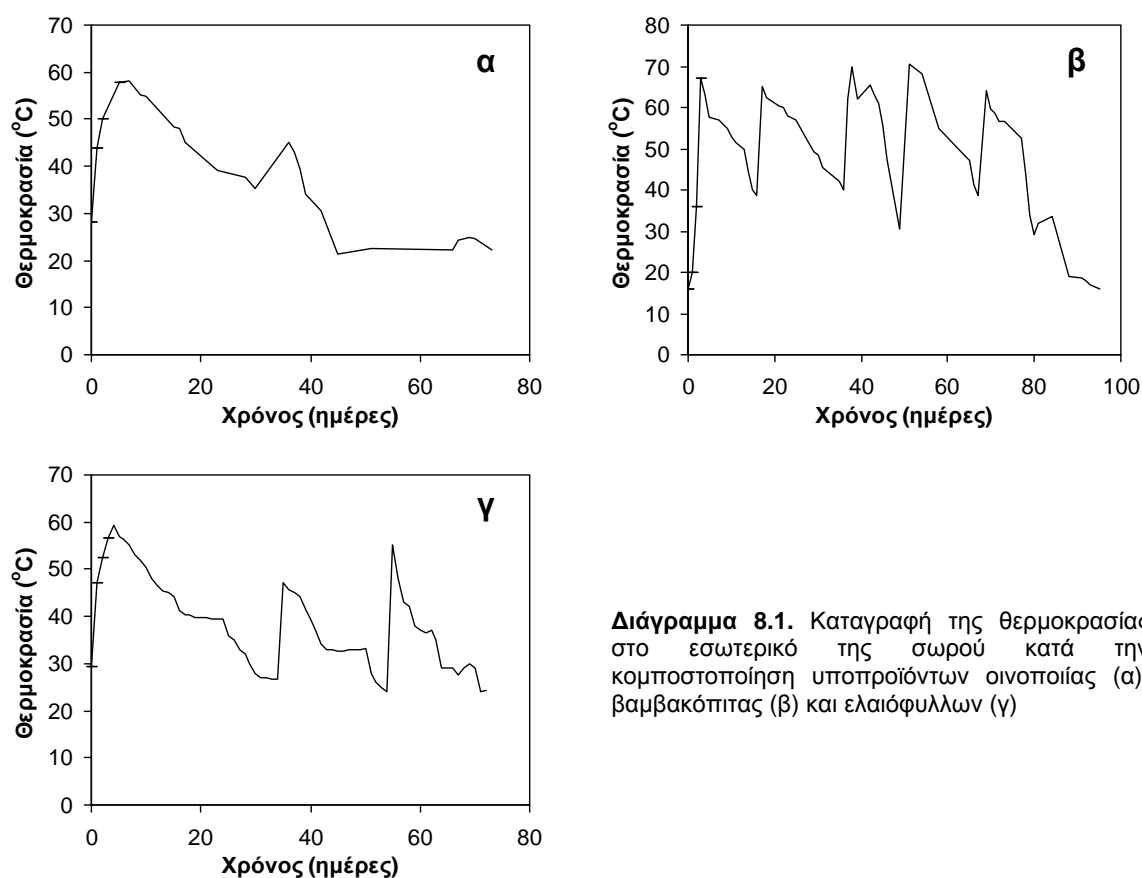


Εικόνα 8.1. Κάδος κομποστοποίησης (α) και ώριμες κομπόστες από βαμβακόπιτα (β), από θαλάσσια φύκια *Posidonia oceanica* (γ), από εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης μανιταριών *Agaricus sp.* (δ), από ελαιόφυλλα (ε) και από υπολείμματα απόχρωσης βάμβακος (στ)

Κομπόστα από υπολείμματα οινοποίησης

Τα στέμφυλα είναι το κυριότερο παραπροϊόν της οινοποίησης καθώς αποτελεί το 27% της μάζας των σταφυλιών που προορίζονται για οινοποίηση. Το υλικό αυτό είναι από τα συχνότερα παραγόμενα οργανικά αγροβιομηχανικά απόβλητα στον Ελλαδικό χώρο καθώς η ποσότητα υπολειμμάτων οινοποίησης που παράγεται σε ετησία βάση είναι μεγαλύτερη από 50.000 τόνους (Ισραηλίδης, 2001). Τα παραγόμενα στέμφυλα συνήθως απορρίπτονται, ενώ σπανιότερα αξιοποιούνται για την παραγωγή οινοπνευματωδών προϊόντων και ζωοτροφών ή χρησιμοποιούνται ως οργανικό λίπασμα. Όμως, η

απευθείας ενσωμάτωση των στέμφυλων στο αγρό μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος διαφόρων καλλιεργειών και για αυτό η σταθεροποίηση τους, μέσω της κομποστοποίησης του υλικού αυτού, είναι απαραίτητη (Diaz et al., 2002). Ακόμη άλλο ένα σημαντικό παραπροϊόν της οينوποιητικής διαδικασίας είναι οι βόστρυχοι. Ποσότητα των δύο αυτών υλικών συλλέχθηκε από το συνεταιριστικό οινοποιείο “Δήμητρα”, στη Νέα Αγχίαλο Βόλου. Και τα δύο οργανικά αυτά υλικά μεταφέρθηκαν σε κάδο κομποστοποίησης (κατ’όγκον αναλογία στεμφύλων: βοστρύχων 5:1), με τους βοστρύχους να τοποθετούνται σε διαδοχικά στρώματα μεταξύ των στεμφύλων. Η χρησιμοποίηση των βοστρύχων στο σχηματισμό της κομπόστας συνέβαλε στον καλύτερο αερισμό και στην αποφυγή έντονων οσμών από την αναερόβια ζύμωση των στεμφύλων. Για τον ίδιο λόγο στο οργανικό αυτό μίγμα προστέθηκε ασβέστης διαλυμένος σε νερό (CaOH_2) και σε αναλογία 1% κατ’ όγκον περίπου.



Διάγραμμα 8.1. Καταγραφή της θερμοκρασίας στο εσωτερικό της σωρού κατά την κομποστοποίηση υποπροϊόντων οινοποιίας (α), βαμβακόπιτας (β) και ελαιόφυλλων (γ)

Η αρχική φάση κομποστοποίησης ήταν σχετικά σύντομη με την αρχική θερμόφιλη πορεία να διαρκεί 45 ημέρες. Στην φάση αυτή η μέγιστη θερμοκρασία που μετρήθηκε ήταν 59 βαθμοί και η συνολική βιοοξειδωτική διεργασία περιελάμβανε δύο διαδοχικές θερμόφιλες φάσεις. Ο αρχικός θερμόφιλος κύκλος διήρκησε 30 ημέρες ενώ ο δεύτερος είχε τη μισή περίπου διάρκεια. Ο συνολικός χρόνος παραμονής στον κάδο κομποστοποίησης ήταν περίπου 5 μήνες, στην διάρκεια του οποίου πραγματοποιήθηκαν τακτικές προσθήκες νερού, αναμόχλευση του υποστρώματος και τακτική θερμομέτρηση. Το τελικό προϊόν που παρήχθη κοσκινίστηκε (3,25 mm) και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου.

Κομπόστα εμπορίου

Η κομπόστα αυτή που διατίθεται στο εμπόριο είναι προϊόν κομποστοποίησης κοινών θαλάσσιων φυκιών του είδους *Posidonia oceanica* (εταιρεία Compost Hellas). Στις προδιαγραφές ποιότητας της κομπόστας αυτής αναφέρεται ότι είναι προϊόν αερόβιας κομποστοποίησης μίγματος υλικών που εκτός από τα φύκια περιλαμβάνει και ζωική κοπριά, παραπροϊόντα ελαιοτριβείου, στέμφυλα καθώς και ποσότητα θαλάσσιας άμμου.

8.1.3. Τύρφη

Δύο εμπορικά διαθέσιμα μίγματα τύρφης χρησιμοποιήθηκαν για το σχηματισμό του τυπικού Σουηδικού βιομίγματος της βιοκλίνης, μετά από ανάμιξη με έδαφος και άχυρο. Αμφότερα τα προϊόντα αυτά (Maxiflori, Agroflores S.A., Τύρφη 1 και Univeralsubstrat, Klasmann-Deilmann GmbH, Τύρφη 2) είναι μίγματα μαύρης και λευκής τύρφης με προσθήκη ανόργανης λίπανσης (N-P-K), CaCO₃ και αργίλου

Πίνακας 8.2. Κυριότερα χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων κομποστοποίησης και των δύο μιγμάτων τύρφης

| | pH | Οργανικός C (%) | DOC ¹ (%) | Ολικό N (%) | Λιγνίνη (%) | Ολικά φαινολικά (μg g ⁻¹) | C/N |
|---|------|-----------------|----------------------|-------------|-------------|---------------------------------------|------|
| Τύρφη 1 (P1) | 4,62 | 45,7 | 0,37 | 1,10 | 30,1 | 491,3 | 41,6 |
| Τύρφη 2 (P2) | 5,62 | 43,1 | 0,41 | 1,11 | 19,7 | nd ² | 38,8 |
| Κομπόστα υποστρώματος ανάπτυξης μανιταριών <i>Agaricus sp.</i> (C1) | 6,74 | 25,9 | 1,01 | 2,49 | 22,6 | 94,1 | 10,4 |
| Κομπόστα ελαιόφυλλων (C2) | 7,51 | 24,4 | 0,70 | 3,15 | 14,2 | 132,0 | 7,8 |
| Κομπόστα εμπορίου (C3) | 8,68 | 7,3 | 0,12 | 0,46 | 6,4 | 11,4 | 15,9 |
| Κομπόστα από υπολείμματα καλλιέργειας βάμβακος (C4) | 6,76 | 10,6 | 0,11 | 1,52 | 9,8 | 64,7 | 7,0 |
| Κομπόστα βαμβακάσπορου (C5) | 7,37 | 30,1 | 2,10 | 6,21 | 9,4 | 312,8 | 4,9 |
| Κομπόστα στέμφυλων οينوποιίας (C6) | 7,21 | 28,6 | nd | nd | nd | nd | nd |

¹ DOC: διαλυτός οργανικός άνθρακας

² nd: Χωρίς μέτρηση

8.1.4. Λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα

Στην Ελλάδα παράγονται ετησίως περίπου 5 εκατομμύρια τόνοι λιγνινοκυτταρινικής φύσεως γεωργικά παραπροϊόντα. Τα αγροβιομηχανικά αυτά υπολείμματα ή απόβλητα προέρχονται από τα εκκοκκιστήρια βάμβακος, τα πυρηνελαιουργεία, τα αποστακτήρια αλκοολούχων ποτών, τις βιομηχανίες επεξεργασίας ξύλου και τα αποφλοιωτήρια (Philippoussis and Zervakis, 2000b). Η αξιοποίηση πολλών από αυτά τα υλικά είναι δυσχερής λόγω της χημικής τους σύστασης (μεγάλη περιεκτικότητα σε λιγνίνη, κυτταρίνες, φαινολικές ενώσεις). Καθώς παρουσιάζουν πρόβλημα διάθεσης, συνήθως καίγονται ή ενσωματώνονται στο έδαφος (Φιλιππούσης και Διαμαντοπούλου, 2001). Για το σχηματισμό των βιομιγμάτων της εργασίας αυτής συλλέχθηκαν 7 λιγνινοκυτταρινούχα υλικά με τα εξής κριτήρια: α) να παράγονται σε μεγάλες ποσότητες και να είναι υπολείμματα αντιπροσωπευτικών καλλιεργειών του Ελλαδικού χώρου β) να είναι υλικά χαμηλού κόστους, γ) η διάθεσή τους να είναι δυσχερής ή να σχετίζεται με δυσμενείς περιβαλλοντικές επιπτώσεις και δ) τα υλικά να εμφανίζουν

μεγάλη παραλλακτικότητα ως προς τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (τιμή pH, αναλογία C/N, περιεκτικότητα σε λιγνίνη) (πίνακας 8.3)

Πίνακας 8.3. Τα κυριότερα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιγνινοκυτταρινούχων υλικών που χρησιμοποιήθηκαν στα βιομίγματα της μελέτης

| | Ειδικό βάρος (g·L ⁻¹) | pH | Οργανικός C (%) | Ολικό N (%) | Λιγνίνη (%) | Ολικά φαινολικά (mg·g ⁻¹) | C/N |
|---|---|------|-----------------------|----------------|----------------|---|------|
| Άχυρο (Sw) | 0,11 | 7,30 | 42,9 | 0,56 | 17,7 | 1,56 | 76,6 |
| Εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης μανιταριών (SMS) | 0,21 | 5,39 | - | - | - | - | - |
| Σπάδικες αραβόσιτου (CC) | 0,50 | 4,87 | 45,2 | 0,69 | 15,2 | 0,96 | 65,6 |
| Υπολείμματα ηλίανθου (SFR) | 0,48 | 7,95 | 37,5 | 1,00 | 9,6 | 0,65 | 37,5 |
| Βόστρυχοι σταφυλιού (GS) | 0,54 | 7,69 | 33,3 | 1,34 | 18,0 | 0,19 | 24,9 |
| Φλούδες πορτοκαλιού (OP) | 0,36 | 4,56 | 45,3 | 0,97 | 6,7 | 10,09 | 46,7 |
| Φύλλα ελιάς (OL) | 0,61 | 5,68 | 42,7 | 1,72 | 16,6 | 32,96 | 24,8 |

Εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης του μύκητα *Pleurotus ostreatus*

Το SMS είναι οργανικό παραπροϊόν της παραγωγής μανιταριών *Pleurotus sp.* Η ετήσια παραγωγή SMS παγκοσμίως είναι 40 χιλιάδες τόνοι και η διάθεση αυτού του τεράστιου όγκου υπολειμμάτων είναι δυσχερής (Lau et al., 2003). Ποσότητα εξαντλημένου υποστρώματος ανάπτυξης του μύκητα *Pleurotus ostreatus* συλλέχθηκε από τη μονάδα παραγωγής βιολογικών μανιταριών “Μετέωρα”, στον Πυργετό Τρικάλων. Συνολικά, συλλέχθηκαν 3 τυποποιημένα τεμάχια του υποστρώματος αυτού, με μέσο βάρος περίπου 5 kg, που περιέχουν κομποστοποιημένο άχυρο και υπολείμματα του μύκητα εντός διάφανης πλαστικής συσκευασίας (εικόνα 8.2).



Εικόνα 8.2. Υπόστρωμα ανάπτυξης του μύκητα *Pleurotus ostreatus* στην τυποποιημένη, αρχική μορφή (α) και μετά από τεμαχισμό (β)

Τα υποστρώματα αυτά οδηγήθηκαν στο εργαστήριο την ημέρα της συλλογής τους και τοποθετήθηκαν σε ψυγείο (4°C) έως την περαιτέρω επεξεργασία και χρήση τους. Η αποθήκευση σε χαμηλές θερμοκρασίες καθώς και η διατήρηση της αρχικής υγρασίας των υποστρωμάτων καθ’ όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης τους είχε σαν σκοπό την αποφυγή της θανάτωσης των σπορίων του μύκητα και τη διατήρηση των λιγνινολυτικών ενζύμων στο εσωτερικό του υποστρώματος ανάπτυξης. Ο τεμαχισμός

του υποστρώματος προ της χρησιμοποίησής του στο σχηματισμό των βιομιγμάτων πραγματοποιήθηκε ώστε να εξασφαλιστεί κατά το δυνατό η ομοιομορφία του προς χρησιμοποίηση υλικού. Το μέσο μέγεθος του τεμαχισμένου υλικού ήταν περίπου 0,2-1 εκατοστά.

Φλούδες εσπεριδοειδών

Οι φλούδες εσπεριδοειδών αποτελούν μαζί με την παραγόμενη πούλπα το 80% των αποβλήτων κατά την επεξεργασία των εσπεριδοειδών. Οι φλούδες μετά την παραλαβή των αιθερίων ελαίων μπορεί να αξιοποιηθεί ως ζωοτροφή μετά από ξήρανση ή ακόμη για παραγωγή πηκτίνης μετά από κατάλληλη επεξεργασία (Ισραηλίδης, 2001). Ποσότητα από φλούδες πορτοκαλιών βιολογικής προέλευσης συλλέχθηκαν και τοποθετήθηκαν σε εργαστηριακό πάγκο όπου διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για ξήρανση. Στη συνέχεια τεμαχίστηκαν με τη βοήθεια οικιακού τεμαχιστή και ακολούθως κοσκινίστηκαν σε κόσκινο 4,75 mm. Το υπόστρωμα αποθηκεύτηκε σε χώρο του εργαστηρίου σε θερμοκρασία δωματίου.

Ελαιόφυλλα

Τα ελαιόφυλλα προέρχονταν από το αρχικό στάδιο καθαρισμού των ελαιόκαρπων που προορίζονταν για παραγωγή ελαιόλαδου. Τα ελαιόφυλλα αεροξηράνθηκαν και αφού τεμαχίστηκαν σε οικιακό τεμαχιστή, κοσκινίστηκαν (διάμετρος οπών 4,75 mm) και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου έως τη φάση σχηματισμού των βιομιγμάτων

Σπάδικες αραβόσιτου

Η συλλογή των σπάδικων του αραβόσιτου πραγματοποιήθηκε κατά την ημέρα θερισμού στον αγρό. Οι σπάδικες καθαρίστηκαν από προσμίξεις και άλλα υπολείμματα της καλλιέργειας και αποθηκεύτηκαν. Για τον τεμαχισμό τους χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρικός στελεχοκόπτης-τεμαχιστής, ενώ σε επόμενη διαλογή απορρίφθηκαν τα τεμαχίδια με μέγεθος μεγαλύτερο από 4,75 mm

Υπολείμματα καλλιέργειας ηλιάνθου

Τα υπολείμματα ηλιάνθου συλλέχθηκαν μια εβδομάδα μετά τη συγκομιδή του ηλιόσπορου και περιελάμβαναν μέρος του ξυλοποιημένου μίσχου και της κεφαλής. Τα υπολείμματα αυτά μεταφέρθηκαν σε ηλεκτρικό στελεχοκόπτη-τεμαχιστή και τεμαχίστηκαν, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως για τους σπάδικες. Στη συνέχεια το σύνολο των τεμαχισμένων υπολειμμάτων κοσκινίστηκε σε κόσκινο με μέγεθος οπών 4,75 mm

Άχυρο

Το άχυρο του σιταριού αποτελεί το σημαντικότερο γεωργικό παραπροϊόν και κάθε χρόνο το πλεόνασμα στις χώρες της Ε.Ε. είναι της τάξεως των 24×10^6 τόνων. Στην Ελλάδα η μέση ετήσια παραγωγή άχυρου μονό από σίτο και κριθάρι υπολογίζεται σε περίπου 1,4 εκατομμύρια τόνους. Από την ποσότητα αυτή ένα μικρό μέρος χρησιμοποιείται στην κτηνοτροφία (40.000 τόνοι), ενώ ένα πολύ μεγάλο μέρος της συνολικής παραγωγής καίγεται στον αγρό. Μεγάλες ποσότητες επίσης απορροφώνται από τη βιομηχανία παραγωγής μανιταριών και εταιρίες κομποστοποίησης (Ισραηλίδης, 2001).

Ποσότητα άχυρου από σίτο συλλέχθηκε στον αγρό και αποθηκεύτηκε στο εργαστήριο. Η προετοιμασία του άχυρου περιλάμβανε τεμαχισμό του με ηλεκτρικό στελεχοκόπτη-τεμαχιστή σε μέγεθος 0,2-2 cm

Βόστρυχοι αμπελιού

Οι βόστρυχοι του αμπελιού εμφανίζουν σημαντική περιεκτικότητα σε ίνες (λιγνίνη και κυτταρίνη) και μεγάλο ποσοστό ανόργανων θρεπτικών συστατικών και είναι ιδιαίτερα πλούσιοι σε άζωτο και φώσφορο (Nerantzis and Tataridis, 2006). Το καθαρό βάρος των παραγόμενων βοστρύχων αντιστοιχεί στο 2,5-7,5% του βάρους των σταφυλιών που συλλέγονται στον αγρό. Το παραπροϊόν αυτό της οινοποίησης συχνά απορρίπτεται, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις διασκορπίζεται στον αγρό ως οργανική λίπανση ή ενσωματώνεται στο έδαφος ως εδαφοβελτιωτικό.

Η προμήθεια των βοστρύχων έγινε από το συνεταιριστικό οινοποιείο “Δήμητρα”, στη Νέα Αγχίαλο Βόλου. Η επεξεργασία των βοστρύχων περιλάμβανε αεροξήρανση, τεμαχισμό με τη βοήθεια στελεχοκόπτη ή οικιακού τεμαχιστή. Το μέσο μέγεθος του υλικού που προέκυψε ήταν 0,1-2 cm.

8.2. Πρότυπες ουσίες και εμπορικά σκευάσματα φ.ο.

Η προμήθεια των πρότυπων ουσιών υψηλής καθαρότητας των metribuzin (MTR, 99%), buprofezin (BUP, 99,3%), metalaxyl-M (MTX, 99,1%), azoxystrobin (AZX, 99%), iprodione (IPR, 99%), dimethoate (DIM, 99%), chlorpyrifos (CHL, 98%) πραγματοποιήθηκε από την Chem Service (West Chester, USA), ενώ η προμήθεια των ουσιών indoxacarb (IND, 99,6%) και terbuthylazine (TRB, 99,4%) από την DuPont και Syngenta, αντίστοιχα. Στα πειράματα αποδόμησης των φ.ο. chlorpyrifos, terbuthylazine και metribuzin για την παρακολούθηση των μεταβολιτών τους



Εικόνα 8.3. Εμπορικά σκευάσματα των φ.ο. που χρησιμοποιήθηκαν στον πειραματισμό

χρησιμοποιήθηκαν πρότυπες ουσίες των μεταβολιτών τους 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP, 93,5%), desethyl-terbuthylazine (DES-TRB, 96%), 2-hydroxy-terbuthylazine (HY-TRB, 96%), diketo-metribuzin (DK, 98%), desaminodiketo-metribuzin (DADK, 98%) και desamino-metribuzin (DK, 99%) η προμήθεια των οποίων πραγματοποιήθηκε από την Dr. Ehrenstorfen GmbH.

Τα εννέα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που περιλαμβάνονται στον πειραματισμό είναι: dimethoate (Dimethoate 40 EC, Αλφα Γεωργικά Εφόδια ΑΕΒΕ), indoxacarb (Steward 30 WG, Du Pont), buprofezin (Applaud 25 WP, Sygenta), terbuthylazine (Action puro 50 SC, Sipcarn SPA), metribuzin (Sencor 70 WG, Bayer CropScience), metalaxyl-M (Ridomil gold 48 SL, Sygenta), iprodione (Rovral 50 SC, BASF), azoxystrobin (Quadris 25 SC, Sygenta) (**εικόνα 8.3**).

8.3. Παρασκευή διαλυμάτων

- **Πρότυπα διαλύματα παρακαταθήκης.** Παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα παρακαταθήκης κάθε δραστικής ουσίας συγκέντρωσης 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ από τις πρότυπες δραστικές ουσίες σε διαλύτη ακετόνη. Εξαιρέση αποτέλεσε η παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων παρακαταθήκης των μεταβολιτών 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, desethyl-terbuthylazine και 2-hydroxy-terbuthylazine,

όπου η συγκέντρωση τους ήταν $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ και των μεταβολιτών diketo-metribuzin, desamino-metribuzin και diketodesamino-metribuzin, που ήταν $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Τα διαλύματα αυτά αποθηκεύτηκαν στους -18°C και ο μέγιστος χρόνος διατήρησης τους στις συνθήκες αυτές ήταν 2 χρόνια

- **Αραιά διαλύματα πρότυπων ουσιών.** Τα διαλύματα αυτά παρασκευάστηκαν από τα πυκνά πρότυπα διαλύματα παρακαταθήκης με διαδοχικές αραιώσεις σε διαλύτη ακετόνη ή σε διαλύτη μεθανόλη. Χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του χρόνου κατακράτησης κάθε ουσίας στο σύστημα αέρας ή υγρής χρωματογραφίας. Τα διαλύματα αυτά διατηρήθηκαν για διάστημα 3-4 μηνών στην κατάψυξη (-18°C)
- **Μικτά πρότυπα διαλύματα.** Τα διαλύματα αυτά περιέχουν όλες τις υπό εξέταση φυτοπροστατευτικές δραστικές ουσίες και προέκυψαν με ανάμιξη κατάλληλων όγκων από τα διαλύματα παρακαταθήκης κάθε δραστικής ουσίας και ακολούθως με διαδοχικές αραιώσεις.

Για τις δοκιμές αποδόμησης παρασκευάστηκε αρχικά διάλυμα που περιείχε τις ουσίες terbuthylazine, dimethoate, metribuzin, metalaxyl-M, buprofezin, iprodione, indoxacarb, azoxystrobin, chlorpyrifos σε συγκέντρωση 729,2 , 333,3 , 437,5 , 400 , 156,3 , 520,8 , 41,3 , 312,5 και $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, αντίστοιχα (STDx10) σε διαλύτη ακετόνη. Από το διάλυμα αυτό με διαδοχικές αραιώσεις σχηματίστηκαν τα μικτά πρότυπα διαλύματα STD, STD:2, STD:5, STD:10, STD:20, STD:50 και STD:100. Τα διαλύματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για τον εμβολιασμό δειγμάτων σε δοκιμές ανάκτησης, για τη βαθμονόμηση των ανιχνευτών και για το σχηματισμό των μικτών πρότυπων διαλυμάτων εργασίας

Για τις δοκιμές προσρόφησης παρασκευάστηκαν μίγματα πρότυπων διαλυμάτων που περιείχαν καθεμιά από τις ουσίες terbuthylazine, metribuzin, metalaxyl-M ή indoxacarb σε συγκεντρώσεις μεταξύ $0,1$ και $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Τα διαλύματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για το σχηματισμό των μικτών πρότυπων διαλυμάτων εργασίας και στην αξιολόγηση της αναλυτικής μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των φ.ο. στις δοκιμές αυτές

Τέλος για τις δοκιμές έκπλυσης σχηματίστηκε μικτό πρότυπο διάλυμα σε ακετόνη που περιείχε τις ουσίες terbuthylazine, metribuzin, metalaxyl-M, iprodione και chlorpyrifos σε συγκεντρώσεις $0,4$, $0,8$, 2 , 4 , $16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (HR). Με διαδοχικές αραιώσεις του διαλύματος αυτού προέκυψαν τα μικτά πρότυπα διαλύματα συγκέντρωσης HR:2, HR:10, HR:10, HR: 20. HR:50, HR:100 και HR:160. Τα διαλύματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν σε προκαταρκτικές δοκιμές, σε δοκιμές ανάκτησης της μεθόδου ανάλυσης των υδατικών δειγμάτων και για την παρασκευή των μικτών πρότυπων διαλυμάτων εργασίας

Όλα τα παραπάνω διαλύματα διατηρήθηκαν στους -18°C μέγιστο χρονικό διάστημα 4 μηνών

- **Μικτά πρότυπα διαλύματα εργασίας σε εκχύλισμα υποστρώματος.** Τα διαλύματα αυτά ουσιαστικά αφορούν τα μικτά πρότυπα διαλύματα που προαναφέρθηκαν με τη διαφορά όμως ότι για την παρασκευή τους χρησιμοποιήθηκαν εκχυλίσματα των υποστρωμάτων της ανάλυσης. Τα εκχυλίσματα αυτά προήρθαν από την εκχύλιση δειγμάτων μάρτυρα μετά από απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη με ελαφρύ ρεύμα αζώτου και προσθήκη ίσου όγκου διαλύματος σε διαλύτη ακετόνη προερχόμενου από τα μικτά πρότυπα διαλύματα που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Τα μικτά πρότυπα διαλύματα εργασίας χρησιμοποιήθηκαν για το σχηματισμό των καμπυλών

αναφοράς για την ποσοτικοποίηση του χρωματογραφικού σήματος στις δοκιμές αποδόμησης, προσρόφησης και έκπλυσης, στην αξιολόγηση της αναλυτικής μεθόδου και στον υπολογισμό της επίδρασης υποστρώματος (*matrix effect*) στο χρωματογραφικό σήμα. Τα διαλύματα αυτά διατηρήθηκαν έως 3 εβδομάδες στο ψυγείο (4°C)

- **Υδατικά διαλύματα εμπορικών σκευασμάτων** Για τον εμβολιασμό (φόρτιση) των δειγμάτων στα πειράματα αποδόμησης παρασκευάστηκαν υδατικά διαλύματα εμπορικών σκευασμάτων. Αρχικά παρήχθησαν πυκνά υδατικά διαλύματα για κάθε ένα από τα φ.π., τα οποία χρησιμοποιήθηκαν άμεσα. Από τα αρχικά αυτά διαλύματα σχηματίστηκαν τα διαλύματα φόρτισης τα οποία σε κάθε περίπτωση χρησιμοποιήθηκαν την ημέρα της παρασκευής τους. Τα διαλύματα φόρτισης που σχηματίστηκαν για τις δοκιμές αποδόμησης περιείχαν τις ουσίες *terbuthylazine*, *dimethoate*, *metribuzin*, *metalaxyl-M*, *buprofezin*, *iprodione*, *indoxacarb*, *azoxystrobin* και *chlorpyrifos*, ενώ το διάλυμα φόρτισης των σπηλών στις δοκιμές έκπλυσης περιείχε τις ουσίες *terbuthylazine*, *metribuzin*, *metalaxyl-M*, *iprodione* και *chlorpyrifos*. Για την φόρτιση των δειγμάτων στις δοκιμές μελέτης της πορείας των μεταβολιτών των *terbuthylazine*, *chlorpyrifos* ή *metribuzin* χρησιμοποιήθηκαν υδατικά διαλύματα φόρτισης κάθε μιας από τις φ.ο. που παρασκευάστηκαν με αραίωση των αντίστοιχων πυκνών υδατικών διαλυμάτων
- **Υδατικά διαλύματα πρότυπων δραστικών ουσιών για τα πειράματα προσρόφησης.** Από τα πρότυπα διαλύματα παρακαταθήκης παρασκευάστηκαν διαλύματα εργασίας για κάθε μια από τις υπό μελέτη ουσίες (*terbuthylazine*, *metribuzin*, *metalaxyl-M*, *indoxacarb*) σε επίπεδα συγκεντρώσεων από 2 έως 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ χρησιμοποιώντας ως διαλύτη υδατικό διάλυμα CaCl_2 0,01 M. Στο επίπεδο αυτό συγκεντρώσεων η διάλυση ακόμη και των λιγότερο υδατοδιαλυτών δραστικών συστατικών (*terbuthylazine*, *indoxacarb*) είναι δυνατή. Επίσης η ποσότητα ακετόνης που περιέχεται στα τελικά διαλύματα είναι πολύ μικρή (μικρότερη του ορίου 0,1% που ορίζεται από την οδηγία OECD 106) και δεν μπορεί να επηρεάσει τη συμπεριφορά προσρόφησης των ουσιών (OECD, 2001). Τα διαλύματα αυτά αποθηκεύτηκαν στους 4°C στο σκοτάδι. Σε κάθε περίπτωση τα διαλύματα εργασίας χρησιμοποιούνται εντός μιας εβδομάδας από την παρασκευή τους, χρόνος που εξασφαλίζει τη χημική σταθερότητα των δραστικών συστατικών

8.4. Διαλύτες

Στα διαφορά αναλυτικά στάδια της εκχύλισης των φ.ο. καθώς και στην παρασκευή των προτύπων διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες ακετόνη, μεθανόλη, εξάνιο, διχλωρομεθάνιο, οξικός αιθυλεστέρας βαθμού καθαρότητας Analytical Reagent ή Pestiscan, LabScan Limited. Επίσης οι διαλύτες μεθανόλη, νερό, ακετονιτρίλιο που χρησιμοποιήθηκαν στην υγρή χρωματογραφία ήταν καθαρότητας HPLC gradient grade, Fisher Scientific. Στην χρωματογραφική ανάλυση του *terbuthylazine* και των μεταβολιτών του χρησιμοποιήθηκε ακετονιτρίλιο ποιότητας far UV της ίδιας εταιρίας. Στις διάφορες βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες αιθανόλη (Riedel-de Haen), χλωροφόρμιο (Riedel-de Haen), σταθεροποιημένο χλωροφόρμιο ($\geq 99,8\%$ A.C.S., Sigma-Aldrich) και οξικό οξύ (Riedel-de Haen)

8.5. Αντιδραστήρια

2,2 – azinobis – 3 – ethylbenzothiazolin – 6 – sulfolic acid (ABTS), $\geq 98\%$, TLC, Sigma

3 – dimethylaminobenzoic acid (DMAB) >95%, Sigma; 3 – methyl – 2 – benzothiazolinon – hydrazon – hydrochloride (MBTH) 97%, Aldrich
Acetyl bromide 99% Aldrich
Antifoam tablets (0,97g Na₂SO₄ + 0,03g silicone antifoam), Thomson and Capper Ltd
Ergosterol ≥ 95% (HPLC), Fluka
Fe₂SO₄ · 7H₂O ≥ 99,5%, Riedel-De Haen
Fluorescein diacetate (FDA), 98%, Aldrich
Fluorescein sodium salt, Sigma-Aldrich
Folin-Chiocalteu reagent, BioChemica, 2 M, Sigma
Gallic acid, 97,5-102,5%, Sigma
H₂SO₄ άνωδρο, analytical grade, Mallinckrodt
H₂SO₄ καθαρότητας 96%, Panreac Quimica Sau
H₃BO₃ ≥ 98,8%, Merck
H₃PO₄ 85%, Riedel-de Haen
HCl fuming 37%, Merck
Hydroxylamine HCl Reagentplus, 99%, Sigma-Aldrich
K₂Cr₂O₇ crystals, analytical reagent, Mallinckrodt
K₂HPO₄, Merck; KH₂PO₄, Merck
KCl 99,5-100,5%, Panreac Quimica Sau, Espana
KJELTABS tablets (1,5 g K₂SO₄ + 7,5 mg Se), Thomson and Capper Ltd
KOH ≥ 85%, pro analysi, Merck
L- Leucin > 99%, Merck
Lactic acid (γαλακτικό οξύ) 93-107%, Sigma
MnSO₄, Merck
Na₂CO₃ anhydrous, analytical reagent, Mallinckrodt
NaOH ≥ 98,4%, J.T. Baker
Nynhydrin reagent solution 2%, Sigma
Sodium acetate anhydrous, Sigma-Aldrich
Sodium lactate ≥99.0%, Aldrich
Succinic acid (ηλεκτρικό οξύ), ≥99.0%, Sigma-Aldrich
Tartaric acid (τρυγικό οξύ) 99%, Aldrich
Veratryl alcohol, 96%, Aldrich
α-D-Glucose anhydrous, 96%, Aldrich
Διφαινυλαμίνη, crystalline, Sigma
Φαινολοφθαλείνη ACS reagent, Sigma-Aldrich

8.6. Υλικά

- Διηθητικό χαρτί Whatman No 1
- Ταινία Parafilm
- Μικροπιπέτες Pasteur μιας χρήσης
- Φιαλίδια χρωματογραφίας
- Μικροφίλτρα 0,45 μm, nylon membrane, Titan2

- Αποστειρωμένα ακρορύγχια μικροπιπेटών
- Χαλαζιακές κυψελίδες φασματοφωτομέτρου με πάχος 1 cm
- Μικροστήλες εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE) πληρωμένα με 500 mg C18 (EC), Isolute, IST
- Σφαιρικές φιάλες των 50 mL
- Μικροστήλες εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE) πληρωμένα με 500 mg Carbon, Superclean, EnviCarb tubes, Supelco
- Γυάλινες σύριγγες των 3, 5 και 10 mL
- Μικροσύριγγες υψηλής ακρίβειας των 10-500 μ L
- Σιφώνια πληρώσεως των 1-25 mL
- Ογκομετρικές φιάλες των 1-1000 mL
- Υάλινοι σωλήνες φυγοκέντρωσης
- Ποτήρια ζέσεως 10-500 mL
- Υάλινα βιδωτά φιαλίδια των 4, 12 και 40 mL

8.7. Υάλινα σκεύη-Συσκευές

- Υάλινος ξηραντήρας κενού συνδεδεμένος με αντλία κενού
- Συσκευή Vortex Minishaker MS2, IKA
- Ζυγός ακρίβειας $\pm 0,0001$ g της εταιρίας Santorius
- Ζυγός ακρίβειας $\pm 0,01$ g της εταιρίας Santorius
- Συσκευή παραγωγής υπερήχων Trasonic T460/H, Elma
- Ηλεκτρονικό θερμόμετρο επαφής
- Περιστρεφόμενος εξατμιστήρας κενού Rotarvapor R-3000, Buchi συνδεδεμένος με αντλία κενού και σύστημα ψύξης
- Συσκευή φυγοκέντρωσης Sigma 2-15 Labocentrifugen GmbH, με μέγιστη ταχύτητα περιστροφής 4500 rpm
- Υδατόλουτρο
- Οριζόντιος αναδευτήρας τύπου KS 10, Edmund Buhler
- Επιτραπέζιο χρονόμετρο
- Πεχαμετρο ακριβείας Metrohm 744 με συνδυασμένο ηλεκτρόδιο metrohm 6.0228.00
- Αυτόματες μικροπιπέτες διαφόρων διαμετρημάτων (10 μ L – 1,2 mL)
- Ψυγεία με θερμοκρασία λειτουργίας 4-8°C
- Γυάλινη συσκευή τοποθέτησης μικροστηλών SPE συνδεδεμένη με αντλία κενού
- Ηλεκτρικός στελεχοκόπτης
- Καταψύκτες με μέγιστη θερμοκρασίας λειτουργίας -18°C
- Οικιακή συσκευή τεμαχισμού και ομογενοποίησης, Izzy
- Μαγνητικός αναδευτήρας με δυνατότητα θέρμανσης Thermolyne Stir plate, Nuova

8.8. Όργανα χρωματογραφίας και φασματοφωτομετρίας

Για τη χρωματογραφική ανάλυση και την ποσοτικοποίηση των υπολειμμάτων των φ.ο. στα πειράματα αποδόμησης, προσρόφησης-εκρόφησης και έκπλυσης χρησιμοποιήθηκαν τα εξής όργανα:

- Σύστημα αέριας χρωματογραφίας HP 6890 Series II της εταιρίας Hewlett Packard εφοδιασμένο με

- Αυτόματο δειγματολήπτη 8 θέσεων autosampler 6890 Series
 - Σύστημα έκχυσης δείγματος με υποβοηθούμενη πίεση (pulsed splitless). Η ποσότητα δείγματος που οδηγείται στον εγχυτή είναι 1 μ L
 - Χρωματογραφική στήλη SGE BPX-35 διαστάσεων 30m x 0,32 mm x 0,25 μ m με υλικό πλήρωσης phenyl polysilphenylene-siloxane 35% συνδεδεμένη με προστήλη 2-3 m χωρίς εσωτερική επικάλυψη στατικής φάσης
 - Σύστημα ανίχνευσης αζώτου φωσφόρου (NPD) και σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD)
 - Σύνδεση με H/Y και δυνατότητα επεξεργασίας του χρωματογραφικού σήματος με το πρόγραμμα ChemStation LC 3D Rev. A.06.01
- Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) HP 1100 Series της εταιρίας Hewlett Packard εφοδιασμένο με:
- Αυτόματο απαερωτή της κινητής φάσης και προγραμματιστή για την ανάμιξη μέχρι τεσσάρων διαλυτών με σταθερή ή κλιμακωτή έκλουση
 - Φούρνο με ρυθμιζόμενη θερμοκρασία για τη χρωματογραφική στήλη
 - Σύστημα έκχυσης τύπου Rheodyne με βρόγχο χωρητικότητας 20 μ L
 - Φασματοφωτομετρικό ανιχνευτή υπεριώδους-ορατού φάσματος με αυτοματοποιημένο σύστημα ελέγχου και δυνατότητα καταγραφής φάσματος
 - Σύνδεση με H/Y και δυνατότητα επεξεργασίας των χρωματογραφικών δεδομένων με τη βοήθεια του προγράμματος ChemStation Rev B.03.02

Για τη φασματοφωτομετρική ανάλυση των δειγμάτων των βιοδοκιμών χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο UV-VIS Shimadzu UV-1800 απλής δέσμης με δυνατότητα μέτρησης σε περιοχή μήκους κύματος 190-1100 nm

Σχεδιασμός δοκιμών αποδόμησης, προσρόφησης και έκπλυσης και μέθοδοι ανάλυσης υπολειμμάτων

9.1. Παρασκευή βιομιγμάτων

Η ανάμιξη του εδάφους και των οργανικών υλικών (**εικόνα 9.1**) πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια ογκομετρικού σωλήνα χωρητικότητας 500 mL ακολουθώντας τις ογκομετρικές αναλογίες που αναφέρονται στον **πίνακα 9.1**. Ακολούθησε μηχανική ανάδευση με το χέρι και προσαρμογή του καθαρού βάρους κάθε βιομίγματος στα 1000 g. Ακολούθως προστέθηκε γνωστή ποσότητα νερού (100 g) και τα βιομίγματα αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) για τουλάχιστο 7 ημέρες μέχρι το στάδιο εφαρμογής του μίγματος των φ.π. Εξάιρεση στην προετοιμασία των βιομιγμάτων όπως περιγράφηκε παραπάνω υπήρξε για τα βιομίγματα που περιείχαν SMS του μύκητα *Pleurotus ostreatus* το οποίο μετά το σχηματισμό του διατηρήθηκε σε θερμοκρασία 4°C . Τα χαρακτηριστικά των βιομιγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματισμό αναφέρονται στον **πίνακα 9.1**. Για τη μελέτη τη συμπεριφοράς αποδόμησης των βιομιγμάτων που περιείχαν κομπόστες χρησιμοποιήθηκαν τα βιομίγματα BX1 έως BX5 και τα δύο βιομίγματα τύρφης (OBX1, OBX2). Για τις δοκιμές υποκατάστασης του άχυρου στα βιομίγματα σχηματίστηκαν τα υποστρώματα CCBX, OLBX, GSBX, OPBX, STRBX και SFRBX.



Εικόνα 9.1. Ανάμιξη υλικών και σχηματισμός βιομιγμάτων τύρφης (α), κομπόστας εμπορίου (β) και κομπόστας ελαιόφυλλων (γ)

Πίνακας 9.1. Ογκομετρική αναλογία υλικών και φυσικοχημικές ιδιότητες των βιομιγμάτων που παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν στα πειράματα αποδόμησης, προσρόφησης ή έκπλυσης. Το υλικό 1 αντιπροσωπεύει χουμοποιημένη μορφή οργανικού άνθρακα ή SMS, το υλικό 2 είναι λιγνινοκυτταρινικής φύσης υλικό και το υλικό 3 είναι το έδαφος

| | Ογκομετρική αναλογία | | | pH | OC% ¹ | N% ² | WHC ³ |
|------------------------|----------------------|-----------|----------|------|------------------|-----------------|------------------|
| | Υλικό 1 | Υλικό 2 | Υλικό 3 | | | | |
| BX1⁴ | C1 (25%) | Sw (50%) | S1 (25%) | 6,69 | 10,55 | 0,81 | 132,1 |
| BX2 | C2 (25%) | Sw (50%) | S1 (25%) | 7,36 | 10,76 | 0,98 | 149,4 |
| BX3 | C3 (25%) | Sw (50%) | S1 (25%) | 7,88 | 6,52 | 0,28 | 123,6 |
| BX4 | C4 (25%) | Sw (50%) | S1 (25%) | 6,74 | 8,68 | 0,60 | 141,1 |
| BX5 | C5 (25%) | Sw (50%) | S1 (25%) | 7,29 | 11,52 | 1,61 | 144,5 |
| OBX1 | P1 (25%) | Sw (50%) | S1 (25%) | 5,03 | 11,90 | 0,38 | 167,8 |
| OBX2 | P2 (25%) | Sw (50%) | S1 (25%) | 5,94 | nd | nd | 174,3 |
| C+S | C1 (33%) | Sw (0%) | S1 (67%) | 6,70 | nd | nd | 103,9 |
| S+Sw | C (0%) | Sw (50%) | S1 (50%) | nd | nd | nd | nd |
| 0% | SMS (0%) | Sw (50%) | S1 (50%) | 5,90 | nd | nd | 127,4 |
| 5% | SMS (5%) | Sw (45%) | S1 (50%) | nd | nd | nd | nd |
| 15% | SMS (15%) | Sw(35%) | S1 (50%) | nd | nd | nd | nd |
| 50% | SMS (50%) | Sw (0%) | S1 (50%) | nd | nd | nd | 113,5 |
| CCBX | C2 (25%) | CC (50%) | S2 (25%) | 7,04 | 12,61 | nd | 156,9 |
| OLBX | C2 (25%) | OL (50%) | S2 (25%) | 7,32 | 13,82 | nd | 119,5 |
| GSBX | C2 (25%) | GS (50%) | S2 (25%) | 7,69 | 11,56 | nd | 142,7 |
| OPBX | C2 (25%) | OP (50%) | S2 (25%) | 6,44 | 17,24 | nd | 169,4 |
| STRBX | C2 (25%) | Sw (50%) | S2 (25%) | 7,50 | 10,76 | nd | 153,3 |
| SFRBX | C2 (25%) | SFR (50%) | S2 (25%) | 7,64 | 11,15 | nd | 170,6 |
| LBX | C6 (25%) | Sw (50%) | S3 (25%) | nd | nd | nd | 140,6 |
| LOBX | P2 (25%) | Sw (50%) | S3 (25%) | nd | nd | nd | 185,8 |
| LGS | C6 (25%) | GS (50%) | S3 (25%) | nd | nd | nd | 135,8 |

¹ Οργανικός άνθρακας

² Ολικό άζωτο

³ Υδατοχωρητικότητα ως ποσοστό του ξηρού βάρους του υποστρώματος

⁴ Το βιομίγμα αυτό αναφέρεται και ως S+C+Sw στη δοκιμή για τη συνεισφορά μεμονωμένων συστατικών (κεφάλαιο 14)

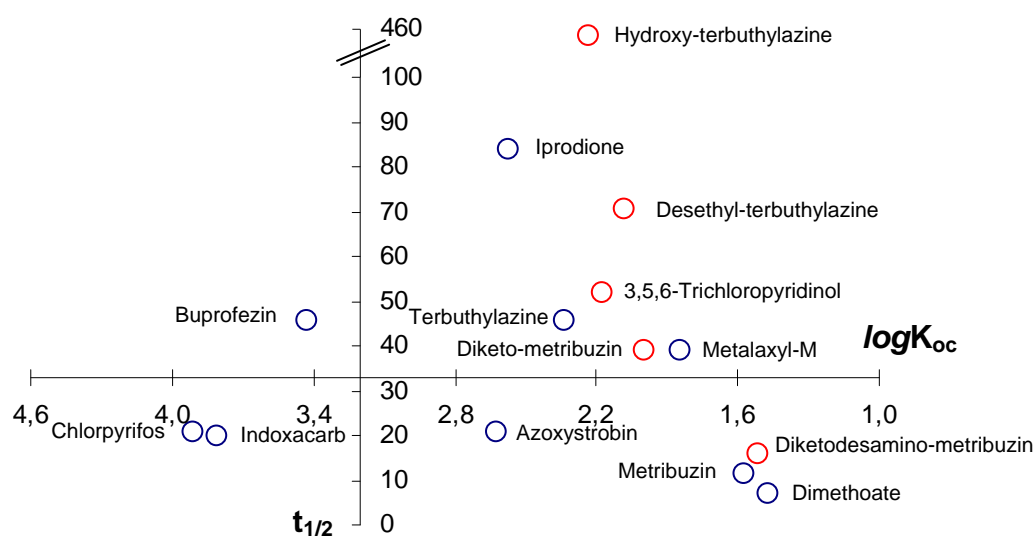
Τα παραπάνω βιομίγματα εξετάστηκαν και ως προς την ικανότητα προσρόφησης επιλεγμένων φ.ο. Για την εκτίμηση της συνεισφοράς των συστατικών του βιομίγματος στην αποδόμηση των φ.ο. χρησιμοποιήθηκαν τα υποστρώματα C+S, S+Sw και S+C+Sw (BX1) και για την επίδραση της προσθήκης SMS τα υποστρώματα 0%, 5%, 15% και 50%. Για τις δοκιμές επίδρασης της θερμοκρασίας και της επαναλαμβανόμενης εφαρμογής χρησιμοποιήθηκαν τα βιομίγματα OBX2 και STRBX. Επίσης για την παρακολούθηση της μεταβολικής πορείας αποδόμησης του terbutylazine και του σχηματισμού των κυριότερων μεταβολιτών του χρησιμοποιήθηκαν τα υποστρώματα OBX2, BX2 και BX5, ενώ για την παρακολούθηση της μεταβολικής πορείας του metribuzin και του chlorpyrifos επιλέχθηκαν τα υποστρώματα STRBX, OBX2 και GSBX. Τέλος για τις δοκιμές έκπλυσης χρησιμοποιήθηκαν τα βιομίγματα LBX, LOBX, LGS.

9.2. Δοκιμές αποδόμησης

9.2.1. Επιλογή δραστικών ουσιών για πειράματα αποδόμησης και ορισμός δόσεων

Οι φ.ο. που επιλέχθηκαν ώστε να αξιολογηθεί η αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων που περιέχουν διαφορετικής προέλευσης λιγνινοκυτταρινούχα υλικά ήταν τα μυκητοκτόνα iprodione, metalaxyl-M, azoxystrobin, τα εντομοκτόνα buprofezin, indoxacarb, dimethoate, chlorpyrifos και τα ζιζανιοκτόνα metribuzin και terbuthylazine. Στις δοκιμές που αφορούσαν στην επίδραση διαφορετικής προέλευσης κομπόστας ή την προσθήκη SMS στην αξιολόγηση της αποδομητικής ικανότητας των βιομιγμάτων συμπεριελήφθηκαν όλες οι παραπάνω ουσίες εκτός του εντομοκτόνου chlorpyrifos. Επίσης προκειμένου να μελετηθεί η πορεία σχηματισμού και αποδόμησης των κυριότερων μεταβολιτών σε επιλεγμένα υποστρώματα επιλέχθηκαν οι ουσίες terbuthylazine, chlorpyrifos και metribuzin.

Η επιλογή των παραπάνω φ.ο. στηρίχθηκε α) στο μεγάλο εύρος των φυσικοχημικών τους χαρακτηριστικών, καθώς περιλαμβάνονται ουσίες σχετικά λιπόφιλες (π.χ. indoxacarb) έως αρκετά ευδιάλυτες (π.χ. metalaxyl-M), ουσίες εύκολα βιοαποδομήσιμες (π.χ. dimethoate) ή ουσίες με σχετικά μεγάλη υπολειμματικότητα σε εδαφικά και υδάτινα συστήματα (π.χ. terbuthylazine), ουσίες που προσροφώνται ισχυρά στα εδαφικά κolloειδή (π.χ. chlorpyrifos) και ουσίες που παρουσιάζουν μεγάλη κινητικότητα στο έδαφος (π.χ. metribuzin) (**διάγραμμα 9.1**), β) στην ευρεία χρήση των ουσιών αυτών σε μεγάλο εύρος καλλιεργειών, γ) στο ότι είναι αντιπροσωπευτικά μόρια των σημαντικότερων κατηγοριών φ.π. που βρίσκονται σε κυκλοφορία στην Ελληνική αγορά και δ) στη δυνατότητα ταυτόχρονου προσδιορισμού των υπολειμμάτων όλων των προαναφερθέντων ουσιών στο έδαφος και στα οργανικά υποστρώματα (βιομίγματα) χρησιμοποιώντας κοινές αναλυτικές τεχνικές. Τα σημαντικότερα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των ουσιών που προαναφέρθηκαν παρουσιάζονται στον **πίνακα 9.8. (σελίδες 121-122)**, ενώ το σύνολο των φυσικοχημικών και τοξικολογικών χαρακτηριστικών κάθε ουσίας καθώς και πληροφορίες σχετικά με την τύχη και συμπεριφορά τους στο περιβάλλον αναφέρονται στο **παράρτημα 1**.



Διάγραμμα 9.1. Κατάταξη 9 φ.ο. (●) και ορισμένων μεταβολιτών τους (●) σε σύστημα αξόνων χρόνου $t_{1/2}$ και συντελεστή προσρόφησης ($\log K_{oc}$). Ουσίες με μικρή τιμή $\log K_{oc}$ και μεγάλη τιμή $t_{1/2}$ εμφανίζουν μεγαλύτερο κίνδυνο έκπλυσης

Η επιλογή της δόσης εφαρμογής στα πειράματα αποδόμησης στηρίχθηκε στο υποθετικό σενάριο όπου απαιτείται η διαχείριση των υπολειμμάτων ψεκαστικού υγρού που προέρχεται από 9 ψεκαστικά συστήματα καθένα από τα οποία περιέχει υπολείμματα terbuthylazine, dimethoate, metribuzin, metalaxyl-M, buprofezin, iprodione, indoxacarb, azoxystrobin και chlorpyrifos. Η ποσότητα που παραμένει στη δεξαμενή μετά την εφαρμογή στον αγρό αντιστοιχεί στο 1% (μικρή δόση ή STD:10), 10% (ενδιάμεση δόση, STD), 40% (μεγάλη δόση, STDx4) ή 100% (πολύ μεγάλη δόση, STDx10) του συνολικού όγκου του ψεκαστικού υγρού. Το ψεκαστικό υγρό που παρέμεινε στη δεξαμενή αποχύνεται στην επιφάνεια του συστήματος και το σύνολο των υπολειμμάτων καταλήγουν στο κύριο σώμα της βιοκλίνης (βιομίγμα).

Για την εκτίμηση της συγκέντρωσης κάθε φ.ο. ανά γραμμάριο βιομίγματος γίνονται οι παρακάτω υποθέσεις: α) κάθε ψεκαστικό μηχάνημα φέρει δεξαμενή χωρητικότητας 500 L, β) η συγκέντρωση της φ.ο. στο ψεκαστικό σύστημα αντιστοιχεί στη συνιστώμενη δόση εφαρμογής (ή στη μέση τιμή σε περίπτωση ευρούς συνιστώμενων δόσεων), γ) η φαινόμενη πυκνότητα του βιομίγματος είναι $600 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ και δ) οι ουσίες απαντώνται στα πρώτα 10 cm του βιομίγματος και κατανέμονται ομοιόμορφα στα 10 m^2 της επιφάνειας του βιομίγματος. Λαμβάνοντας υπόψη τις παραπάνω παραμέτρους η δόση εφαρμογής κάθε ουσίας στα πειραματικά μας βιομίγματα λαμβάνει τις τιμές που παρουσιάζονται στον **πίνακα 9.2**.

Πίνακας 9.2. Δόσεις εφαρμογής των φ.ο. στα διάφορα υποστρώματα (βιομίγματα, έδαφος) που χρησιμοποιήθηκαν στις δοκιμές αποδόμησης, προσρόφησης-εκρόφησης και έκπλυσης

| | Δοκιμές αποδόμησης (μg δ.ο. ανά g υποστρώματος) | | | | Δοκιμή προσρόφησης-εκρόφησης ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | Δοκιμή έκπλυσης ($\text{mg}\cdot\text{στήλη}^{-1}$) |
|-----------------------------|---|----------------------|---------------------|---------------------------|---|---|
| | Μικρή Δόση (STD:10) | Ενδιάμεση Δόση (STD) | Μεγάλη Δόση (STDx4) | Πολύ μεγάλη Δόση (STDx10) | | |
| Dimethoate (DIM) | 3,3 | 33,3 | 133,3 | 333,3 | – | – |
| Indoxacarb (IND) | 0,4 | 4,1 | 16,5 | 41,3 | 2 έως 10 | – |
| Buprofezin (BUP) | 1,6 | 15,6 | 62,5 | 156,3 | – | – |
| Terbuthylazine (TRB) | 7,3 | 72,9 | 291,7 | 729,2 | 2 έως 10 | 107,3 |
| Metribuzin (MTR) | 4,4 | 43,8 | 175,0 | 437,5 | 2 έως 10 | 64,4 |
| Metalaxyl-M (MTX) | 4,0 | 40,0 | 160,0 | 400,0 | 2 έως 10 | 58,9 |
| Iprodione (IPR) | 5,2 | 52,1 | 208,3 | 520,8 | – | 76,7 |
| Azoxystrobin (AZX) | 3,1 | 31,3 | 125,0 | 312,5 | – | – |
| Chlorpyrifos (CHL) | 5,0 | 50,0 | 200,0 | 500,0 | – | 73,6 |

[†] Οι ουσίες δεν συμπεριελήφθηκαν στις δοκιμές

9.2.2. Φόρτιση υποστρωμάτων και συνθήκες επώασης

Ποσότητα 800 g από κάθε υπόστρωμα (βιομίγμα ή έδαφος) μεταφέρθηκε σε πλαστική λεκάνη και εμβολιάστηκε με τη βοήθεια σιφωνίου πληρώσεως. Η συγκέντρωση του υδατικού διαλύματος εμβολιασμού ήταν τέτοια ώστε σε κάθε περίπτωση να χρησιμοποιούνται 0,2 mL του διαλύματος φόρτισης για κάθε g υποστρώματος. Ακολούθησε αναμόχλευση του φορτισμένου υποστρώματος για ομαλή κατανομή των ουσιών σε όλη τη μάζα. Στη συνέχεια η υγρασία του υποστρώματος προσαρμόστηκε στο 45% της υδατοχωρητικότητας με την προσθήκη απιονισμένου νερού,

συνυπολογίζοντας την αρχική υγρασία των υποστρωμάτων καθώς και τη ποσότητα νερού που εισέρχεται με την εφαρμογή των φ.ο.

Για το πείραμα αποδόμησης, ποσότητα 10 g από το κάθε εμβολιασμένο υπόστρωμα μεταφέρθηκε σε κάθε μία από τις 30 πλαστικές σακούλες (10 χρόνοι δειγματοληψίας x 3 επαναλήψεις). Επίσης ποσότητα 20 g του υποστρώματος οδηγήθηκε σε κάθε μια από τις 15 πλαστικές σακούλες που προορίζονταν για τις μετρήσεις της μικροβιακής δραστηριότητας. Στο άνω τμήμα κάθε σακούλας έγινε μια μικρή οπή ώστε να επιτρέπει τον αερισμό. Τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε θάλαμο επώασης σε σταθερή θερμοκρασία 25°C και υγρασία ατμόσφαιρας περίπου 75%. Σε τακτά χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκεια της επώασης, που αντιστοιχούν σε χρόνους 0, 3, 7, 14, 21, 28, 42, 56 και 70 ημέρες από την εφαρμογή των ουσιών 3 σακουλάκια απομακρύνονταν από τον θάλαμο και οδηγούνταν στην κατάψυξη (-18°C). Για τις δοκιμές αποδόμησης στην υψηλή και στην πολύ υψηλή δόση εφαρμογής (STDx3, STDx10) προστέθηκαν και οι χρόνοι δειγματοληψίας 91 και 120 ημερών από την εφαρμογή. Επίσης, η υγρασία των υποστρωμάτων διατηρήθηκε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου επώασης με τακτικές εφαρμογές ανάλογης ποσότητας απιονισμένου νερού.

Για τα πειράματα της μελέτης της **επίδρασης της θερμοκρασίας** και της **επαναλαμβανόμενης εφαρμογής** σχηματίστηκαν τρεις αρχικές ποσότητες (*bulks*) για κάθε υπόστρωμα, βάρους 800 g η καθεμία, οι οποίες εμβολιάστηκαν, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως (0,2 mL του διαλύματος φόρτισης για κάθε g υποστρώματος), στο επίπεδο «ενδιάμεση δόση (STD)» (Πίνακας 9.2.). Από τις δύο πρώτες ποσότητες προέκυψαν τα δείγματα για τη δοκιμή «επίδρασης της θερμοκρασίας» και οδηγήθηκαν σε θαλάμους επώασης σε θερμοκρασίες 15 και 25°C, αντίστοιχα. Οι χρόνοι δειγματοληψίας για τη δοκιμή αυτή ήταν 0, 3, 7, 14, 28, 42, 56, 70, 91 και 120 ημέρες από την εφαρμογή. Η τρίτη ποσότητα μετά τη φόρτιση μεταφέρθηκε σε γυάλινο δοχείο, που επέτρεπε τον αερισμό, και οδηγήθηκε σε θάλαμο επώασης στους 25°C, όπου και παρέμεινε για 90 ημέρες. Με το πέρας της περιόδου αυτής πραγματοποιήθηκε και δεύτερη φόρτιση με πρόσφατο υδατικό διάλυμα φ.ο., ώστε να αντιστοιχεί στην ενδιάμεση δόση εφαρμογής (STD). Από το κάθε υπόστρωμα προέκυψαν δείγματα (10 g) που μεταφέρθηκε σε σακουλάκια, που επέτρεπαν τον αερισμό, και οδηγήθηκαν σε θάλαμο επώασης (25°C). Οι χρόνοι δειγματοληψίας για τη δοκιμή αυτή ήταν 0, 3, 7, 14, 28, 42, 56, 70, 91 και 120 ημέρες από την εφαρμογή.

9.2.3. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού των φ.ο. στα διάφορα βιομίγματα

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Ακετόνη, μεθανόλη, νερό, ακετονιτρίλιο,
- Διχλωρομεθάνιο
- Φιάλες των 40 mL με βιδωτό πώμα
- Σιφώνια πληρώσεως διαφόρων μεγεθών
- Περιτροφικός εξατμιστήρας
- Συσκευή φυγοκέντρωσης
- Φιαλίδια χρωματογραφίας
- Σύστημα αέριας χρωματογραφίας
- Τάρακτρο (ανακινήτης) με οριζόντια κίνηση
- Στήλες EnviCarb, Isolute 101 και Isolute C18
- Διαχωριστική χοάνη

Προκαταρκτικές δοκιμές

Στη δοκιμή για την επιλογή του καταλληλότερου εκχυλιστικού μέσου για την εκχύλιση των φ.ο. εξετάστηκαν οι διαλύτες ακετόνη, μεθανόλη, ακετονιτρίλιο καθώς και τα μίγματα διαλυτών ακετόνη+ακετονιτρίλιο (1:1), μεθανόλη+νερό (1:1) και μεθανόλη+νερό (7:3). Ως κριτήριο για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας τους στην εκχύλιση χρησιμοποιήθηκε το ποσοστό ανάκτησης κάθε ουσίας από το υπόστρωμα αναφοράς (που περιέχει έδαφος, άχυρο και κομπόστα από SMS, BX1) εμβολιασμένο με μίγμα των υπό εξέταση ουσιών σε συγκέντρωση $2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ για την κάθε ουσία. Στις περιπτώσεις των εκχυλιστικών διαλυμάτων που δεν περιέχουν νερό η αναλυτική μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε αναφέρεται παρακάτω (1^η μέθοδος). Στις περιπτώσεις των υδατομεθανολικών διαλυμάτων εκχύλισης εφαρμόστηκε μια παραλλαγή της 1^{ης} μεθόδου. Συγκεκριμένα 10 ml του υδατομεθανολικού διαλύτη χρησιμοποιήθηκαν για την εκχύλιση 2 g υποστρώματος υπό συνεχή ανακίνηση για 2 ώρες. Μετά από φυγοκέντρηση τα 5 mL του υπερκείμενου μεταφέρθηκε σε διαχωριστικές χοάνες των 100 mL μαζί με 50 mL νερού και εκχυλίστηκαν με 2x10 mL διχλωρομεθανίου και το σύνολο του εκχυλίσματος συμπυκνώθηκε μέχρις ξηρού σε περιστρεφόμενο εξάμιστήριο. Οι ουσίες τελικώς παραλήφθηκαν με 2 mL ακετόνης.

Στο πλαίσιο των δοκιμών για την επιλογή της μεθόδου ανάλυσης των δειγμάτων εξετάστηκε η δυνατότητα χρησιμοποίησης μικροστηλών εκχύλισης στερεάς φάσης πληρούμενων με octadecyl silica (C18, Isolute SPE 500mg, IST), πολυμερές πολυστυρενίου-διβίνυλοβενζολίου (Isolute 101, 500 mg) ή EnviCarb (Supelco, 500 mg). Συνοπτικά 2 g υποστρώματος εκχυλίστηκαν με 10 mL μεθανόλης. Μετά από τη φυγοκέντρηση 5 mL του υπερκείμενου αραιώνεται με 95 mL απιονισμένου νερού και το σύνολο του διαλύματος που σχηματίζεται διέρχεται από τις μικροστήλες, οι οποίες προηγουμένως ενεργοποιήθηκαν με διέλευση 5 mL μεθανόλης και 5 mL απιονισμένου νερού. Με το πέρασμα του υδατομεθανολικού διαλύματος οι στήλες αφέθηκαν να στεγνώσουν και ακολούθως οι ουσίες εκλούστηκαν με 5 mL μεθανόλης. Ακολούθησε ξήρανση του διαλύματος και επαναδιάλυση των ουσιών σε 2 mL ακετόνης.

Τελική μέθοδος

1^η μέθοδος (χωρίς καθαρισμό του εκχυλίσματος) Ποσότητα αεροξηραθέντος υποστρώματος (2 g) μεταφέρεται σε φιάλες με βιδωτό πώμα των 40 mL μαζί με 10 mL ακετόνης. Οι φιάλες τοποθετούνται διαδοχικά σε συσκευή υπερήχων για 10 min και σε οριζόντιο ανακινητή για 2 ώρες. Ακολουθεί φυκέντρηση (4500 rpm, 10 min) και παραλαβή, με σιφώνιο πληρώσεως, 5 mL από το υπερκείμενο διάλυμα. Το διάλυμα μεταφέρεται σε σφαιρικές φιάλες των 50 mL και ακολουθεί εξάτμιση μέχρι ξηρού σε περιστροφικό εξάμιστήριο σε σταθερή θερμοκρασία 30°C. Ποσότητα 2 mL ακετόνης χρησιμοποιείται για την παραλαβή των ουσιών από τα τοιχώματα της φιάλης και το τελικό αυτό διάλυμα οδηγείται σε φιαλίδιο χρωματογραφίας με τη βοήθεια μικροπιπέτας και αποθηκεύεται στο ψυγείο (4°C) έως την χρωματογραφική του ανάλυση

2^η μέθοδος (με καθαρισμό με SPE) Η παραλλαγή αυτή της αρχικής μεθόδου περιελάμβανε εκχύλιση του υποστρώματος με 10 mL ακετόνης. Ποσότητα 5 mL του υπερκείμενου διαλύματος μεταφέρεται σε φυσίγγια EnviCarb τα οποία είχαν ενεργοποιηθεί με 5 mL ακετόνης. Αμέσως μετά προστίθενται άλλα 5 mL ακετόνης ώστε να παραληφθούν τυχόν υπολείμματα ουσιών που παρέμειναν στη μικροστήλη. Το σύνολο των 10 mL ακετονικού διαλύματος συλλέγεται σε κωνική φιάλη και οδηγείται στον

περιστρεφόμενο εξατμιστήρα. Για την τελική παραλαβή των υπολειμμάτων χρησιμοποιούνται 2 mL ακετόνης

Χρωματογραφική ανάλυση

Για τη χρωματογραφική ανάλυση των φ.ο. χρησιμοποιήθηκε σύστημα αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου (NPD) και ανιχνευτή συλλήψεως ηλεκτρονίων (ECD) και τριχοειδή στήλη μέσης πολικότητας (BPX-35). Το σύνολο των δειγμάτων αναλύθηκε με τη βοήθεια του εκλεκτικού ανιχνευτή αζώτου-φωσφόρου εκτός των περιπτώσεων των δειγμάτων που φορτίστηκαν με τη μικρή δόση εφαρμογής (STD:10), όπου η ανάλυση τους πραγματοποιήθηκε και στους δύο ανιχνευτές. Η θερμοκρασία του εγχυτή ήταν 250°C και λειτουργούσε με υποβοηθούμενη πίεση 60 psi (*pulsed splitless mode*) με άνοιγμα της βαλβίδας purge σε χρόνο 1,10 λεπτά. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που επιλέχθηκε για το διαχωρισμό των φ.ο. καθώς και το μεταβαλλόμενο πρόγραμμα ροής της κινητής φάσης αναφέρονται στον **πίνακα 9.3**. Στις χρωματογραφικές αυτές συνθήκες ο συνολικός χρόνος του προγράμματος ήταν 26,9 min. Η θερμοκρασία του ανιχνευτή NPD ήταν 310°C, ενώ η ροή των καυσίμων του ανιχνευτή (αέρας και υδρογόνο) και του συμπληρωματικού αερίου (He) ήταν 3, 60 και 6 mL·min⁻¹ αντίστοιχα. Ο ανιχνευτής ECD λειτούργησε σε σταθερή θερμοκρασία 300°C, ενώ η ροή αζώτου και ηλίου ρυθμίστηκε σε 60 και 6 mL·min⁻¹ αντίστοιχα.

Πίνακας 9.3. Πρόγραμμα θερμοκρασίας και ροής κατά τη διάρκεια της χρωματογραφικής ανάλυσης των δειγμάτων

| Θερμοκρασία στήλης | | | Ροή | | |
|--|------------------|------------------------|--|-----------------------------|------------------------|
| Ρυθμός μεταβολής (°C·min ⁻¹) | Θερμοκρασία (°C) | Χρόνος παραμονής (min) | Ρυθμός μεταβολής (mL·min ⁻²) | Ροή (mL·min ⁻¹) | Χρόνος παραμονής (min) |
| | 80 | 1 | | 1,5 | 12,5 |
| 14 | 200 | 0 | 0,2 | 2,5 | 15 |
| 10 | 240 | 0 | | | |
| 30 | 280 | 12 | | | |

9.2.4. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του chlorpyrifos και του μεταβολίτη 3,5,6-trichloro-2-pyridinol

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Εξάνιο
- Διχλωρομεθάνιο
- Οξικός αιθυλεστέρας
- Φιάλες των 40 mL με βιδωτό πώμα
- Διαχωριστικές χοάνες των 100 mL
- Ανακινητής
- Συσσκευή φυγοκέντρωσης
- Ζυγός ακριβείας δύο δεκαδικών
- Υγρός χρωματογράφος υψηλής απόδοσης (HPLC)
- Φιαλίδια χρωματογραφίας
- Σιφώνια πλήρωσεως διαφόρων μεγεθών
- Περιστροφικός εξατμιστήρας υπό κενό
- Διάλυμα μεθανόλης/απιονισμένου νερού/φωσφορικού οξέος 98:1:1 vol.%
- Διάλυμα ακετινιτρίλιου/νερού/οξικού οξέος 50:49:1 vol.%
- Απιονισμένο νερό

Προκαταρκτικές δοκιμές

Η ανάπτυξη της μεθόδου εκχύλισης στηρίχθηκε σε προηγούμενες μελέτες όπου για την παραλαβή των ουσιών chlorpyrifos και TCP από το έδαφος (Racke et al., 1990) ή από βιομίγματα (Corrola et al., 2007) χρησιμοποιήθηκε διάλυμα μεθανόλης οξιμισμένο με φωσφορικό οξύ. Οι αρχικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν (με αναφορά στην αναλυτική μεθοδολογία που αναπτύσσεται στις παραπάνω εργασίες) συνοπτικά περιελάμβαναν παραλαβή με το προαναφερθέν μίγμα διαλυτών, εξάτμιση μέχρι ξηρού και τελική παραλαβή με μεθανόλη. Η χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων αυτών σε σύστημα HPLC έδειξε την αδυναμία αξιόπιστης ποσοτικοποίησης των ουσιών λόγω παρεμποδίσεων από τα συστατικά του υποστρώματος. Για το λόγο αυτό θεωρήθηκε απαραίτητη η εισαγωγή ενός σταδίου καθαρισμού των εκχυλισμάτων πριν τη χρωματογραφική ανάλυση. Για τον καθαρισμό δοκιμάστηκε η χρήση στηλών C18, και η εκχύλιση υγρής-υγρής φάσης με διάφορους διαλύτες (διχλωρομεθάνιο, εξάνιο ή οξικός αιθυλεστέρας). Όσο αφορά τη SPE μέθοδο συνοπτικά περιελάμβανε ενεργοποίηση των στηλών με 3 mL απιονισμένου νερού και ίσου όγκου μεθανόλης, την εισαγωγή του δείγματος μετά από αραιώση του σε απιονισμένο νερό (1:10) ενώ για την τελική παραλαβή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε διαλύτης μεθανόλη (2 mL). Όσο αφορά τις εκχυλίσεις υγρής-υγρής φάσης η συνολική αναλυτική διαδικασία είναι ίδια με αυτή που αναπτύσσεται στη συνέχεια. Η εκτίμηση της σχετικής αποτελεσματικότητας κάθε μεθόδου καθαρισμού έγινε με δύο κριτήρια: α. την ικανοποιητική ανάκτηση και των δύο ουσιών και β. την αποτίμηση της καθαρότητας του χρωματογραφήματος.

Τελική μέθοδος

Ποσότητα του υποστρώματος (2 g) μεταφέρεται σε φιάλες των 40 mL μαζί με 10 mL διαλύματος μεθανόλης/νερού/φωσφορικού οξέος σε αναλογίες (98:1:1 vol.%). Οι φιάλες τοποθετούνται σε συσκευή υπερήχων για 10 min και ακολούθως σε οριζόντιο ανακινητή για 2 ώρες. Ακολουθεί φυκέντρηση (4500 rpm, 10 min) και παραλαβή με σιφώνιο πληρώσεως 5 mL από το υπερκείμενο διάλυμα. Το διάλυμα οδηγείται σε διαχωριστική χοάνη μαζί με 45 mL απιονισμένου νερού. Ποσότητα εξανίου (25 mL) μεταφέρεται στη χοάνη και ακολουθεί ανακίνηση για 1 λεπτό. Η υδατική στοιβάδα επανεκχυλίζεται με την ίδια ποσότητα εξανίου και το διάλυμα οδηγείται σε περιστροφικό εξατμιστήρα (35°C). Ποσότητα 2 mL μεθανόλης μεταφέρεται στη γυάλινη φιάλη για την τελική παραλαβή των υπολειμμάτων από τα τοιχώματα της φιάλης. Το τελικό διάλυμα μεταφέρεται σε φιαλίδιο χρωματογραφίας και οδηγείται στο ψυγείο (4°C) έως την χρωματογραφική του ανάλυση

Χρωματογραφική ανάλυση

Για την ποσοτικοποίηση των υπολειμμάτων του chlorpyrifos και του μεταβολίτη του TCP χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) εξοπλισμένο με στήλη Zorbax SB-C18 διαστάσεων 4,6 mm ID x 150 mm x 5 μm και με ανιχνευτή υπεριώδους με μεταβαλλόμενο μήκος κύματος. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε διάλυμα που ήταν προϊόν ανάμιξης δύο διαλυμάτων, ενός διαλύματος νερού οξιμισμένο με οξικό οξύ (99:1 v/v) (διάλυμα Α) και ακετονιτριλίου (διάλυμα Β). Η αναλογία ανάμιξης των διαλυμάτων της κινητής φάσης και οι συνθήκες λειτουργίας του χρωματογράφου εμφανίζονται στον **πίνακα 9.4**.

Πίνακας 9.4. Προγραμματισμός βαθμωτής έκλουσης και άλλοι παράμετροι λειτουργίας στο σύστημα του υγρού χρωματογράφου για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των chlorpyrifos και TCP

| Πρόγραμμα | | Θερμοκρασία στήλης | | Ροή (mL·min ⁻¹) | Μήκος κύματος (nm) |
|-----------|----|--------------------|-------|--------------------------------|--------------------|
| Χρόνος | A | B | (° C) | | |
| 0-2 | 80 | 20 | 30 | 1,5 | 300 |
| 6-11 | 20 | 80 | | | |
| 13-14 | 80 | 20 | | | |

9.2.5. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του terbutylazine και των μεταβολιτών του hydroxy terbutylazine και desethyl terbutylazine

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Φιάλες των 40 mL με βιδωτό πώμα
- Σιφώνια πληρώσεως διαφόρων μεγεθών
- Περιστροφικός εξατμιστήρας
- Ανακινητής
- Συσκευή φυγοκέντρησης
- Φιαλίδια χρωματογραφίας
- Απιονισμένο νερό
- Στήλες SPE EnviCarb (500 mg)
- Διάλυμα ακετόνης/μεθανόλης/νερού 40:30:30
- Μεθανόλη
- Ζυγός ακριβείας δύο δεκαδικών
- Σύστημα υγρού χρωματογράφου υψηλής απόδοσης (HPLC)
- Ογκομετρική φιάλη των 2 mL

Μέθοδος

Ποσότητα δείγματος 2 g ζυγίστηκε σε φιάλες των 40 mL και με τη βοήθεια σιφωνίου πληρώσεως προστέθηκαν 10 mL διαλύματος ακετόνης/μεθανόλης/νερού 40:30:30 vol.%. Ακολούθησε εκχύλιση πρώτα σε συσκευή υπερήχων (10 min) και κατόπιν σε οριζόντιο αναδευτήρα (250 rpm, 12 ώρες). Την επόμενη ημέρα οι φιάλες απομακρύνθηκαν από τον ανακινητή και οδηγήθηκαν σε συσκευή φυγοκέντρησης (10 min στις 4500 rpm). Ποσότητα 5 mL του υπερκείμενου διαλύματος μεταφέρθηκε σε στήλη EnviCarb η οποία προηγουμένως έχει ενεργοποιηθεί με διέλυση μεθανόλης (2 mL) και ακετόνης (3 mL). Η έκλουση περιελάμβανε διέλυση μεθανόλης (2 mL) και ακετόνης (3 mL). Το εκχύλισμα μεταφέρθηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα (45°C) μέχρι την απομάκρυνση των οργανικών διαλυτών. Στη συνέχεια προστέθηκε 1 mL μεθανόλης και το περιεχόμενο της φιάλης μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 2 mL με τη βοήθεια μικροπιπέτας. Εφόσον ήταν απαραίτητο ο όγκος του τελικού διαλύματος ρυθμίστηκε στα 2 mL με προσθήκη του ίδιου διαλύτη ή με εξάτμιση κάτω από ήπιο ρεύμα αζώτου. Το περιεχόμενο της ογκομετρικής φιάλης μεταφέρθηκε σε φιαλίδιο χρωματογραφίας και αποθηκεύτηκε στους 4°C μέχρι το στάδιο της χρωματογραφικής του ανάλυσης.

Χρωματογραφική ανάλυση

Για το διαχωρισμό και τον προσδιορισμό των ουσιών χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) εξοπλισμένο με ανιχνευτή UV και στήλη Thermo Betasil C18 διαστάσεων 4mm ID x 250 mm x 5 μm. Ο όγκος έγχυσης είναι 20 μL. Οι δύο κινητές φάσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν νερό υψηλής καθαρότητας/μεθανόλη 9:1 (A) και ακετονιτρίλιο (B). Το πρόγραμμα βαθμιδωτής ανάμιξης των φάσεων A και B και οι υπόλοιπες χρωματογραφικές συνθήκες παρουσιάζονται στον **πίνακα 9.5**. Η επιλογή του μήκους κύματος του ανιχνευτή έγινε μετά από καταγραφή του φάσματος των 3 ουσιών σε ένα εύρος μηκών κύματος 180-400 nm (**παράρτημα, διάγραμμα A**)

Πίνακας 9.5. Προγραμματισμός βαθμωτής έκλουσης και άλλοι παράμετροι λειτουργίας στο σύστημα υγρής χρωματογραφίας για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των *terbutylazine* και των μεταβολιτών του

| Πρόγραμμα | | Θερμοκρασία στήλης (° C) | Ροή (mL·min ⁻¹) | Μήκος κύματος ανιχνευτή (nm) |
|-----------|-------|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Χρόνος | A B | | | |
| 0-2 | 70 30 | 30 | 0,7 | 230 |
| 7-9 | 30 70 | | | |
| 9-15 | 70 30 | | | |

9.2.6. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του *metribuzin* και των μεταβολιτών *desamino metribuzin*, *diketo metribuzin* και *desaminodiketo metribuzin*

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Φιάλες των 40 mL με βιδωτό πώμα
- Σιφώνια πληρώσεως διαφόρων μεγεθών
- Περιστροφικός εξατμιστήρας
- Ανακινητής
- Συσκευή φυγοκέντρωσης
- Φιαλίδια χρωματογραφίας
- Απιονισμένο νερό
- Μικροφυσίγγια EnviCarb
- Μικροφυσίγγια C18
- Διάλυμα μεθανόλης-νερού (80:20)
- Ζυγός ακρίβειας δύο δεκαδικών
- Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC)

Προκαταρκτικές δοκιμές

Οι προκαταρκτικές δοκιμές περιελάμβαναν σύγκριση μεταξύ διαφορετικών μεθόδων καθαρισμού του υδατομεθανολικού εκχυλίσματος. Για την επιλογή της μεθόδου καθαρισμού δοκιμάστηκε η χρήση στηλών SPE C18, στηλών EnviCarb σε συνδυασμό με τις στήλες C18 και τέλος η κατανομή υγρής-υγρής φάσης. Οι δοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε εμβολιασμένο, με μίγμα των ουσιών *metribuzin*, *desamino metribuzin*, *diketo metribuzin* και *desaminodiketo metribuzin*, υπόστρωμα (βιομίγμα BX2) σε συγκέντρωση 0,5 μg·g⁻¹ για κάθε μία ουσία. Σε όλες τις περιπτώσεις το εκχυλιστικό μέσο του στερεού υποστρώματος ήταν διάλυμα μεθανόλης-νερού (80:20). Η τελική μέθοδος που περιλαμβάνει τη συνδυασμένη χρήση των στηλών C18 και EnviCarb περιγράφεται παρακάτω. Στην περίπτωση της αξιολόγησης του καθαρισμού με χρήση των στηλών C18 ακολουθήθηκε η αναλυτική πορεία που περιγράφεται παρακάτω ως τελική μέθοδος χωρίς την παρεμβολή του σταδίου καθαρισμού του υδατομεθανολικού εκχυλίσματος στις στήλες EnviCarb. Στην περίπτωση της κατανομής υγρής-υγρής φάσης τα υδατομεθανολικά διαλύματα από την αρχική εκχύλιση οδηγήθηκαν σε περιστροφικό εξατμιστήρα για απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη, αραιώθηκαν με νερό μέχρι όγκου 50 mL και εκχυλίστηκαν με 2x10 mL χλωροφορμίου. Το σύνολο της οργανικής φάσης μεταφέρθηκε σε σε περιστροφικό εξατμιστήρα για συμπύκνωση μέχρι ξηρού υπό κενό και οι ουσίες τελικά παρελήφθησαν με 0,5 mL μεθανόλης. Για την επιλογή του ιδανικού σταδίου καθαρισμού χρησιμοποιήθηκαν ως κριτήρια το ποσοστό ανάκτησης της κάθε μεθόδου και η καθαρότητα του χρωματογραφήματος.

Τελική μέθοδος

Ποσότητα δείγματος 2 g ζυγίζεται σε φιαλίδια των 40 mL και ακολούθως προστίθενται 10 mL διαλύματος μεθανόλης-νερού (80:20). Τα φιαλίδια οδηγούνται σε συσκευή υπερήχων (15 min) και κατόπιν σε ανακινητή (250 rpm, 1,5 ώρες). Στη συνέχεια τα φιαλίδια φυγοκεντρώνονται (5 min στις 4500

rpm) και το υπερκείμενο υγρό κάθε δείγματος μεταφέρεται σε φιαλίδιο των 40 mL που αποθηκεύεται προσωρινά σε ψυγείο. Ακολουθεί δεύτερη εκχύλιση του υποστρώματος με 10 mL υδατομεθανολικού διαλύματος, ανακίνηση, φυγοκέντρηση και παραλαβή του υπερκείμενου υγρού. Το συνολικό εκχύλισμα διαβιβάζεται σε στήλες EnviCarb, οι οποίες έχουν ενεργοποιηθεί με 3 mL χλωροφόρμιου και 3 mL μεθανόλης. Το έκπλυμα καθώς και το έκλουσμα από τη διαβίβαση 4 mL μεθανόλης μεταφέρονται με σφαιρική φιάλη σε περιστροφικό εξατμιστήρα υπό κενό (45°C) για την απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη. Κατόπιν, προστίθενται 10 mL νερού και το υδατικό διάλυμα ανακινείται καλά και διαβιβάζεται σε στήλες C18, που είχαν ενεργοποιηθεί με 3 mL μεθανόλης και 3 mL νερού. Οι ουσίες εκλύονται με 5 mL μεθανόλης και μετά από συμπύκνωση μέχρι ξηρού παραλαμβάνονται με 0,5 mL μεθανόλης και οδηγούνται για χρωματογραφική ανάλυση

Χρωματογραφική ανάλυση

Για το διαχωρισμό και τον προσδιορισμό των ουσιών χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) εξοπλισμένο με ανιχνευτή UV και στήλη Fortis UniverSil HS C18 διαστάσεων 3 mm ID x 150 mm. Ο όγκος έγχυσης είναι 20 μ L. Οι δύο κινητές φάσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν διάλυμα φωσφορικού οξέος (0,1%) (A) και διάλυμα ακετονιτριλίου και νερού (9:1) (B). Το πρόγραμμα βαθμιδωτής ανάμιξης των φάσεων A και B και οι υπόλοιπες χρωματογραφικές συνθήκες παρουσιάζονται στον **πίνακα 9.6**.

Πίνακας 9.6. Προγραμματισμός βαθμιδωτής έκλουσης και άλλοι παράμετροι λειτουργίας στο σύστημα υγρής χρωματογραφίας για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων του metribuzin και των μεταβολιτών του

| Χρόνος | Πρόγραμμα | | Θερμοκρασία στήλης (° C) | Ροή (mL·min ⁻¹) | Μήκος κύματος (nm) |
|--------|-----------|----|-----------------------------|--------------------------------|--------------------|
| | A | B | | | |
| 0-8 | 90 | 10 | 30 | 0,8 | 258 |
| 23-24 | 20 | 80 | | | |
| 25-26 | 90 | 10 | | | |

9.3. Δοκιμές προσρόφησης

9.3.1. Επιλογή δραστικών ουσιών για πειράματα προσρόφησης

Οι φ.ο. που επιλέχθηκαν για τις δοκιμές προσρόφησης είναι τα ζιζανιοκτόνα terbuthylazine, metribuzin και το μυκητοκτόνο metalaxyl-M. Η επιλογή των ουσιών αυτών έγινε με κριτήρια

- την κατηγοριοποίησή τους σε ουσίες μέτριου ή υψηλού κινδύνου για έκπλυση σύμφωνα με τον δείκτη έκπλυσης GUS και
- τη συχνή ανίχνευση των υπολειμμάτων των ουσιών αυτών σε υδάτινα συστήματα (Funari et al., 1998; Kim and Feagley, 1998; Spliid and Koppen, 1998; Papadopoulou-Mourkidou et al., 2004; Guzzella et al., 2006).

Το εντομοκτόνο indoxacarb που από βιβλιογραφικά δεδομένα εμφανίζει πολύ υψηλό συντελεστή προσρόφησης στο έδαφος ($K_{oc} > 5000$) συμπεριλήφθηκε στη δοκιμή για λόγους σύγκρισης.

9.3.2. Επιλογή μεθόδου προσδιορισμού της προσρόφησης-εκρόφησης

Για τον υπολογισμό της συμπεριφοράς προσρόφησης εκρόφησης των φ.ο. επιλέχθηκε η δοκιμή ισορροπίας (*batch equilibration*) με αναφορά στη μεθοδολογία προσδιορισμού των συντελεστών προσρόφησης που αναπτύσσεται στην κατευθυντήρια οδηγία 106 του Διεθνούς Οργανισμού για την Οικονομική Συνεργασία και Ανάπτυξη (OECD, 2001). Η οδηγία αυτή αναπτύχθηκε για την εκτίμηση της συμπεριφοράς προσρόφησης-εκρόφησης αποκλειστικά σε εδάφη, αλλά οι ίδιες αρχές και μεθοδολογίες θα χρησιμοποιηθούν και για την εκτίμηση της συμπεριφοράς προσρόφησης σε σύνθετα οργανικά υποστρώματα. Στην εκτίμηση της συμπεριφοράς προσρόφησης με τη μέθοδο αυτή δε λαμβάνεται υπόψη η προσρόφηση στα κolloειδή συστατικά του εδάφους που έχουν διάμετρο σωματιδίων μικρότερη από 0,2 μm, καθώς τα σωματίδια αυτού του μεγέθους παραμένουν εν αιωρήσει στην υδατική φάση ακόμη και μετά τη φυγοκέντρηση. Επίσης δεν γίνεται διάκριση μεταξύ διαφορετικών διεργασιών προσρόφησης (π.χ. χημική ή φυσική προσρόφηση). Για την εξομοίωση πραγματικών συνθηκών του εδαφικού συστήματος χρησιμοποιείται υδατικό διάλυμα CaCl_2 0,01 M. Η συγκέντρωση αυτή του διαλύματος θεωρείται ιδανική για το διαχωρισμό των φάσεων κατά τη φυγοκέντρηση και για την ελαχιστοποίηση της ανταλλαγής κατιόντων (*cation exchange*) μεταξύ των δύο φάσεων.

Για τις δοκιμές εκρόφησης χρησιμοποιήθηκε η εκρόφηση ενός σημείου (*single point desorption*). Με τη μέθοδο αυτή υπολογίζεται η εκρόφηση σε όλες τις συγκεντρώσεις ισορροπίας και για συγκεκριμένο χρόνο αντίδρασης. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την εκτίμηση της μεταβολής της ποσοστιαίας εκρόφησης όταν μεταβάλλεται η συγκέντρωση της φ.ο.

9.3.3. Προκαταρκτικές δοκιμές

Εκτίμηση της ιδανικής αναλογίας νερού-υποστρώματος

Η επιλογή της κατάλληλης αναλογίας προσροφητικού μέσου και υδατικής φάσης είναι καθοριστικής σημασίας για την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων στις δοκιμές προσρόφησης. Η μεταβολή από 1:1 σε 33:1 της αναλογίας στερεάς και υδατικής φάσης σε δοκιμές *batch equilibrium* μπορεί να οδηγήσει σε 50% μείωση στην τιμή του συντελεστή προσρόφησης (Koskinen and Cheng, 1983). Στους παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στην επιλογή της ιδανικής αναλογίας στερεάς και υδατικής φάσης περιλαμβάνονται η κατανομή της ουσίας στις δύο φάσεις, τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού της αναλυτικής μεθόδου και η μέση συγκέντρωση με την οποία η ουσία εμφανίζεται σε φυσικά υδατικά περιβάλλοντα (Delle Site, 2000). Για το σύνολο των δοκιμών επιλέχθηκε η αναλογία στερεής/υγρής φάσης 1:5.

Υπολογισμός χρόνου ισορροπίας

Οι συντελεστές προσρόφησης πρέπει να υπολογίζονται σε κατάσταση ισορροπίας. Για το λόγο αυτό είναι αναγκαία μια προκαταρκτική δοκιμή για τη εύρεση του χρονικού διαστήματος που απαιτείται, ώστε το σύστημα να προσεγγίσει την κατάσταση ισορροπίας. Γενικά χρονικό διάστημα μεταξύ 1 ώρας έως μερικών ημερών συνήθως είναι αρκετό για επίτευξη ισορροπίας, όμως ορισμένες φορές μεγαλύτερο χρονικό διάστημα είναι απαραίτητο (OECD, 2001). Σύμφωνα με τη δοκιμή αυτή υπολογίζεται το ποσοστό της ουσίας που προσροφάται σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα ανακίνησης των δειγμάτων. Οι χρόνοι συνεχούς ανακίνησης που επιλέχθηκαν για τη δοκιμή είναι 2, 4,

8, 12 και 24 ώρες. Η αρχική συγκέντρωση των ουσιών στη δοκιμή αυτή ήταν $5 \mu\text{g mL}^{-1}$, συγκέντρωση που αντιστοιχεί στο μέσο του εύρους συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των συντελεστών προσρόφησης. Το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε για τη δοκιμή αυτή είναι το βιομίγμα ΒΧ2. Για την εκτίμηση του χρόνου ισορροπίας πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων με σύγκριση της ποσοστιαίας προσρόφησης στους πέντε διαδοχικούς χρόνους ανακίνησης, ώστε να βρεθεί ο χρόνος στον οποίο δεν εμφανίζεται καμιά στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση. Για τη σύγκριση αυτή χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο Duncan ($p < 0,01$).

Σταθερότητα φ.ο. στις συνθήκες των δοκιμών προσρόφησης

Στις προκαταρκτικές δοκιμές συμπεριλήφθηκε και η εκτίμηση της σταθερότητας των φ.ο. στο υδατικό διάλυμα CaCl_2 . Ελέγχθηκε αφενός η χημική σταθερότητα της κάθε φ.ο. στο υδατικό διάλυμα CaCl_2 και αφετέρου η πιθανότητα προσρόφησης των υπό εξέταση φ.ο. στα τοιχώματα των φιαλιδίων που χρησιμοποιούνται στην πειραματική διαδικασία. Για τον έλεγχο αυτό χρησιμοποιήθηκε ποσότητα ουσίας που αντιστοιχεί στο μέγιστο του εύρους των επιλεγμένων για τα δείγματα συγκεντρώσεων δηλαδή $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ενώ ο χρόνος ανακίνησης ήταν 14 ώρες.

9.3.4. Δοκιμή ισορροπίας

Ποσότητα αεροξηραθέντος εδάφους ή βιομίγματος (2 g) ζυγίστηκε σε φιαλίδια των 40 mL και προστέθηκαν 10 mL καθενός από τα διαλύματα φόρτισης. Τα διαλύματα φόρτισης περιείχαν μια βαθμίδωση συγκεντρώσεων της ουσίας από 2 έως $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Τα φιαλίδια οδηγήθηκαν σε ανακινητή (200 rpm) που λειτούργησε για όλη τη διάρκεια της νύχτας (14 ώρες) και κατόπιν μεταφέρθηκαν στη συσκευή φυγοκέντρησης (4500 rpm για 10 λεπτά). Το υπερκείμενο υδατικό διάλυμα συλλέχθηκε με τη βοήθεια μικροπιπέτας, ογκομετρήθηκε και αναλύθηκε όπως περιγράφεται παρακάτω.

Με το τέλος της δοκιμής προσρόφησης σε κάθε φιαλίδιο προστέθηκε υδατικό διάλυμα CaCl_2 ίσου όγκου με αυτόν που απομακρύνθηκε στην προηγούμενη δοκιμή και τα φιαλίδια μεταφέρθηκαν σε οριζόντιο ανακινητή όπου παρέμειναν για χρονικό διάστημα 14 ωρών. Ακολούθησε φυγοκέντρηση, συλλογή και ογκομέτρηση του υπερκείμενου υδατικού διαλύματος. Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της ουσίας στην υδατική φάση χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος εκχύλισης που περιγράφεται παρακάτω. Για την εξασφάλιση της αξιοπιστίας και της επαναληψιμότητας στα αποτελέσματα το σύνολο των δοκιμών πραγματοποιήθηκε κάτω από σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας ($24^\circ\text{C} \pm 2$)

9.3.5. Εκχύλιση

Συσκευές και αντιδραστήρια

- Αδιαφανείς, βιδωτές φιάλες των 40 mL
- Οριζόντιος ανακινητής
- Συσκευή φυγοκέντρησης
- Σιφώνια πληρώσεως των 10 mL
- Ογκομετρικοί σωλήνες των 10 mL
- Φιαλίδια χρωματογραφίας
- Γυάλινη συσκευή τοποθέτησης μικροσπηλών SPE συνδεδεμένη με αντλία κενού
- Ζυγός ακριβείας ($d=0.01$)
- Στήλες SPE C18
- Αέριος χρωματογράφος

Περιγραφή μεθόδου

Η εκχύλιση των υδατικών δειγμάτων που παρελήφθησαν στις δοκιμές προσρόφησης και εκρόφησης πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια μικροστηλών SPE C18. Κάθε στήλη είχε προηγουμένως ενεργοποιηθεί με 2 mL μεθανόλης και 2 mL απιονισμένου νερού. Η όλη διαδικασία εκχύλισης των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε ειδική συσκευή με ικανότητα για ταυτόχρονο χειρισμό 10 μικροφυσιγγίων. Η συσκευή αυτή ήταν συνδεδεμένη με αντλία κενού, ενώ μεταξύ των στηλών SPE και των υποδοχών της συσκευής τοποθετήθηκαν πλαστικοί ρυθμιστές ροής. Μετά τη φόρτωση του υδατικού διαλύματος, οι στήλες αφέθηκαν να στεγνώσουν επάνω στη συσκευή (τουλάχιστο για 20 λεπτά). Στη συνέχεια, οι φ.ο. εκλούστηκαν με οξικό αιθυλεστέρα μέχρι παραλαβής 2 mL. Τα εκλούσματα μεταφέρθηκαν με τη βοήθεια μικροπιπέτας σε φιαλίδια χρωματογραφίας και αποθηκεύτηκαν στους 4°C μέχρι την ανάλυση τους

Χρωματογραφική ανάλυση

Για τη χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε σύστημα αέριας χρωματογραφίας, ενώ ο διαχωρισμός των ουσιών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια στήλης μέσης πολικότητας BPX-35. Το σύνολο των δειγμάτων αναλύθηκε με τη βοήθεια του εκλεκτικού ανιχνευτή αζώτου-φωσφόρου εκτός των δειγμάτων που περιείχαν imdoxcarb για την ανάλυση των οποίων χρησιμοποιήθηκε ο ανιχνευτής ECD, λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης των υπολειμμάτων της ουσίας στην υδατική φάση. Οι συνθήκες της χρωματογραφικής ανάλυσης των φ.ο. περιγράφηκαν προηγουμένως (**παράγραφος 9.2.3**)

9.4. Δοκιμές έκπλυσης**9.4.1. Επιλογή δραστικών ουσιών και ορισμός εφαρμοσθείσας δόσης στα πειράματα έκπλυσης**

Για την διεξαγωγή των δοκιμών έκπλυσης επιλέχθηκαν οι ουσίες metribuzin, metalaxyl-M, terbuthylazine, iprodione και chlorpyrifos. Οι ουσίες αυτές επιλέχθηκαν με κριτήρια το μεγάλο εύρος φυσικοχημικών χαρακτηριστικών τους και τη σχετική πιθανότητα ανίχνευσης τους στο έκπλυμα. Λόγω της υψηλής τιμής υδατοδιαλυτότητας και της μικρής τιμής του συντελεστή K_{oc} οι ουσίες metribuzin και metalaxyl-M εμφανίζουν υψηλή πιθανότητα ανίχνευσης σε υπόγεια ύδατα. Οι ουσίες terbuthylazine και iprodione εμφανίζουν μικρό έως μέτριο κίνδυνο έκπλυσης, ενώ τα χαρακτηριστικά του chlorpyrifos (μικρότερη τιμή υδατοδιαλυτότητας και υψηλότερη τιμή K_{oc} μεταξύ των επιλεχθέντων ουσιών) το κατατάσσουν στις ουσίες που κάτω από φυσιολογικές συνθήκες δεν ανιχνεύεται στα υπόγεια ύδατα. Η επιλογή της δόσης εφαρμογής των παραπάνω ουσιών στα πειράματα έκπλυσης στηρίχθηκε στο ίδιο υποθετικό σενάριο με αυτό των δοκιμών αποδόμησης (**παράγραφος 9.2.1.**). Για τον υπολογισμό της δόσης εφαρμογής κάθε ουσίας στη στήλη έγιναν οι εξής υποθέσεις: α. το ψεκαστικό διάλυμα περιέχει μίγμα των 5 ουσιών στη μέση συνιστώμενη δόση, β. το 20% του ψεκαστικού υγρού που παραμένει στη δεξαμενή (500 L) διοχετεύεται στην επιφάνεια της βιοκλίνης και κατανέμεται ομοιόμορφα στα πρώτα 10 cm του βιομίγματος και γ. η βιοκλίνη έχει ένα συνολικό εμβαδό 10 m² και η φαινόμενη πυκνότητα του βιομίγματος είναι 600 g·L⁻¹. Λαμβάνοντας υπόψη τις παραμέτρους του σεναρίου αυτού η ποσότητα εφαρμογής κάθε ουσίας αναφέρεται στον **πίνακα 9.2.**

9.4.2. Οργάνωση πειράματος

Προετοιμασία στηλών

Η αρχική προετοιμασία περιελάμβανε την προετοιμασία 12 στηλών από αδιαφανές υλικό (PVC) μήκους 1 m και διαμέτρου 12,5 cm. Στη μια άκρη των σωλήνων αυτών προσαρμόστηκε πλαστικό πλέγμα, ενώ δύο λεπτές αλουμινένιες ταινίες τοποθετημένες χιαστί αμέσως κάτω από το πλέγμα υποβοηθούν στο να αντέξει η όλη κατασκευή το βάρος του υποστρώματος. Στις στήλες τοποθετήθηκαν πλαστικά χωνιά που φέρουν μακρύ και εύκαμπτο λαιμό (**διάγραμμα 9.2**). Οι στήλες τοποθετήθηκαν σε κατακόρυφη θέση ώστε το κάτω άκρο του χωνιού να βρίσκεται 20 cm από το δάπεδο. Η θερμοκρασία του χώρου που βρίσκονταν οι στήλες έκπλυσης ήταν $24^{\circ}\text{C} \pm 2$ σε όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Στις στήλες αρχικά μεταφέρεται ποσότητα λεπτών χαλικιών που προηγουμένως είχαν ξεπλυθεί με άφθονη ποσότητα νερού. Η ποσότητα των χαλικιών αντιστοιχεί ακριβώς σε 10 cm στη στήλη. Το τελευταίο αυτό στρώμα από χαλίκι είναι απαραίτητο για τη συγκράτηση των συστατικών του υποστρώματος. Αμέσως πάνω από τη ζώνη με το χαλίκι τοποθετήθηκε το κυρίως υπόστρωμα (βιομίγμα ή έδαφος) ώστε να καταλαμβάνει 80 εκατοστά στη στήλη. Τα χαρακτηριστικά των υποστρωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη δοκιμή αναφέρονται στον **πίνακα 9.1**. Τέλος, ακριβώς πάνω από το υπόστρωμα και για ύψος 5 cm τοποθετήθηκε ποταμίσιος άμμος με μεγάλο μέγεθος κόκκων, η οποία προηγουμένως είχε ξεπλυθεί με άφθονη ποσότητα νερού. Το λεπτό αυτό στρώμα άμμου επιτρέπει την ομαλή κατανομή του νερού σε όλο τον όγκο του υποστρώματος. Στην κάτω πλευρά της στήλης ο εύκαμπτος λαιμός κάθε χωνιού καταλήγει σε γυάλινη αδιαφανή φιάλη συλλογής του εκπλύματος (**διάγραμμα 9.2**).



Διάγραμμα 9.2. Διαγραμματική απεικόνιση μιας στήλης έκπλυσης (α) και η διάταξη των στηλών στο χώρο διεξαγωγής του πειράματος (β)



Αμέσως μετά την πλήρωση των 12 στηλών με τα εξεταζόμενα υποστρώματα η υγρασία στις στήλες ρυθμίστηκε στο 50% της υδατοχωρητικότητας με την ανάλογη προσθήκη νερού. Μεταξύ της πλήρωσης των στηλών με τα βιομίγματα και της εφαρμογής του μίγματος των ουσιών μεσολάβησε χρονικό διάστημα 60 ημερών, χρόνος απαραίτητος για την σταθεροποίηση των οργανικών υποστρωμάτων. Στο χρονικό αυτό διάστημα πραγματοποιούνταν προσθήκη άπαξ 600 mL νερού σε εβδομαδιαία βάση σε κάθε στήλη. Η ποσότητα νερού που απομακρύνθηκε από κάθε στήλη προ της εφαρμογής των φ.ο. χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας στις προκαταρκτικές δοκιμές, στις δοκιμές ανάκτησης και για την παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων εργασίας σε εκχύλισμα υποστρώματος.

Υδατικό σενάριο, συνθήκες πειραματισμού και δειγματοληψία

Σύμφωνα με το υδατικό σενάριο που επιλέχθηκε κάθε στήλη δέχονταν άπαξ 600 mL νερού ανά εβδομάδα. Στο χώρο διεξαγωγής του πειράματος η θερμοκρασία διατηρήθηκε στους $24^{\circ}\text{C} \pm 2$ σε όλη την περίοδο παρακολούθησης. Για την αποθήκευση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν διαφανείς γυάλινες φιάλες. Η μετάγγιση του νερού από τις φιάλες συλλογής του εκπλύματος στις φιάλες αποθήκευσης πραγματοποιούνταν κάθε ημέρα ή κάθε δεύτερη ημέρα και τα δοχεία αποθηκεύονταν στο ψυγείο (4°C). Προ της αποθήκευσης το pH των δειγμάτων προσαρμόζονταν στην τιμή 6,0 με διάλυμα HCl 4N. Επίσης στα χρονικά σημεία 7, 21 και 42 ημέρες μετά την εφαρμογή των ουσιών πραγματοποιούνταν έλεγχος της ροής διήθησης (*percolation rate*) του νερού στις στήλες με ογκομέτρηση του νερού που καταλήγει στις φιάλες συλλογής του εκπλύματος.

Φόρτιση με μίγμα φ.ο.

Η ποσότητα κάθε ουσίας που εισέρχεται στη στήλη με την εφαρμογή του πυκνού υδατικού διαλύματος αναφέρεται στον **πίνακα 9.2**. Για τη φόρτιση των στηλών στην επιλεχθείσα δόση παρασκευάστηκε πυκνό υδατικό διάλυμα από εμπορικά σκευάσματα των ουσιών της δοκιμής. Για τη φόρτιση των στηλών χρησιμοποιήθηκαν 100 mL υδατικού διαλύματος φόρτισης ανά στήλη. Η παρασκευή του διαλύματος φόρτισης πραγματοποιήθηκε την ημέρα της εφαρμογής.

Έλεγχος σταθερότητας υδατικού διαλύματος μετά την έξοδο από τη στήλη έκπλυσης

Για την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων των δοκιμών έκπλυσης ελέγχθηκε η σταθερότητα των ουσιών στο έκπλυμα κατά την παραμονή τους σε συνθήκες εργαστηρίου ή συντήρησης σε ψυγείο (4°C) επί μια εβδομάδα. Για το λόγο αυτό ποσότητα 3,2 L εκπλύματος για κάθε ένα από τα υποστρώματα έδαφος (S3) και βιομίγμα κομπόστας (LBX1) χωρίστηκαν σε 16 δείγματα των 200 mL και καθένα από αυτά φορτίστηκε με μικτό διάλυμα των ουσιών terbutylazine, metalaxyl-M, metribuzin, chlorpyrifos και iprodione σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,8 , 4 , 2 , 0,4 , 16 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ αντίστοιχα (HR-high rate). Για τη φόρτιση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε ακετονικό διάλυμα που περιείχε όλες τις παραπάνω ουσίες. Τα 3 πρώτα δείγματα από τα 16 για κάθε υπόστρωμα αναλύθηκαν αμέσως μετά την φόρτιση τους σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται στην **παράγραφο 9.4.3.1**. Τα εναπομείναντα δείγματα αποθηκεύτηκαν για χρονικό διάστημα μιας εβδομάδας σε διαφορετικές συνθήκες: α. σε ψυγείο (4°C), β. σε σκιερό χώρο σε συνθήκες εργαστηρίου αφού προηγουμένως καλύφθηκαν με πλαστική αδιαφανή σακούλα, γ. στο ψυγείο μετά από προσαρμογή της τιμής του pH σε τιμές 5, 6 ή 7.

9.4.3. Ανάλυση δειγμάτων των δοκιμών έκπλυσης

9.4.3.1. Προσδιορισμός υπολειμμάτων στο έκπλυμα των στηλών

Όργανα-Σκεύη-Αντιδραστήρια

- Διχλωρομεθάνιο
- Εξάνιο
- Στήλες SME C18
- Διαχωριστική χοάνη των 200 mL
- Σιφώνια πληρώσεως 5 και 10 mL
- Περιστροφικός εξατμιστήρας
- Φυγόκεντρος
- Φιαλίδια χρωματογραφίας
- Σύστημα αέριας χρωματογραφίας

Προκαταρκτικές δοκιμές

Στις δοκιμές για την ανάπτυξη της αναλυτικής μεθοδολογίας για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των φ.ο. στο υδατικό έκπλυμα από τις στήλες εξετάστηκε η δυνατότητα εφαρμογής αφενός μικροστηλών SPE C18 και αφετέρου της κατανομής σε οργανικό διαλύτη ως μέθοδοι καθαρισμού των δειγμάτων. Η αξιολόγηση της κάθε τεχνικής στηρίχθηκε στις ικανοποιητικές τιμές ανάκτησης των αναλυτών σε μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων, στην επαναληψιμότητα και ακρίβεια στα αποτελέσματα, στον ικανοποιητικό καθαρισμό των δειγμάτων για την αποφυγή παρεμβολής συστατικών των υποστρωμάτων στην χρωματογραφική ανάλυση και τέλος στη δυνατότητα ανάλυσης μεγάλου αριθμού δειγμάτων σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Για την ανάπτυξη της μεθόδου ανάλυσης με τη χρήση φυσιγγίων SPE 200 mL εκπλύματος προερχόμενου από στήλες BX φορτίστηκαν με τις 5 ουσίες της δοκιμής και οδηγήθηκαν σε στήλες C18. Οι στήλες είχαν προηγουμένως ενεργοποιηθεί με 3 mL μεθανόλης και 5 mL απιονισμένου νερού. Σε μια παραλλαγή της μεθόδου δοκιμάστηκε και η προσθήκη μικρής ποσότητας μεθανόλης (έως 5%) στα υδατικά εκχυλίσματα για βελτίωση της δυνατότητας ανάκτησης. Με το πέρασμα όλης της ποσότητας νερού (200 mL) από τις μικροστήλες, αφήνονται να στεγνώσουν και ακολούθως οι ουσίες εκκλούνται με το πέρασμα 10 mL οξικού αιθυλεστέρα. Το διάλυμα που παραλαμβάνεται συμπυκνώνεται μέχρις ξηρού με τη βοήθεια περιστρεφόμενου εξατμιστήρα κενού και επαναδιαλύεται σε 1 mL οξικού αιθυλεστέρα.

Για την ανάπτυξη μεθόδου παραλαβής των υπολειμμάτων και καθαρισμού των δειγμάτων με κατανομή υγρής-υγρής φάσης χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες διχλωρομεθάνιο ή εξάνιο (3x50 mL) και μίγμα των διαλυτών αυτών (διχλωρομεθάνιο και εξάνιο 1:4). Η αναλυτική διαδικασία που εφαρμόστηκε περιγράφεται παρακάτω

Τελική μέθοδος

Ποσότητα εκπλύματος (400 mL) μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη και προστίθενται διαδοχικά 40 mL εξάνιο και 10 mL διχλωρομεθάνιο. Μετά από ανακίνηση της χοάνης αυτή παραμένει για τρία λεπτά σε ηρεμία. Κατόπιν η υδατική (κάτω) στοιβάδα μεταφέρεται σε κωνική φιάλη ενώ η άνω οργανική φάση σε ποτήρια φυγόκεντρου. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται άλλες δύο φορές και το σύνολο της οργανικής φάσης που παραλαμβάνεται ανακινείται ήπια με το χέρι και στη συνέχεια οδηγείται στη φυγόκεντρο (5 min, 4500 rpm) για καλύτερο διαχωρισμό των δύο φάσεων. Έπειτα τα ποτήρια της φυγόκεντρου ανακινούνται ήπια με το χέρι και επιστρέφουν στην φυγόκεντρο για άλλα 5 λεπτά. Η οργανική στοιβάδα κατόπιν συλλέγεται με τη βοήθεια μικροπιπέτας και οδηγείται σε περιστρεφόμενο

εξατμιστήρα κενού μέχρι την πλήρη εξάτμιση των διαλυτών. Τελικά το σύνολο των υπολειμμάτων συλλέγεται με 1 mL οξικού αιθυλεστέρα και οδηγείται σε φιαλίδια των 1,5 mL. Στις περιπτώσεις που η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στα εκπλύματα είναι υψηλή πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές αραιώσεις του τελικού διαλύματος μέχρις ότου οι τελικές συγκεντρώσεις να βρίσκονται εντός του εύρους των συγκεντρώσεων των προτύπων ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν στην κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς.

Χρωματογραφική ανάλυση

Για τη χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος εξοπλισμένος με ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου (NPD) ενώ ο διαχωρισμός των ουσιών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια στήλης μέσης πολικότητας (BPX-35). Η θερμοκρασία του εγχυτή ήταν 250°C και με υποβοηθούμενη πίεση 60 psi (*pulsed splitless mode*) με άνοιγμα της βαλβίδας *ruige* σε χρόνο 1,10 λεπτά. Η ροή μεταφοράς της κινητής φάσης ήταν σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια του προγράμματος και ίση με 0,8 mL·min⁻¹. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του φούρνου που επιλέχθηκε για τις αναλύσεις καθώς και οι ροή μεταφοράς της κινητής φάσης αναφέρονται στον **πίνακα 9.7**. Η θερμοκρασία του ανιχνευτή NPD ορίστηκε στους 310°C ενώ η ροή των καυσίμων αέρας και υδρογόνο, καθώς και του φέροντος αερίου (He) ήταν 3, 60 και 6 mL·min⁻¹ αντίστοιχα. Στις χρωματογραφικές αυτές συνθήκες ο συνολικός χρόνος του προγράμματος ήταν 18 min.

Πίνακας 9.7. Μεταβολές στις συνθήκες θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της χρωματογραφικής ανάλυσης των δειγμάτων

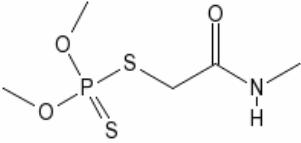
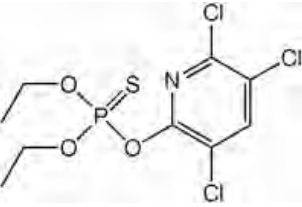
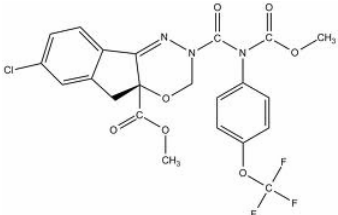
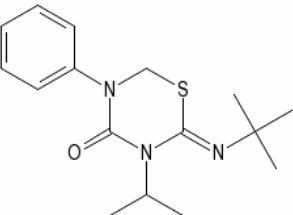
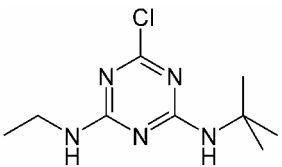
| Ρυθμός μεταβολής (°C·min ⁻¹) | Θερμοκρασία στήλης | |
|--|--------------------|------------------------|
| | Θερμοκρασία (°C) | Χρόνος παραμονής (min) |
| | 100 | 1 |
| 46 | 200 | 0 |
| 6 | 240 | 0 |
| 20 | 280 | 7 |

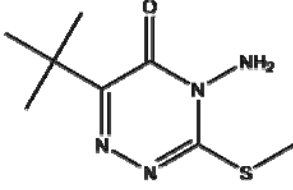
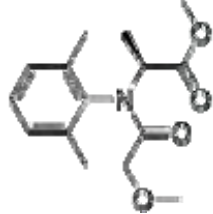
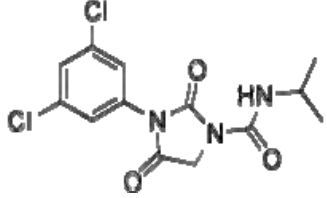
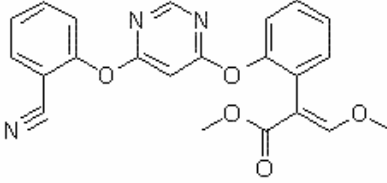
9.4.3.2. Υπολογισμός επιπέδου υπολειμμάτων στο υπόστρωμα στο τέλος του χρόνου παρακολούθησης

Για την εκτίμηση της κατανομής κάθε φ.ο. που συγκρατήθηκε στα συστατικά του υποστρώματος στο τέλος του χρόνου παρακολούθησης συλλέχθηκε ποσότητα υποστρώματος από διαφορετικά επίπεδα της στήλης. Η δειγματοληψία περιελάμβανε αρχικά τον εγκάρσιο τεμαχισμό των στηλών ώστε οι 6 κύλινδροι που σχηματίζονται να αντιπροσωπεύουν τα πρώτα 5 cm του βιομίγματος και τους ορίζοντες 5-10 cm, 10-20 cm, 20-30 cm, 30-50 cm και 50-80 cm. Το υπόστρωμα που περιέχεται σε κάθε κύλινδρο αναμιγνύεται με το χέρι και 100 g του βιομίγματος μεταφέρθηκαν σε πλαστικές σακούλες που διατηρήθηκαν στους -18°C μέχρι το χρόνο ανάλυσης τους.

Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος που περιγράφηκε την παράγραφο 9.2.3 (1^η μέθοδος) και για την χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος εξοπλισμένος με τον εκλεκτικό ανιχνευτή NPD. Οι συνθήκες της χρωματογραφικής ανάλυσης περιγράφονται στην **παράγραφο 9.4.3.1**. Για τον προσδιορισμό της ποσότητας της ουσίας που αποδομήθηκε σε κάθε στήλη αφαιρέθηκε η συνολική ποσότητα κάθε ουσίας που εκπλύθηκε κατά το χρόνο παρακολούθησης των 120 ημερών και η ποσότητα που παρέμεινε στη στήλη με το πέρας του χρόνου παρακολούθησης από την συνολικά εφαρμοσθείσα ποσότητα σε κάθε στήλη.

Πίνακας 9.8. Οι κυριότερες ιδιότητες των φ.ο. που χρησιμοποιήθηκαν στον πειραματισμό

| | dimethoate | chlorpyrifos | indoxacarb | buprofezin | terbuthylazine |
|---|---|---|--|---|---|
| | Εντομοκτόνο (Οργανοφωσφωρικό) | Εντομοκτόνο (Οργανοφωσφωρικό) | Εντομοκτόνο (Οξαδιαζίνη) | Εντομοκτόνο (Συνθετάση της χιτίνης) | Ζιζανιοκτόνο (Τριαζίνη) |
| |  |  |  |  |  |
| Διαλυτότητα (νερό)^a | 23800 | 1,1 | 0,2 | 0,4 | 8,5 |
| Τυπικός χρόνος ημιζωής^b | 7 | 21 | 20 | 56 | 46 |
| K_{oc} | 30 | 8151 | 6450 | 104 | 220 |
| Καλλιέργειες^c | Αρακάς, βαμβάκι, ελιά, ζαχαρότευτλα, καλλωπιστικά υπαίθρια, καπνός, κερασιά, κουνουπίδι, κρεμμύδι, λάχανο, μαρούλι θερμοκηπίου, μαρούλι υπαίθριο, μελιτζάνα υπαίθρια, πατάτα, παντζάρι, ραπάνι, σπαράγγι, τομάτα υπαίθρια | Αγγούρι, αγκινάρα, αραβόσιτος, αχλάδια, βαμβάκι, γκρείπ φρουτ, δαμασκηιά, καπνός, καρότο, καρπούζι, κολοκύθι, κρεμμύδι, κυδώνια, λεμόνια, μανταρινία, μελιτζάνα, μηλιά, νεκταρίνια, πατάτα, πιπεριά, πορτοκάλια, ραπάνι, ροδάκινα, σέλινο, σιτάρι, σπορεία, σπανάκι, τομάτα, τριφύλλι | Αγγούρι, αμπέλι, αραβόσιτος, αχλάδια, βερικοκιά, καρπούζι, κολοκύθι, κουνουπίδι, λάχανο, μαρούλι, μηλιά, νεκταρίνια, πιπεριά, ροδάκινα, τομάτα | Αγγούρι, θερμοκηπίου, αμυγδαλιά, γκρείπ φρουτ, ελιά, καπνός, κίτριά, λεμόνια, μανταρινία, νερατζιά, πορτοκάλια, ροδάκινα, τομάτα, θερμοκηπίου | Αραβόσιτος |
| Δόση εφαρμογής^d | 62,5 -150 mL σε 100L νερού | 100-150 mL ανά στρέμμα | 8,5-16,5 g ανά στρέμμα | 50-100mL σε 100 λίτρα νερού | 150-200 mL ανά στρέμμα |
| Μορφές τυποποίησης^e | EC | EC,GR,CS,WG,WP | SC, WG | WP | SC |
| Leaching Potential index-PLP (0-100)^f | 47 | 30 | 4 | - | - |
| GUS index^g | 1,05 | 0,15 | 0,23 | 3,37 | 2,74 |
| Toxicity class^h | II | II | III | III | III |
| Κυριότεροι μεταβολίτες | omethoate | 3,5,6-trichloro-pyridinol (TCP) 3,5,6- trichloro-2-methoxy-pyridine (TMP) | IN-KT413 (υδρόλυση) INKG433, JT333 (μικροβιακή αποδόμηση) | 4-hydroxy, 3,4-dihydroxy buprofezin 3-hydroxy-4-methoxy buprofezin | desethyl-terbuthylazine 2-hydroxy-terbuthylazine 2-hydroxydesethyl-terbuthylazine |

| | metribuzin | metalaxyl-M | iprodione | azoxystrobin |
|---|---|--|---|---|
| | Ζιζανιοκτόνο (Τριαζινόνη) | Μυκητοκτόνο (Φαινυλαμίνη) | Μυκητοκτόνο (Δικαρβοξιμιδικό) | Μυκητοκτόνο (Στρομπιλουρίνη) |
| |  |  |  |  |
| Διαλυτότητα (νερό)^a | 1165 | 26000 | 13 | 6,7 |
| Τυπικός χρόνος ημιζωής^b | 19 | 39 | 42-126 | 21 |
| K_{oc} | 3-47 | 660 | 373-1551 | 423 |
| Καλλιέργειες^c | Καρότο, τομάτα υπαίθρου, πατάτα, σόγια, μηδική, κριθάρι, σπαράγγι | Αραβόσιπος, βαμβάκι, ζαχαρότευτλα | Αγγούρι, αμπέλι, βερικοκιά, καλλωπιστικά, μηλιά, πατάτα, λάχανο, καρότο, καρπούζι, ροδακινιά, κρεμμύδι, φασόλι, φράουλα, τομάτα | Αγγούρι, τομάτα, φράουλα, καρπούζι, πεπόνι, πιπεριά, καρότο, ζαχαρότευτλα, κολοκύθι, σπαράγγι |
| Δόση εφαρμογής^d | 40-100 g ανά στρέμμα | 100-120 mL ανά στρέμμα | 100-150 mL σε 100 λίτρα νερό | 60-200 mL σε 100 λίτρα νερό |
| Μορφές τυποποίησης^e | SC, WP, WG | WS,ES,EC,SL | SC, WP | SC |
| Leaching Potential index-PLP (0-100)^f | 52 | 59 | 33 | - |
| GUS index^g | 2,57 | 1,88 | 2,75 | 2,53 |
| Toxicity class^h | III | III | IV | - |
| Κυριότεροι μεταβολίτες | diketo metribuzin (DK) deaminated diketo metribuzin (DADK) deaminated metribuzin (DA) | | N-(3,5-dichlorophenyl)3-isopropyl-2,4-dioxoimidazoline-1-carboxamide 1-(3,5-dichlorophenyl)-5-isopropyl biuret | (E)-2-(2-[6-cyanophenoxy]-pyrimidin-4-yloxy)-phenyl-3-methoxyacrylic acid |

^a μετρούμενη στους 20°C και εκφρασμένη σε mg·L⁻¹^b μέσος χρόνος ημιζωής στον αγρό^c καλλιέργειες στις οποίες η χρήση του προϊόντος είναι εγκεκριμένη στην Ελλάδα^d δόση εφαρμογής όπως αναγράφεται στη συσκευασία των φ.π.^e σκευάσματα με έγκριση κυκλοφορίας στην Ελλάδα^f στοιχεία από Weber J.B., (2003)^g δεδομένα από Footprint PPDB: www.sitem.herts.ac.uk^h στοιχεία από Environmental Protection Agency (EPA)

Αξιοπιστία των μεθόδων ανάλυσης και στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων

10.1. Έλεγχος αξιοπιστίας της αναλυτικής μεθοδολογίας

Προ της ανάλυσης των δειγμάτων εργασίας κρίθηκε απαραίτητη η αξιολόγηση των χρησιμοποιούμενων μεθόδων ανάλυσης σε συνθήκες του εργαστηρίου. Για την αξιολόγηση της αξιοπιστίας κάθε μεθόδου ελέγχθηκε η επαναληψιμότητα, το ποσοστό ανάκτησης, η γραμμικότητα του ανιχνευτή και η επίδραση του υποστρώματος.

10.1.1. Γραμμικότητα καμπύλης αναφοράς

Η γραμμικότητα της απόκρισης του ανιχνευτή σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση κάθε ουσίας που εισέρχεται στο χρωματογραφικό σύστημα ελέγχεται με τη παραγωγή της πρότυπης καμπύλης και με υπολογισμό του συντελεστή προσαρμογής r^2 . Τιμές του συντελεστή προσαρμογής υψηλότερες από 0,98 θεωρούνται αποδεκτές, αλλά ιδανικά η τιμή αυτή πρέπει να είναι υψηλότερη από 0,99. Ως μέτρο της απόκρισης του ανιχνευτή χρησιμοποιήθηκε το εμβαδό της κορυφής που αντιστοιχεί σε κάθε ουσία. Η καμπύλη αναφοράς παράχθηκε χρησιμοποιώντας μικτά πρότυπα διαλύματα σε καθαρή ακετόνη και μικτά πρότυπα διαλύματα σε εκχυλίσματα του κάθε υποστρώματος. Οι τιμές των συγκεντρώσεων του αναλύτη στην καμπύλη αναφοράς βρίσκονται σε μια στενή ζώνη τιμών ($\times 20$)

10.1.2. Εκτίμηση της ορθότητας

Η ορθότητα της χρωματογραφικής ανάλυσης ελέγχθηκε με πειράματα ανάκτησης που περιλαμβάνουν εμβολιασμό των υπό εξέταση στερεών ή υδάτινων υποστρωμάτων με το μίγμα των δραστικών ουσιών χρησιμοποιώντας πυκνό πρότυπο διάλυμα σε ακετόνη. Η συγκέντρωση κάθε δραστικής ουσίας στα εμβολιασμένα δείγματα όπως προκύπτει από την ανάλυση αναφέρεται ως ποσοστό της ονομαστικής συγκέντρωσης της ουσίας στο εμβολιασμένο διάλυμα. Το ποσοστό ανάκτησης υπολογίζεται σε κάθε επίπεδο εμβολιασμού είναι η μέση τιμή τριών επαναλήψεων. Τα αποδεκτά όρια ανάκτησης για αναλύσεις υπολειμμάτων κυμαίνονται μεταξύ των ορίων 70 και 110%.

Για τον προσδιορισμό των ποσοστιαίων ανακτήσεων κάθε φ.ο. στην εφαρμογή των μεθόδων που αναπτύχθηκαν για τις δοκιμές αποδόμησης πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός του εδάφους και των οργανικών υποστρωμάτων. Τα επίπεδα συγκέντρωσης που επιλέχθηκαν για τα πειράματα ανάκτησης ήταν $2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, STD, STD:4, STD:8 και STD:20 (**πίνακας 9.2**). Για τις μεθόδους υπολογισμού των υπολειμμάτων του chloryrifos και των μεταβολιτών τους επιλέχθηκαν τα επίπεδα εμβολιασμών 0,25 και $2,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Για τον υπολογισμό των υπολειμμάτων του terbuthylazine και των μεταβολιτών του επιλέχθηκαν τα επίπεδα εμβολιασμών 0,25, 0,5 και $2,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ενώ για το metribuzin και τους μεταβολίτες του τα επίπεδα συγκέντρωσης 0,1 και $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Μετά τον εμβολιασμό τα υποστρώματα αναμοχλεύονταν ήπια για την επίτευξη ικανοποιητικής κατανομής των ουσιών στο δείγμα και παρέμεναν σε ηρεμία για 60 min για απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη πριν την επεξεργασία. Ποσότητα (2 g) από κάθε ένα από τα δείγματα χρησιμοποιήθηκε για ανάλυση με το σχηματισμό τριών επαναλήψεων ανά επίπεδο συγκέντρωσης. Ποσότητα του ίδιου υποστρώματος στο οποίο δεν έγινε εμβολιασμός χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή των εκχυλισμάτων που αντιστοιχούν στο μάρτυρα.

Για την εκτίμηση της ορθότητας της μεθόδου ανάλυσης που εφαρμόστηκε στις δοκιμές προσρόφησης πραγματοποιήθηκαν δοκιμές ανάκτησης σε 3 επίπεδα συγκεντρώσεων ($0,2$, 2 και $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Για τα πειράματα αυτά πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός του υδατικού εκχυλίσματος του υποστρώματος BX2 (βιομίγμα που περιέχει κομπόστα από ελαιόφυλλα) με τις 4 ουσίες της δοκιμής. Για την ουσία indoxacarb λόγω της ισχυρής προσρόφησης της πραγματοποιήθηκε και μια επιπλέον δοκιμή σε επίπεδο συγκέντρωσης $0,01 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Η εκτίμηση της ορθότητας της μεθόδου που εφαρμόστηκε για την ανάλυση του εκπλύματος (υδατικού διαλύματος) των στηλών πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός ποσότητας εκπλύματος προερχόμενου από το βιομίγμα LBX. Οι συγκεντρώσεις εμβολιασμού που επιλέχθηκαν ήταν HR:160, HR:80, HR:40 και HR (**παράγραφος 8.3**). Μετά από παραμονή των εμβολιασμένων δειγμάτων σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα τα δείγματα αναλύθηκαν όπως περιγράφηκε στην **παράγραφο 9.4.3**.

10.1.3. Επαναληψιμότητα

Επαναληψιμότητα (*repeatability*) είναι η ικανότητα της μεθόδου να επιτυγχάνει επαναλήψιμα αποτελέσματα για τον ίδιο αναλύτη κάτω από τις ίδιες συνθήκες επεξεργασίας του δείγματος και ανάλυσης. Υπολογίζεται από τη σχετική τυπική απόκλιση (RSD) που προκύπτει με την εκτέλεση των πειραμάτων ανάκτησης στο ίδιο εργαστήριο, σε σύντομο χρονικό διάστημα. Για την εκτίμηση της επαναληψιμότητας της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των δειγμάτων στις δοκιμές αποδόμησης ($1^{\text{η}}$ μέθοδος) πραγματοποιήθηκαν 4 διαδοχικές επαναλήψεις της δοκιμής, με το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ των διαδοχικών μετρήσεων να είναι μια εβδομάδα περίπου.

10.1.4. Όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού

Το όριο ανίχνευσης (LOD) ορίζεται ως το ελάχιστο επίπεδο συγκέντρωσης του αναλύτη στο οποίο μπορεί να προσδιοριστεί αξιόπιστα ενώ όριο ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ) είναι το ελάχιστο επίπεδο συγκέντρωσης του αναλύτη στο δείγμα το οποίο μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά με αποδεκτή αξιοπιστία (αποδεκτή πιστότητα και ορθότητα). Η τιμή και των δύο ορίων εξαρτάται από τον αναλύτη, το υπόστρωμα της ανάλυσης και τον ανιχνευτή. Το LOD προσδιορίστηκε ως η συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα που δίνει σήμα τριπλάσιο του θορύβου του χρωματογραφικού σήματος

δηλαδή ο λόγος σήμα προς θόρυβο (signal to noise – S/N) είναι ίσος με 3,3. Ως όρια ποσοτικοποίησης ορίστηκαν η ελάχιστη συγκέντρωση του αναλύτη όπου αφενός η χρωματογραφική ανάλυση δίνει σήμα τουλάχιστο δεκαπλάσιο του θορύβου (S/N ίσος με 10) και αφετέρου τα ποσοστά ανάκτησης της μεθόδου στο επίπεδο αυτό συγκέντρωσης βρίσκονται εντός των αποδεκτών ορίων

10.1.5. Έλεγχος επίδρασης υποστρώματος

Επίδραση υποστρώματος (*matrix effect*) είναι η συνδυασμένη επίδραση όλων των συστατικών του δείγματος, στον ποσοτικό προσδιορισμό του αναλύτη. Ο αποτελεσματικότερος τρόπος διόρθωσης της απόκρισης του χρωματογραφικού σήματος των δειγμάτων στις πραγματικές τιμές είναι ο σχηματισμός πρότυπης καμπύλης αναφοράς με τη χρησιμοποίηση πρότυπων διαλυμάτων σε εκχυλίσματα του υποστρώματος αντί σε καθαρό διαλύτη. Για την ποσοτικοποίηση της επίδρασης υποστρώματος χρησιμοποιήθηκαν: α. η σύγκριση των μέσων τιμών της επιφάνειας των χρωματογραφικών κορυφών των ουσιών των προτύπων σε καθαρό διαλύτη και των πρότυπων διαλυμάτων σε εκχύλισμα υποστρώματος, σε δεδομένα επίπεδα συγκέντρωσης, με κριτήριο τα όρια εμπιστοσύνης σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, β. τη σύγκριση των κλίσεων των καμπυλών αναφοράς που προέκυψαν από την χρωματογραφική ανάλυση των προτύπων διαλυμάτων σε καθαρό διαλύτη και των καμπυλών από τα πρότυπα διαλύματα σε εκχύλισμα υποστρώματος χρησιμοποιώντας την κατά ζεύγη δοκιμή Student (two-tailed t-test). Η πρώτη προσέγγιση χρησιμοποιήθηκε στις δοκιμές προσρόφησης και έκπλυσης, ενώ η δεύτερη στις δοκιμές αποδόμησης

10.2. Αποτίμηση της καταλληλότητας των κινητικών μοντέλων

10.2.1. Δοκιμή χ^2

Η συγκεκριμένη δοκιμή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν στατιστικό εργαλείο για τη σύγκριση δύο ή περισσότερων κινητικών μοντέλων ως προς την ικανότητα προσαρμογής στα πειραματικά δεδομένα (*goodness of fit*) (Focus, 2006). Η δοκιμή υπολογίζει τις αποκλίσεις μεταξύ παρατηρούμενων και εκτιμωμένων τιμών για κάθε μοντέλο, λαμβάνοντας υπόψη την αβεβαιότητα της μέτρησης

$$\chi^2 = \sum \frac{(C - O)^2}{[(err / 100) \cdot \bar{O}]^2} \quad (10.1)$$

όπου C είναι η εκτιμώμενη τιμή
O η παρατηρούμενη τιμή
 \bar{O} η μέση τιμή όλων των μετρήσεων και
err είναι το ποσοστιαίο σφάλμα της μέτρησης

Οι υπολογιζόμενες τιμές χ^2 που προκύπτουν από την παραπάνω εξίσωση συγκρίνονται με αντίστοιχες τιμές $\chi^2_{m,0.05}$ του **πίνακα Α** του παραρτήματος, όπου m ο βαθμός ελευθερίας. Η δοκιμή σημαντικότητας χ^2 εκτιμά το κατά πόσο οι διαφορές μεταξύ παρατηρούμενων και εκτιμωμένων τιμών οφείλεται σε τυχαία ή σε συστηματική απόκλιση. Το μοντέλο με τη μικρότερη τιμή ποσοστιαίου σφάλματος μπορεί να θεωρηθεί ως πιο κατάλληλο. Το ελάχιστο ποσοστιαίο σφάλμα για το οποίο η δοκιμή θεωρείται επιτυχής για δεδομένο βαθμό ελευθερίας m και για επίπεδο σημαντικότητας 5% υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$err = 100 \cdot \sqrt{\frac{1}{\chi_{m,0.05}^2} \cdot \sum \frac{(C-O)^2}{\bar{O}^2}} \quad (10.2)$$

όπου

C είναι η εκτιμώμενη τιμή

O η παρατηρούμενη τιμή

\bar{O} η μέση τιμή όλων των παρατηρούμενων τιμών

err το ποσοστιαίο σφάλμα της μέτρησης

Τα πλεονεκτήματα της χρήσης της δοκιμής χ^2 έναντι άλλων χρησιμοποιημένων μεθόδων εκτίμησης καταλληλότητας προσαρμογής είναι ότι λαμβάνονται υπόψη οι βαθμοί ελευθερίας και επίσης το επίπεδο σημαντικότητας μπορεί να προσαρμοστεί στο επιθυμητό σημείο.

10.2.2. Συντελεστής παλινδρόμησης

Ο συντελεστής παλινδρόμησης (r^2) μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις μη γραμμικής συμμεταβολής μεταξύ συγκέντρωσης υπολειμμάτων και χρόνου από την εφαρμογή μιας φ.ο. Ο συντελεστής παλινδρόμησης μπορεί να εκφραστεί με τους δύο παρακάτω ισοδύναμους τύπους:

$$r^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (C_i - O_i)^2}{\sum_{i=1}^n (O_i - \bar{O})^2} \quad (10.3)$$

όπου

n είναι ο συνολικός αριθμός των παρατηρήσεων

O_i είναι η i παρατηρούμενη τιμή

C_i είναι η i τιμή εκτιμώμενη με το επιλεγμένο μοντέλο

\bar{O} είναι η μέση τιμή των παρατηρούμενων τιμών

$$r^2 = 1 - \frac{RSS}{TSS} \quad (10.4)$$

όπου

RSS είναι το άθροισμα τετραγώνων των υπολειμμάτων (residual sum of squares)

TSS είναι το συνολικό άθροισμα των τετραγώνων (total sum of squares)

10.2.3. Επιλογή κινητικού μοντέλου

Στα κριτήρια για την επιλογή του μαθηματικού μοντέλου που περιγράφει την κινητική αποδόμησης των φ.ο., δηλαδή την εξέλιξη των συγκεντρώσεων με το χρόνο περιλαμβάνονται α. η απλότητα του μοντέλου που εξαρτάται από τον αριθμό των παραμέτρων που πρέπει να υπολογιστούν. Η περιγραφή της πορείας αποδόμησης με κινητική πρώτης τάξης περιλαμβάνει δύο παραμέτρους (C_0 , k) ενώ τα πιο σύνθετα μοντέλα δύο φάσεων απαιτούν 3 ή 4 παραμέτρους για τον ορισμό τους, β. η ακρίβεια του μοντέλου που μπορεί να αποτιμηθεί οπτικά, με την τιμή του συντελεστή παλινδρόμησης σπριμής του

σφάλματος της δοκιμής χ^2 . Τιμές του συντελεστή παλινδρόμησης μεγαλύτερες από 0,850 φανερώνουν αξιοπιστία στην περιγραφή της κινητικής πορείας αποδόμησης (EC Guidance Document on Soil Persistence, 2000). Σε περιπτώσεις όμως χρήσης της κινητικής εξίσωσης πρώτης τάξης, τιμή μεγαλύτερη του 0,700 μπορεί να θεωρηθεί αποδεκτή (Beulke and Brown, 2001). Λόγω της εξάρτησης του συντελεστή αυτού από την κλίση της καμπύλης αποδόμησης, πολύ μικρές τιμές στο ρυθμό αποδόμησης οδηγούν σε τιμές r^2 μικρότερες της ελάχιστης αποδεκτής τιμής ανεξάρτητα με την πραγματική ικανότητα προσαρμογής στα δεδομένα. Όσο αφορά το σφάλμα της δοκιμής χ^2 μπορεί να θεωρηθεί πιο αξιόπιστος δείκτης κυρίως επειδή η τιμή του δεν εξαρτάται από την κλίση της καμπύλης αποδόμησης και επιπλέον γιατί λαμβάνει υπόψη τους σχετικούς βαθμούς ελευθερίας. Ως ελάχιστο ποσοστιαίο σφάλμα για το οποίο η δοκιμή χ^2 θεωρείται επιτυχής ορίστηκε τιμή ίση ή μικρότερη από 15% (σε επίπεδο σημαντικότητας 5%). Η οπτική αποτίμηση χρησιμοποιήθηκε ως συμπληρωματικό μέσο για τον έλεγχο του κατά ποσό υπάρχει τυχαία ή συστηματική κατανομή θετικών και αρνητικών τιμών των υπολειμμάτων (*residuals*) γύρω από τον άξονα του χρόνου (FOCUS, 2006)

10.3. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

Οι συσχετίσεις μεταξύ των παραμέτρων της πορείας αποδόμησης ή προσρόφησης και των φυσικοχημικών ή βιολογικών παραμέτρων των βιομιγμάτων προσδιορίστηκαν με το συντέλεση *Pearson's* (r) που αναγνωρίζει συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων που ακολουθούν ευθύγραμμη συμμεταβολή. Τα δεδομένα μικροβιακής βιομάζας και μικροβιακής δραστηριότητας που ελήφθησαν στα διαφορετικά βιομίγματα στην πορεία του χρόνου επεξεργάστηκαν στατιστικά με τη μέθοδο *two-way analysis of variance* με στόχο την ανίχνευση των πιθανών επιδράσεων των παραγόντων χρόνος δειγματοληψίας ή βιομίγμα και τις πιθανές αλληλεπιδράσεις αυτών των παραγόντων. Στις περιπτώσεις όπου σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ δύο παραμέτρων είναι εμφανείς, υπολογίστηκαν οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των βιομιγμάτων στον ίδιο χρόνο δειγματοληψίας με τη χρήση του κριτηρίου *LSD* (*Least Significant Difference*) σε επίπεδο εμπιστοσύνης $p < 0,05$. Για τις στατιστικές αυτές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα *SPSS v.16.0.1*. Το ίδιο πρόγραμμα χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των παραμέτρων των κινητικών μοντέλων (*SFO* ή συνθέτου κινητικού μοντέλου) με τη μέθοδο της παλινδρόμησης ελάχιστου τετραγώνου (*least square regression*) καθώς και για την εκτίμηση του συντελεστή παλινδρόμησης (r^2). Όσο αφορά τη δοκιμή χ^2 (*chi square*), ο υπολογισμός των τιμών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια των υπολογιστικών φύλλων (*EXCEL*) των *Microsoft Office*. Για τη σύγκριση των κλίσεων των ευθειών (b) των πρότυπων καμπύλων για την εκτίμηση της επίδρασης του υποστρώματος εφαρμόστηκε η κατά ζεύγη δοκιμασία (*two tailed t-test*), όπως προτάθηκε από τον *Zar*, (1996), σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95%. Τέλος, το πρόγραμμα *TableCurve v.5.01* χρησιμοποιήθηκε για την εύρεση του καταλληλότερου μοντέλου (*non linear least square regression analysis*) για την περιγραφή της πορείας σχηματισμού και αποδόμησης των μεταβολιτών των *terbutylazine*, *metribuzin* και *chlorpyrifos*. Ως κριτήριο σύγκρισης των τιμών $t_{1/2}$ μεταξύ υποστρωμάτων για την ίδια φ.ο. χρησιμοποιήθηκαν τα όρια εμπιστοσύνης 95% της τιμής $t_{1/2}$, όπως προκύπτουν από τα αντίστοιχα όρια εμπιστοσύνης του ρυθμού αποδόμησης k . Τα όρια εμπιστοσύνης του ρυθμού αποδόμησης παράγονται από την εφαρμογή της μη-γραμμικής παλινδρόμησης στα αποτελέσματα της δοκιμής, με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος *SPSS*.

Μέτρηση φυσικοχημικών και βιολογικών παραμέτρων

11.1. Μετρήσεις φυσικοχημικών παραμέτρων

11.1.1. Μέτρηση οργανικού άνθρακα και διαλυτού οργανικού άνθρακα

Για τη μέτρηση της οργανικής ουσίας και του διαλυτού κλάσματος αυτής χρησιμοποιήθηκε η τροποποιημένη μέθοδος υγρής καύσης όπως περιγράφηκε από τους Nelson και Sommers, (1982). Με τη μέθοδο αυτή προσδιορίζεται ο οργανικός άνθρακας έμμεσα με δύο διαδοχικές αντιδράσεις οξειδοαναγωγής

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Κωνικές ευρύλαιμες φιάλες των 500 mL
- Ζυγός ακριβείας δύο δεκαδικών ψηφίων
- Σιφώνια πλήρωσεως 1, 10, 20 mL
- Πρότυπο διάλυμα $K_2Cr_2O_7$, 1N
- Πυκνό θειικό οξύ περιεκτικότητας 96%
- Πυκνό φωσφορικό οξύ περιεκτικότητας 85%
- Πρότυπος τιτλοδότης $FeSO_4$ 0,5 N
- Δείκτης διφαινυλαμίνης

Μέθοδος

Σε 4 κωνικές φιάλες των 500 mL ζυγίζονται 0,05-1 g αεροξηραθέντος και κωνιοτροποποιημένου υποστρώματος με διάμετρο κόκκων μικρότερη από 0,5 mm. Κατόπιν προστίθενται 10 mL διαλύματος $K_2Cr_2O_7$ και η φιάλη ανακινείται ελαφρά για ομοιόμορφη διασπορά του δείγματος. Ακολούθως προστίθενται 20 mL πυκνού θειικού οξέος, η φιάλη ανακινείται για ένα λεπτό και παραμένει σε ηρεμία για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστίθενται 200 mL απιονισμένου νερού, 10 mL φωσφορικού οξέος και 1 mL του δείκτη. Η περίσσεια $K_2Cr_2O_7$ ογκομετρείται με διάλυμα $FeSO_4$ μέχρι αλλαγής του χρώματος στο διάλυμα. Παράλληλα πραγματοποιείται και τυφλός προσδιορισμός της κανονικότητας του πρότυπου τιτλοδότη. Σε περίπτωση που ο όγκος του διαλύματος $FeSO_4$ που απαιτείται για την

εξουδετέρωση είναι μικρότερη από 4 mL η δοκιμή επαναλαμβάνεται χρησιμοποιώντας μικρότερες ποσότητες δείγματος. Ο οργανικός άνθρακας (OC%) υπολογίζεται από τη σχέση

$$OC\% = \frac{meq K_2Cr_2O_7 - meq FeSO_4}{g \text{ υποστρώματος}} \times 0,39 \quad (11.1)$$

Για τον υπολογισμό της αναλογίας διαλυτού οργανικού άνθρακα ποσότητα 0,070-1 g υποστρώματος ζυγίζεται σε φιαλίδια των 40 mL και προστίθενται 10 mL υπερκίθρου νερού. Οι φιάλες οδηγούνται σε οριζόντιο ανακινητήρα και ανακινούνται για 6 ώρες. Στη συνέχεια φυγοκεντρώνονται (10 min, 5000 rpm), φιλτράρονται (0,45 μm) και ποσότητα από το υπερκείμενο μεταφέρεται σε φιαλίδια των 10 mL που αποθηκεύονται στο ψυγείο (<24 ώρες) έως τη μέτρηση. Για τον υπολογισμό του διαλυτού άνθρακα χρησιμοποιείται η μέθοδος των Nelson και Sommers, (1982), όπως περιγράφηκε προηγουμένως με τη διαφορά ότι η ποσότητα του εκχυλίσματος που μεταφέρεται σε κάθε φιάλη αντίδρασης είναι 0,2-1 mL.

11.1.2. Μέτρηση αζώτου

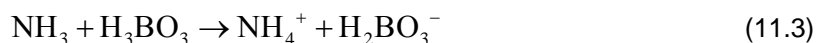
Για τη μέτρηση του συνολικού N στα βιομίγματα χρησιμοποιήθηκε η επίσημη μέθοδος AOAC, Official methods of Analysis 976.06. Το άζωτο που περιέχεται στα δείγματα μετατρέπεται σε NH₄ με την εν θερμώ κατεργασία με πυκνό H₂SO₄ και στη συνέχεια δεσμεύεται με τη μορφή αμμωνίας από βορικό οξύ.

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Πυκνό θειικό οξύ 96%
- Πρότυπος τιτλοδότης H₂SO₄ 0,05 N
- Ταμπλέτες antifoam
- Ταμπλέτες KJELTABS
- Βορικό οξύ 4%
- Διάλυμα NaOH 35%
- Διάλυμα H₃BO₄ 4%
- Δείκτης ερυθρό του μεθυλίου
- Συσκευή Kjeldahl
- Ειδική συσκευή πέψης
- Κωνική φιάλη των 100 mL
- Σιφώνια πληρώσεως των 25 mL

Μέθοδος

Σε γυάλινους σωλήνες της συσκευής καύσης ζυγίζεται ποσότητα του αεροξηραθέντος και κονιοροποιημένου υποστρώματος (0,5 έως 5 g). Προστίθεται ποσότητα 15 mL H₂SO₄ μαζί με δύο ταμπλέτες KJELTABS που περιέχουν σελίνιο (για αύξηση της ταχύτητας οξείδωσης της οργανικής ουσίας) καθώς και μια ταμπλέτα antifoam, για μείωση του αφρισμού. Η θερμοκρασία καύσης αρχικά ορίζεται στους 200° και παραμένει για 10 min. Ακολούθως η θερμοκρασία αυξάνεται σταδιακά έως τους 420°, όπου και παραμένει για 2 ώρες. Ειδικά για το έδαφος, λόγω του αυξημένου κινδύνου απώλειας σημαντικών ποσοτήτων N σε υψηλές θερμοκρασίες η μέγιστη θερμοκρασία καύσης ορίζεται στους 300° και ο χρόνος παραμονής σε 3 ώρες. Το υπόστρωμα παραμένει στη συσκευή για τουλάχιστο 6 ώρες για ψύξη. Οι γυάλινοι σωλήνες στη συνέχεια οδηγούνται στη συσκευή Kjeldahl όπου πραγματοποιείται η απόσταξη παρουσία ισχυρού αλκαλικού διαλύματος NaOH. Με την απόσταξη η NH₃ απομακρύνεται και συγκεντρώνονται σε κωνική φιάλη που περιέχει 25 mL διαλύματος H₃BO₄ και ποσότητα του δείκτη. Οι σειρά των αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα μετά την παραγωγή των NH₄⁺ είναι:



Το δισόξινο βορικό ανιόν που παράγεται είναι ισχυρή βάση και μπορεί ακολούθως να ογκομετρηθεί με αραιό διάλυμα θειικού οξέος 0,05 N. Για έλεγχο του τίτλου του διαλύματος θειικού οξέος μαζί με τα δείγματα χρησιμοποιείται και ένα τυφλό δείγμα.

11.1.3. Μέτρηση υγρασίας και υδατοχωρητικότητας

Όργανα – Σκεύη

- Φούρνος
- Ποτήρια ζέσεως των 100 και 250 mL
- Γυάλινα χωνιά
- Ζυγός
- Διηθητικό χαρτί Whatman No.1
- Αλουμινένια δοχεία

Μέθοδος

Για τον προσδιορισμό της υγρασίας ποσότητα (10 g) κάθε υποστρώματος (4 επαναλήψεις) μεταφέρεται σε προζυγισμένο αλουμινένιο δοχείο. Τα δείγματα μετά τη ζύγιση οδηγούνται σε φούρνο στους 110° για 12 ώρες και με το πέρας των 12 ωρών επαναζυγίζονται. Η περιεχόμενη υγρασία προσδιορίζεται από τον τύπο

$$MC = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_{cont}} \times 100\% \quad (11.4)$$

Όπου

MC είναι η υγρασία του εδάφους

W_1 το βάρος του δοχείου με το υπόστρωμα πριν την ξήρανση

W_2 το βάρος του δοχείου με το υπόστρωμα μετά την ξήρανση

W_{cont} το βάρος του δοχείου

Για τον προσδιορισμό της υδατοχωρητικότητας των υποστρωμάτων ποσότητα αυτών (20 g) τοποθετείται σε γυάλινο χωνί, στο εσωτερικό του οποίου προσαρμόστηκε διηθητικό χαρτί. Το υπόστρωμα διαβρέχεται με επανειλημμένες εφαρμογές ποσοτήτων απιονισμένου νερού μέχρι να επέλθει κορεσμός. Η ελεύθερη επιφάνεια του χωνιού καλύπτεται ώστε να αποκλειστεί η πιθανότητα απώλειας νερού μέσω εξάτμισης και το υπόστρωμα αφήνεται να στραγγίσει τη περίσσεια νερού. Η υδατοχωρητικότητα (WHC) υπολογίζεται από τον τύπο

$$WHC = \frac{(B - X) + (W_2 - W_1)}{X} \times 100\% \quad (11.5)$$

όπου

B είναι το βάρος του υποστρώματος

X το ξηρό βάρος του υποστρώματος

W_1 το βάρος χωνιού και διηθητικού χαρτιού προ της κατάκλισης

W_2 το βάρος χωνιού και διηθητικού χαρτιού μετά την κατάκλιση

Για το προσδιορισμό της ποσότητας νερού που πρέπει να προστεθεί σε υποστρώμα με σχετική υγρασία MC ώστε η υγρασία του να προσαρμοστεί σε συγκεκριμένο ποσοστό της υδατοχωρητικότητας (x%) χρησιμοποιείται η σχέση:

$$B_x = \frac{B}{1+MC} \times \left(1 + WHC \cdot \frac{x}{100} \right) \quad (11.6)$$

όπου

Bx το βάρος υποστρώματος με ποσοστιαία περιεχόμενη υγρασία ίση με x

B το βάρος υποστρώματος σχετικής υγρασίας MC

WHC η υδατοχωρητικότητα του υποστρώματος

11.1.4. Προσδιορισμός pH

Όργανα – Σκεύη

- Ποτήρια ζέσεως 100 mL
- Ζυγός ακριβείας δύο δεκαδικών ψηφίων
- Πεχάμετρο
- Οριζόντιος ανακινητής
- Μαγνητικός αναδευτήρας

Μέθοδος

Η μέτρηση του pH πραγματοποιήθηκε σε πάστα αεροξηραμένου υποστρώματος/νερού σε αναλογία 1:5 ή 1:10. Σε ποτήρι ζέσεως των 100 mL τοποθετήθηκαν 10 g κοσκινισμένου υποστρώματος και προστέθηκαν 50 mL απιονισμένου νερού με εξαίρεση τα μίγματα τύρφης, το άχυρο και τους σπάδικες αραβόσιτου όπου, λόγω της μεγάλης απορροφητικότητας των υλικών, χρησιμοποιήθηκε διπλάσια ποσότητα νερού. Ακολούθησε ανακίνηση σε επιτραπέζιο μαγνητικό αναδευτήρα για 10 λεπτά και παραμονή σε ηρεμία για 5 λεπτά. Για τη μέτρηση του pH χρησιμοποιήθηκε πεχάμετρο υψηλής ευκρίνειας το οποίο είχε προηγουμένως βαθμονομηθεί με τη βοήθεια πρότυπων ρυθμιστικών διαλυμάτων με τιμές pH 4 και 7.

11.1.5. Προσδιορισμός λιγνίνης

Για τον προσδιορισμό της λιγνίνης στα οργανικά υποστρώματα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος με ακέτυλο βρωμίδιο (acetyl bromide), όπως περιγράφηκε από τον Morrison, (1972), λαμβάνοντας υπόψη τις τροποποιήσεις που προτάθηκαν από τους Hatfield et al., (1999). Η δοκιμή αυτή αναπτύχθηκε αρχικά ως ταχεία πλην ευαίσθητη μέθοδος προσδιορισμού των συγκεντρώσεων λιγνίνης σε ξυλώδη υποστρώματα, αλλά στη συνέχεια η χρήση της επεκτάθηκε και σε άλλα φυτικά υποστρώματα. Για αξιόπιστα και επαναλήψιμα αποτελέσματα απαιτείται αρχικός καθαρισμός των δειγμάτων που περιλαμβάνει διαδοχικές εκχυλίσεις με απιονισμένο νερό, μεθανόλη, ακετόνη, αιθυλική αλκοόλη, οξικό αιθυλεστέρα και εξάνιο. Η προετοιμασία των δειγμάτων περιελάμβανε μεταφορά 1 g κονιορτοποιημένου, ξηρού υποστρώματος σε φιάλη των 100 mL και προσθήκη ποσότητας 30 mL εκχυλιστικού μέσου. Για την εκχύλιση οι φιάλες τοποθετήθηκαν σε ανακινητή για χρονικό διάστημα μεταξύ 30 λεπτών και 6 ωρών. Ο αρχικός αυτός καθαρισμός είναι απαραίτητος για την αφαίρεση συστατικών του υποστρώματος που ενδέχεται να επηρεάσουν την ακρίβεια της φωτομέτρησης. Κανένας από τους παραπάνω διαλύτες δεν είναι σε θέση να διαλυτοποιήσει την περιεχόμενη στα υποστρώματα λιγνίνη.

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Ακέτυλο βρωμίδιο (25% σε οξικό οξύ)
- Οξικό οξύ
- Διάλυμα NaOH 2M
- Υδροξυλαμίνη υδροχλωρική (0,5 M)
- Φωτόμετρο
- Ογκομετρικές φιάλες των 50 mL
- Φιαλίδια των 12 mL
- Φούρνος
- Κυψελίδες από χαλαζία

Μέθοδος

Ποσότητα υποστρώματος που έχει υποστεί το προηγούμενο στάδιο καθαρισμού (20 mg) μεταφέρθηκε σε βιδωτά φιαλίδια των 12 mL μαζί με 2,5 mL διαλύματος ακέτυλο βρωμίδιου. Μαζί με τα φιαλίδια που περιείχαν τα υποστρώματα προετοιμάστηκε και ένα τυφλό δείγμα. Τα μπουκάλια σφραγίστηκαν ερμητικά και μεταφέρθηκαν σε φούρνο στους 50°C όπου παρέμειναν για 4 ώρες. Σε τακτά χρονικά διαστήματα τα φιαλίδια ανακινούνταν για να διευκολυνθεί η διαλυτοποίηση του δείγματος. Μετά, τα δείγματα αφέθησαν να επανέλθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ακολούθως το περιεχόμενο κάθε φιαλιδίου μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL με τη βοήθεια μικρής ποσότητας οξικού οξέος. Στη φιάλη προστέθηκαν διαδοχικά 10 mL διαλύματος NaOH και 1,75 mL υδροχλωρικής υδροξυλαμίνης και οξικό οξύ μέχρι τη χαραγή. Ακολούθως το διάλυμα οδηγήθηκε στο φωτόμετρο για μέτρηση της απορρόφησης σε μήκος κύματος 280 nm. Για τον μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιήθηκε το διάλυμα που προέκυψε από το τυφλό δείγμα. Η συγκέντρωση της λιγνίνης υπολογίζεται από τη σχέση:

$$Abs = C_s \times absorptivity \quad (11.7)$$

όπου

Abs είναι η απορρόφηση στα 280 nm

C_s είναι η συγκέντρωση της λιγνίνης και

absorptivity είναι ο συντελεστής απορρόφησης ίσος με $20 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$

11.1.6. Προσδιορισμός ολικών φαινολικών

Η μέτρηση των ολικών φαινολικών που περιέχονται στα οργανικά υποστρώματα στηρίχθηκε στη φωτομετρική μέθοδο που περιγράφηκε από τους Swain και Hillis, (1959) χρησιμοποιώντας ως πρότυπη ουσία για το σχηματισμό της καμπύλης αναφοράς το γαλλικό οξύ

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Διάλυμα Folin-Ciocalteu (αραίωση 1:10 με νερό)
- Διάλυμα Na_2CO_3 ($0,075 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
- Γαλλικό οξύ 0,5%
- Αναδευτήρας Vortex
- Γυάλινοι, βιδωτοί δοκιμαστικοί σωλήνες των 20 mL
- Συσκευή φυγοκέντρωσης
- Οριζόντιος ανακινήτης
- Σιφώνια πληρώσεως 2-10 mL
- Φιάλες των 40 mL με βιδωτό πώμα

Μέθοδος

Για την παραλαβή των ολικών φαινολικών από τα υποστρώματα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος που περιγράφηκε από τους Erhart et al., (1999). 2 g αεροξηραθέντος λεπτοκοσκινισμένου υποστρώματος ζυγίστηκαν σε φιάλες των 40 mL και προστέθηκαν 10 mL διαλύματος μεθανόλης/νερού (80:20). Μετά από ανακίνηση (2 ώρες, 250 rpm) και φυγοκέντρηση (10 min, 4500 rpm), ποσότητα του υπερκείμενου μεταφέρθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα. Τα εκχυλίσματα που προήλθαν από τύρφη, ελαιόφυλλα και φλούδες πορτοκαλιού αραιώθηκαν με το διάλυμα μεθανόλης/νερού σε αναλογίες 1:2, 1:40 και 1:20 αντίστοιχα.

Για τη μέτρηση των φαινολικών ποσότητα 2 mL του τελικού εκχυλίσματος κάθε υποστρώματος (ή πρότυπου διαλύματος γαλλικού οξέος) μεταφέρθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα μαζί με 2 mL απιονισμένου νερού. Προστέθηκαν 10 mL του διαλύματος Folin-Ciocalteu και ακολούθησε ανακίνηση σε vortex για 30 sec. Κατόπιν προστέθηκαν 8 mL διαλύματος Na_2CO_3 , ακολούθησε εκ νέου ανακίνηση και παραμονή για 1 ώρα σε υδατόλουτρο σε σταθερή θερμοκρασία 30°C. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες μεταφέρθηκαν στο ψυγείο (5° C) για μισή ώρα και μετά αφήνονταν να αποκτήσουν τη θερμοκρασία του χώρου πριν από τη μέτρηση. Κάθε σειρά μέτρησης συμπεριελάμβανε και λευκό δείγμα που χρησιμοποιήθηκε για το μηδενισμό του οργάνου. Η μέτρηση της απορρόφησης των διαλυμάτων πραγματοποιήθηκε στα 760 nm. Για το σχηματισμό της πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα με εύρος συγκεντρώσεων 25-400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

11.2. Μετρήσεις μικροβιακής βιομάζας και μικροβιακής δραστηριότητας

Παρά το γεγονός ότι η μικροβιακή βιομάζα αντιστοιχεί μόλις στο 1-3% του οργανικού άνθρακα του εδάφους, αποτελεί χρήσιμο όσο και ευαίσθητο δείκτη των αλλαγών των βιολογικών χαρακτηριστικών των εδαφών καθώς και σημαντικό γνώρισμα της ποιότητας της οργανικής ύλης. Η μικροβιακή βιομάζα εδάφους αποκρίνεται πολύ πιο γρήγορα σε σχέση με άλλα χαρακτηριστικά του εδάφους στις μεταβαλλόμενες συνθήκες, όπως είναι η προσθήκη οργανικών υποστρωμάτων ή φ.ο. Το μέγεθος της επίδρασης των φ.ο. στη μικροβιακή κοινότητα και στις μικροβιακές διεργασίες του εδάφους εξαρτάται από τις φυσικές, χημικές και βιοχημικές ιδιότητες του υποστρώματος, καθώς και από τη φύση και συγκέντρωση των φ.ο. που εφαρμόζονται.

11.2.1. Συνολική βιομάζα άνθρακα

Η μέτρηση της συνολικής βιομάζας στα υποστρώματα στηρίχθηκε στη μέθοδο της νινυδρίνης όπως αρχικά περιγράφηκε από τους Joergesen και Brookes, (1990) και τροποποιήθηκε από τους Mele και Carter, (1996). Η μέθοδος στηρίζεται στη μέτρηση των ενεργών, για αντίδραση με τη νινυδρίνη, συστατικών της βιομάζας δηλαδή τα αμινοξέα, πεπτιδία και πρωτεΐνες που απελευθερώνονται με τη λύση των κυτταρικών μεμβρανών με τη βοήθεια ατμών χλωροφόρμιου. Η αντίδραση με τη νινυδρίνη των ενώσεων που περιέχουν N και φέρουν και φέρουν ελεύθερη α-άμινο ομάδα οδηγεί στο σχηματισμό συμπλόκων που μετρούνται φωτομετρικά παρέχοντας έτσι μια γρήγορη και ευαίσθητη εκτίμηση της ποσότητας της βιομάζας εδάφους. Από τη μέτρηση του απελευθερωμένου αζώτου μπορεί να υπολογιστεί τη βιομάζα C του εδάφους με τη χρήση της εμπειρικής εξίσωσης

$$C = 21 \times \text{ninhydrin} - N \quad (11.8)$$

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Φιάλες των 500 mL
- Διάλυμα KCl 2M
- Νινυδρίνη
- Χλωροφόρμιο απαλλαγμένο από υπολείμματα αιθανόλης
- Διάλυμα αιθανόλης – νερού 50/50 (vol.%)
- Φασματοφωτόμετρο
- Υδατικά διαλύματα λευκίνης (0-10 N σε KCl 2 M)
- Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 mL
- Φούρνος
- Υδατόλουτρο

Μέθοδος

Ποσότητα φρέσκου και υγρού υποστρώματος (20 g για το εδάφους ή 4 g για τα οργανικά υποστρώματα) ζυγίστηκε σε φιάλες των 500 mL και 2 mL χλωροφορμίου εφαρμόστηκαν στα τοιχώματα των φιαλών. Παράλληλα προετοιμάστηκε και δείγμα στο οποίο όμως δεν εφαρμόστηκε το χλωροφόρμιο για να χρησιμοποιηθεί ως μάρτυρας. Οι φιάλες πωματίστηκαν με το βιδωτό πώμα το οποίο καλύπτεται και με ταινία parafilm, ώστε να αποφευχθεί η απώλεια χλωροφόρμιου και στη συνέχεια επωάστηκαν στους 30° C για 7 ημέρες. Με το πέρας της περιόδου επώασης τα δείγματα που περιείχαν χλωροφόρμιο τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα κενού για απομάκρυνση των ατμών χλωροφόρμιου. Ακολούθως, στα δείγματα προστέθηκαν 50 mL του διαλύματος KCl και ακολούθησε ανακίνηση για 1 ώρα (250 rpm) και φυγοκέντρηση (5 min, 4500 rpm). Ποσότητα 1 mL από το υπερκείμενο διάλυμα μεταφέρεται σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα μαζί με 0,5 mL νινυδρίνης και το σύνολο των σωλήνων τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο, σε θερμοκρασία βρασμού. Οι σωλήνες με το πέρας 20 λεπτών απομακρύνθηκαν από το υδατόλουτρο και αφέθηκαν να αποκτήσουν τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το περιεχόμενο κάθε σωλήνα μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL η οποία συμπληρώθηκε με διάλυμα αιθανόλης-νερού. Ακολούθησε ανάδευση σε vortex και μέτρηση της απορρόφησης σε 570 nm. Για την παραγωγή της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα λευκίνης (2-10 N) σε KCl 2M.

11.2.2. Μέτρηση της μικροβιακής αναπνοής

Η SIR (*substrate induced respiration*) είναι μια απλή, γρήγορη και οικονομική μέθοδος για τον προσδιορισμό της μικροβιακής δραστηριότητας σε εδάφη και υπολείμματα καλλιεργειών (Voroney et al., 1993). Βασική προϋπόθεση για να δώσει η μέθοδος αυτή ικανοποιητικά αποτελέσματα είναι η μέτρηση του CO₂ να γίνεται εντός λίγων ωρών μετά την προσθήκη της πηγής άνθρακα, καθώς η μέτρηση θα πρέπει να γίνει πριν η προσθήκη της γλυκόζης οδηγήσει σε αύξηση της συνολικής βιομάζας λόγω πολλαπλασιασμού των μικροβιακών πληθυσμών που την αφομοιώνουν. Σε σύγκριση με άλλες μεθόδους εκτίμησης της μικροβιακής βιομάζας του εδάφους η SIR μέθοδος εμφανίζει ορισμένα πλεονεκτήματα, όπως ότι είναι σχετικά απλή και γρήγορη μέθοδος, ότι αναφέρεται στο φυσιολογικά ενεργό τμήμα της μικροβιακής κοινότητας και ότι όταν χρησιμοποιείται με εκλεκτικούς αναστολείς επιτρέπει το διαχωρισμό της επίδρασης των προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών πληθυσμών στη συνολική φυσιολογική απόκριση (Beare et al., 1990).

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Γυάλινες φιάλες των 500 mL
- Ποτήρια ζέσεως των 25 mL
- Διάλυμα KOH 0,05 M
- Διάλυμα HCl 0,05 M
- Δείκτης φαινολοφθαλεΐνης
- Γλυκόζη

➤ Προχοίδα

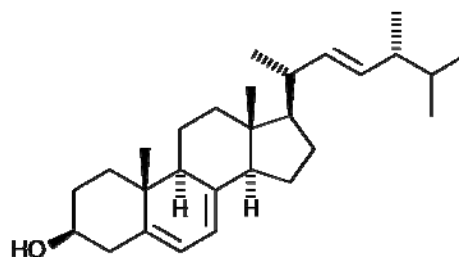
➤ Θάλαμος επώασης

Μέθοδος

Σε γυάλινες φιάλες των 500 mL μεταφέρθηκαν 10 g υποστρώματος. Στη συνέχεια προστέθηκε γλυκόζη σε αναλογία 2 mg·g⁻¹ υποστρώματος. Για πιο ομοιόμορφη ενσωμάτωση της γλυκόζης αυτή αναμίχθηκε με αδρανή τάلكη σε αναλογία 1:9. Ποτήρι ζέσεως που περιέχει 10 mL διαλύματος ΚΟΗ (παγίδα CO₂) που παρασκευάστηκε την ίδια μέρα τοποθετήθηκε στο κέντρο της φιάλης και η φιάλη σφραγίστηκε ερμητικά με parafilm. Η φιάλη τοποθετήθηκε σε θάλαμο επώασης στους 20°C για τρεις ώρες. Με το τέλος της περιόδου επώασης τα ποτήρια ζέσεως απομακρύνθηκαν από τη φιάλη και η περίσσεια του ΚΟΗ, που δεν αντέδρασε με το παραγόμενο CO₂, εξουδετερώθηκε μετά από τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα ΗCl. Ο έλεγχος του τίτλου του ΚΟΗ πραγματοποιήθηκε με ογκομέτρηση με πρότυπο διάλυμα ΗCl, που απαιτείται για την εξουδετέρωση 10 mL του αλκαλικού διαλύματος της ίδιας κανονικότητας. Παράλληλα με τα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν και κενές φιάλες ως λευκά δείγματα, για τη διόρθωση της τελικής τιμής από την ποσότητα ατμοσφαιρικού CO₂ που περιέχονταν στη φιάλη.

11.2.3. Μέτρηση εργοστερόλης

Η εργοστερόλη (*ergosta-5,7,22-trien-3β-ol*) απαντάται στο φωσφολιπιδικό στρώμα των κυτταρικών μεμβρανών των μυκήτων κυρίως με τη μορφή ελεύθερης εργοστερόλης και σε μικρότερο βαθμό ως εστεροποιημένη με λιπαρά οξέα (Montgomery et al., 2000) και παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των μυκήτων επηρεάζοντας τη σύνθεση των εξωτταρικών



Εικόνα 11.1. Χημική δομή του μορίου της εργοστερόλης

τοιχωμάτων και τη δραστηριότητα ενζύμων συνδεδεμένων στις κυτταρικές μεμβράνες (Hart and Brookes, 1996). Ως μοριακός δείκτης της μυκητιακής βιομάζας η εργοστερόλη εμφανίζει σημαντικά πλεονεκτήματα. Η απόσπαση της από τα υποστρώματα στα οποία περιέχεται και η ακόλουθη μέτρηση της σε σύστημα HPLC είναι γενικά εύκολη διαδικασία. Μειονέκτημα της χρήσης της εργοστερόλης στην εκτίμηση της βιομάζας είναι η μεγάλη διαφοροποίηση της περιεκτικότητας σε εργοστερόλη μεταξύ διαφορετικών ειδών μυκήτων στα φυσικά εδαφικά περιβάλλοντα.

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Μεθανόλη
- Διάλυμα ΚΟΗ 4%
- Αναδευτήρας
- Υδατόλουτρο
- Εξάνιο
- Συσκευή φυγοκέντρησης
- Συσκευή παραγωγής υπερήχων
- Εργοστερόλη
- Σιφώνια διαφόρων μεγεθών
- Φιαλίδια των 40 mL
- Περιτροφικός εξατμιστήρας κενού

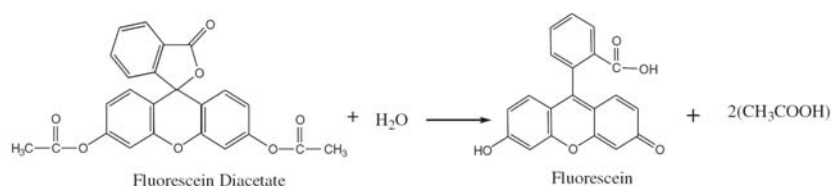
Μέθοδος

Ποσότητα 1 g (ξ.β) κάθε υποστρώματος μεταφέρθηκε σε φιαλίδια των 40 mL και προστίθεται 5 mL μεθανόλης. Τα φιαλίδια μεταφέρθηκαν σε συσκευή υπερήχων για 10 min και ακολούθως σε οριζόντιο

ανακινητή (250 rpm, 1 h). Μετά από φυγοκέντρηση (4500 rpm, 5 min) το υπερκείμενο μεθανολικό διάλυμα μεταφέρθηκε με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur σε παρόμοιο φιαλίδιο των 40 mL. Το αρχικό δείγμα εκχυλίστηκε εκ νέου με άλλα 5 mL μεθανόλης και στις ίδιες συνθήκες ανακίνησης, φυγοκέντρησης και παραλαβής. Τα μεθανολικά διαλύματα των δύο διαδοχικών εκχυλίσεων αναμιγνύθηκαν στη γυάλινη φιάλη, προστέθηκαν 2 mL διαλύματος KOH 4% και το φιαλίδιο τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας 90°C για 30 min. Μετά την επώαση των δειγμάτων τα φιαλίδια αφήνονται να αποκτήσουν τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος και ακολούθως το περιεχόμενο τους μεταφέρθηκε σε διαχωριστική χοάνη μαζί με 40 mL απιονισμένου νερού. Ακολούθησε προσθήκη 10 mL εξάνιου και ήπια ανακίνηση της χοάνης για 30 sec. Το υπερκείμενο διάλυμα εξάνιου απομακρύνθηκε και η εκχύλιση επαναλήφθηκε με ίδιο όγκο εξάνιου. Το συνδυασμένο διάλυμα εξάνιου μεταφέρθηκε σε γυάλινη σφαιρική φιάλη και εξατμίζεται μέχρι ξηρού σε περιστροφικό εξατμιστήρα. Η εργοστερόλη παρελήφθηκε με 2 mL μεθανόλης, μεταφέρθηκε σε φιαλίδια χρωματογραφίας και αποθηκεύτηκε μέχρι την χρωματογραφική ανάλυση. Η χρωματογραφική ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας, σε στήλη Zorbax SB-C18 (4,6 mm ID x 150 mm x 5 µm) και σε ισοκρατικές συνθήκες λειτουργίας. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε ήταν μεθανόλη 100%, η ροή 2 mL min⁻¹, ενώ το μήκος κύματος λειτουργίας του ανιχνευτή ήταν 282 nm (**παράρτημα, διάγραμμα Β**).

11.2.4. Μέτρηση υδρολυτικής ενζυμικής δραστηριότητας

Η υδρόλυση της δισοξικής φλουοροσεΐνης (fluorecein diacetate, FDA) αποτελεί μια ακριβή, ευαίσθητη και απλή μέθοδο μέτρησης της υδρολυτικής μικροβιακής δραστηριότητας σε μεγάλο εύρος περιβαλλοντικών δειγμάτων, συμπεριλαμβανομένου και του εδάφους. Στηρίζεται στην υδρόλυση της ουσίας FDA από ένα σύνολο ενζύμων μεταξύ των οποίων μη εξειδικευμένες εστεράσες, πρωτεάσες και λιπάσες. Η ικανότητα για υδρόλυση του FDA (**εικόνα 11.2**) φαίνεται να είναι ιδιαίτερα διαδομένη κυρίως μεταξύ βακτηρίων και μυκήτων (Schnurer and Rosswall, 1982). Ο προσδιορισμός της μικροβιακής δραστηριότητας στο έδαφος με τη μέθοδο FDA έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται στενά με μερικές από τις πιο ακριβείς μετρήσεις της μικροβιακής βιομάζας



Εικόνα 11.2. Ενζυμικά ελεγχόμενη αντίδραση υδρόλυσης της δισοξικής φλουοροσεΐνης

Η μέθοδος στηρίζεται στην ενζυμική μετατροπή του FDA σε φλουοροσεΐνη είναι κυρίως υδρολυτική διεργασία και το τελικό προϊόν απορροφά ισχυρά σε μήκος κύματος 470 nm (Adam and Duncan, 2001)

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Διάλυμα Fluorescein diacetate-FDA (1000 µg·mL⁻¹) σε ακετόνη
- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 60mM
- Πρότυπα διαλύματα fluorescein (0-10 µg·mL⁻¹) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών

- Διάλυμα χλωριοφόρμιου/μεθανόλης 2:1
- Αναδευτήρας με οριζόντια κίνηση
- Κωνικές φιάλες των 100 mL
- Σιφώνια διαφόρων μεγεθών
- Ζυγός ακριβείας δύο δεκαδικών

Μέθοδος

Σε κωνικές φιάλες ζυγίζεται ποσότητα φρέσκου υποστρώματος που αντιστοιχεί σε 2 g ξηρού βάρους και προστίθενται 15 mL από το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών. Στη συνέχεια σε κάθε κωνική μεταφέρονται 0,2 mL πρόσφατου διαλύματος FDA. Το στόμιο της κωνικής σφραγίζεται προσεκτικά με parafilm και το κάθε δείγμα ανακινείται πρώτα με το χέρι και στη συνέχεια στον οριζόντιο αναδευτήρα (200 rpm) για 20 λεπτά. Το σύνολο της διεργασίας πραγματοποιείται κάτω από σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας ($23^{\circ} \pm 1$). Αμέσως μετά την ανάδευση προστίθεται σε κάθε φιάλη 15 mL μίγματος χλωροφορμίου και μεθανόλης για διακοπή της αντίδρασης υδρόλυσης και το περιεχόμενο των κωνικών φιαλών μεταφέρθηκε σε ποτήρια φυγοκέντρησης. Ακολουθεί φυγοκέντρηση (4500 rpm) για 5 λεπτά, παραλαβή του υπερκείμενου και μέτρηση της απορρόφησης του στα 490 nm. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της φλουοροσεΐνης στα δείγματα κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα άλατος νατρίου φλουοροσεΐνης (*fluorescein sodium salt*). Εκτός από τα κανονικά δείγματα προετοιμάζονται δείγματα μάρτυρες για κάθε ένα από τα υπό μέτρηση υποστρώματα στα οποία προστέθηκαν όλα τα αντιδραστήρια εκτός από το FDA διάλυμα. Η μέτρηση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε για διόρθωση της τιμής της απορρόφησης στα κανονικά δείγματα.

11.3. Μετρήσεις ενζυμικής δραστηριότητας φαινολοξειδασών

11.3.1. Εκχύλιση των ενζύμων από τα βιομίγματα

Η μέτρηση της δραστηριότητας των ενζύμων Lac, MnP και LiP πραγματοποιήθηκε μετά την παραλαβή των ενζύμων από τα οργανικά υποστρώματα με τη βοήθεια ρυθμιστικού διαλύματος. Για το λόγο αυτό προκαταρκτικές δοκιμές με τη χρήση διαφόρων ρυθμιστικών διαλυμάτων που έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για την εκχύλιση των φαινολοξειδασών από κοινά οργανικά υποστρώματα ήταν απαραίτητες ώστε να προσδιοριστεί η βέλτιστη σύσταση, μοριακότητα και τιμή pH του ρυθμιστικού διαλύματος. Τα ρυθμιστικά διαλύματα που δοκιμάστηκαν ήταν Na-acetate, succinate-lactate και Na-K phosphate που προτάθηκαν σε προηγούμενες εργασίες (Lang et al, 1998; Lang et al., 1997a; Castillo and Torstensson, 2007). Για τον υπολογισμό της βέλτιστης μοριακότητας και οξύτητας του διαλύματος παρασκευάστηκαν διαλύματα και των τριών ρυθμιστικών σε συγκεντρώσεις 0,05 , 0,10 και 0,18 M και σε τιμές pH 4,5 , 5 και 6. Το εύρος αυτό των τιμών pH επιλέχθηκε γιατί και τα τρία ένζυμα εμφανίζουν μεγαλύτερη σταθερότητα στη συγκεκριμένη περιοχή τιμών. Τα υποστρώματα που επιλέχθηκαν για τη δοκιμή αυτή είναι SMS του μύκητα *P. ostreatus* και βιομίγμα που περιείχε άχυρο, κομπόστα από ελαιόφυλλα και έδαφος σε ογκομετρική αναλογία 2:1:1. Το ρυθμιστικό διάλυμα Na-acetate συγκέντρωσης 0,05 M και τιμή pH 5 έδωσε σημαντικά υψηλότερες τιμές Lac σε σχέση με τα άλλα διαλύματα και ίδιες ή ελάχιστα καλύτερες τιμές για τη MnP. Η δραστηριότητα του ενζύμου LiP δεν ανιχνεύτηκε σε κανένα από τα υποστρώματα. Με την επιλογή του ρυθμιστικού διαλύματος πραγματοποιήθηκε και μια επιπλέον δοκιμή για να διαπιστωθεί η επίδραση της παραμονής του υποστρώματος σε πάγο ή της ανακίνησης σε θερμοκρασίες δωματίου στην ποσότητα των ενζύμων που παραλαμβάνεται. Διαπιστώθηκε ότι η ποσότητα των ενζύμων που παραλαμβάνεται μετά από

ανακίνηση είναι υψηλότερη αυτής που παραλαμβάνεται με τη διατήρηση των εκχυλισμάτων στο ψυγείο.

Για την παραλαβή των ενζύμων ποσότητα φρέσκου και υγρού υποστρώματος που αντιστοιχεί σε 3 g (ξ.β.) μεταφέρθηκαν σε φιαλίδια των 40 mL και προστέθηκαν 6 ml ρυθμιστικού διαλύματος Na-acetate 0,05 M, pH 5. Τα φιαλίδια αρχικά μεταφέρθηκαν σε συσκευή υπερήχων για 10 λεπτά και στη συνέχεια σε ανακινητή (2 h, 250 rpm). Ακολούθησε φυγοκέντρηση (10 min, 4500 rpm), παραλαβή του υπερκείμενου και διήθηση από μικροφίλτρα νάilon με μέγεθος πόρων 0,45 μm. Το εκχύλισμα διατηρήθηκε στο ψυγείο μέχρι τη φωτομέτρηση, η οποία σε κάθε περίπτωση πραγματοποιήθηκε εντός 24 ωρών.

11.3.2. Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας λακάσης

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Αυτόματη πιπέτα του 1 mL
- Αποστειρωμένα ακρορύγχια μικροπιπετών
- Φασματοφωτόμετρο
- Χρονόμετρο
- Πεχάμετρο
- Αντιδραστήριο ABTS (1,5 mM)
- Τρυγικό νάτριο (0,1 M; pH 4.5)

Μέθοδος

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε αναπτύχθηκε από τους Scrinivasan et al., (1995). Σε κυψελίδα πάχους 1 cm μεταφέρθηκαν με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας 1,2 mL τρυγικού νατρίου και 0,8 mL του δείγματος. Με την προσθήκη του δείγματος η κυψελίδα τοποθετήθηκε στην ειδική υποδοχή του φωτόμετρου (425 nm) και το όργανο μηδενίστηκε. Για την εκκίνηση της ενζυμικής αντίδρασης προστέθηκαν 0,4 mL ABTS που αναδεύτηκε με τον υπόλοιπο όγκο στην κυψελίδα. Κατόπιν, πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές μετρήσεις της απορρόφησης κάθε 30 sec μέχρι το τέλος της αντίδρασης. Για τη χρονόμετρηση χρησιμοποιήθηκε επιτραπέζιο χρονόμετρο. Η ενζυμική δραστηριότητα του ένζυμου εκφράζεται με τη σχέση

$$\text{Enzyme activity} = \frac{dA_{425}}{E \cdot I \cdot dt} \times V_{\text{reaction}} \times 1000 \quad (11.9)$$

όπου

dA_{425} είναι η μεταβολή της απορρόφησης σε χρόνο dt (min)

I είναι το πάχος της κυψελίδας σε cm

E είναι ο μοριακός συντελεστής μετατροπής ίσος με $3,6 \times 10^4 \text{ L} \cdot (\text{moles} \cdot \text{cm})^{-1}$

V_{reaction} είναι ο συνολικός όγκος του διαλύματος στην κυψελίδα ίσος με 2,4 mL

Η ενζυμική δραστηριότητα εκφράζεται σε U ($\mu\text{moles} \cdot \text{min}^{-1}$)

11.3.3. Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας μαγγάνιο-υπεροξειδάσης

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Αυτόματη πιπέτα του 100 μL - 1 mL
- Αποστειρωμένα ακρορύγχια μικροπιπετών
- Φασματοφωτόμετρο
- Πεχάμετρο
- Διάλυμα ηλεκτρικού-γαλακτικού οξέος (0,1 M; pH 4,5)
- Αντιδραστήριο DMAB 25 mM
- Αντιδραστήριο MBTH 1mM
- 20 mM MnSO₄
- 10 mM H₂O₂
- Ηλεκτρονικό χρονόμετρο

Μέθοδος

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε αναπτύχθηκε από τους Castillo et al., (1997). Με τη μέθοδο που αυτή υπολογίζεται η συνολική δραστηριότητα της MnP ως άθροισμα της ανεξάρτητης και εξαρτημένης από το Mn υπεροξειδάσης. Για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας του ένζυμου MnP προστέθηκαν σε κυψελίδα διαδοχικά 1 mL διαλύματος ηλεκτρικού-γαλακτικού, 0,2 mL διαλύματος DMAB, 0,1 mL διαλύματος MBTH, 0,66 mL δείγματος. Με την τοποθέτηση της κυψελίδας στο φασματοφωτόμετρο και το μηδενισμό του οργάνου στην κυψελίδα προστίθεται 0,01 mL διαλύματος $MnSO_4$ συγκέντρωσης 20 mM και 0,01 mL διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2). Το χρονικό αυτό σημείο ορίζεται ως χρόνος εκκίνησης της αντίδρασης. Ακολουθεί καταγραφή της απορρόφησης του διαλύματος στα 590 nm σε σταθερά χρονικά διαστήματα των 30 sec μέχρι την ολοκλήρωση της αντίδρασης. Η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνεται εκ νέου με τη διαφορά ότι στο διάλυμα δεν προστίθενται τα διαλύματα $MnSO_4$ και υπεροξειδίου του υδρογόνου ώστε να αφαιρεθεί από την τελική τιμή η απόκριση του οργάνου που οφείλεται στην παρεμβολή του υποστρώματος. Για τον υπολογισμό της ενζυμικής δραστηριότητας χρησιμοποιείται η **εξίσωση 11.9** με τη διαφορά ότι η τιμή της E είναι ίση με $3,2 \times 10^4$ και ο όγκος της αντίδρασης είναι 2 mL

11.3.4. Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας υπεροξειδάσης της λιγνίνης

Όργανα – Σκεύη – Αντιδραστήρια

- Αυτόματη πιπέτα 100 μ L - 1 mL
- Αποστειρωμένα ακρορύγχια μικροπιπετών
- Φασματοφωτόμετρο
- Ηλεκτρονικό χρονόμετρο
- Πεχάμετρο
- Αντιδραστήριο βερατρλικής αλκοόλης (20 mM)
- Τρυγικό νάτριο (0,1 M; pH 3)
- H_2O_2 (54 mM)

Μέθοδος

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε αναπτύχθηκε από τον Kirk, (1988). Για τον προσδιορισμό της ενζυμικής δραστηριότητας της LiP προστέθηκαν σε κυψελίδα 1,6 mL τρυγικού νατρίου, 0,8 mL δείγματος και 0,07 mL διαλύματος βερατρλικής αλκοόλης. Για την εκκίνηση της ενζυμικής αντίδρασης προστέθηκαν 0,03 mL διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου που αναδεύτηκαν με τον υπόλοιπο όγκο της κυψελίδας. Κατόπιν, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της απορρόφησης στα 310 nm κάθε 30 sec μέχρι το πέρας της αντίδρασης. Για τη μέτρηση της δραστηριότητας του ένζυμου είναι απαραίτητη η διόρθωση του αποτελέσματος με την τιμή της ενζυμικής δραστηριότητας της οξειδάσης της βερατρλικής αλκοόλης καθώς αμφότερα τα ένζυμα δρουν στο ίδιο υπόστρωμα (βερατρλική αλκοόλη). Για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της οξειδάσης της βερατρλικής αλκοόλης ακολουθείται η ίδια διαδικασία με τη διαφορά ότι δεν προστίθεται H_2O_2 . Για την εκτίμηση της ενζυμικής δραστηριότητας στην οξειδάση της βερατρλικής αλκοόλης και της LiP χρησιμοποιείται ο συντελεστής $E=9,3 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{moles}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Πειραματικό μέρος

Αποτελέσματα

Επικύρωση αναλυτικής μεθοδολογίας

12.1. Δοκιμές αποδόμησης

12.1.1. Προκαταρκτικές δοκιμές

Επιλογή διαλύτη εκχύλισης

Η δοκιμή αυτή αποσκοπούσε στη επιλογή κατάλληλου εκχυλιστικού μέσου για τη βελτιστοποίηση της ανάκτησης των εξεταζόμενων ουσιών από τα τεχνητά εμβολιασμένα υποστρώματα. Στον **πίνακα 12.1** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των δοκιμών ανάκτησης με τη χρήση 3 οργανικών διαλυτών (ακετόνη, μεθανόλη και ακετονιτρίλιο) καθώς και 2 μιγμάτων μεθανόλης και νερού. Όλοι οι οργανικοί διαλύτες εμφάνισαν ικανοποιητική ικανότητα παραλαβής των ουσιών με τις ποσοστιαίες ανακτήσεις να κυμαίνονται από 84,4 (για το iprodione στον διαλύτη μεθανόλη) μέχρι 113,4% (για το ipdoxcarb στο διαλύτη ακετονιτρίλιο+ακετόνη). Επίσης σε κάθε περίπτωση το σχετικό τυπικό σφάλμα ήταν μικρότερο του 10%. Η προσθήκη νερού στο διάλυμα εκχύλισης επηρέασε αρνητικά την ανάκτηση των chlorpyrifos και iprodione. Ιδιαίτερα για το iprodione οι ποσοστιαίες ανακτήσεις (26,3-45,6%) είναι πολύ μικρότερες του αποδεκτού ορίου (70%). Και για τις δύο ουσίες η αποτελεσματικότητα παραλαβής της ουσίας μειώνεται με αύξηση της αναλογίας νερού στο διαλύτη εκχύλισης. Για την ανάλυση των δειγμάτων στις δοκιμές αποδόμησης επιλέχθηκε η ακετόνη.

Αποτελέσματα δοκιμών με τη χρήση μικροστηλών

Για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των μικροστηλών SPE στον καθαρισμό του πρωτογενούς εκχυλίσματος των βιομιγμάτων και του εδάφους πραγματοποιήθηκαν πειράματα ανάκτησης. Στη δοκιμή συμπεριελήφθησαν τρεις μικροστήλες (Isolut C18, Isolut 101 και EnviCarb). Η στήλη Isolute 101 εμφάνισε ικανοποιητική ικανότητα ανάκτησης όλων των ουσιών με τη μικρότερη ποσοστιαία παραλαβή να αφορά την ουσία iprodione (71,7%). Η στήλη με υλικό πληρώσεως C18 εμφάνισε εξίσου ικανοποιητική ικανότητα ανάκτησης των αναλυτών, πλην του dimethoate. Η αδυναμία συγκράτησης

της ουσίας αυτής στη επιφάνεια του υλικού πληρώσεως της μικροστήλης οφείλεται στη μεγάλη πολικότητα του.

Πίνακας 12.1. Δοκιμές ανάκτησης οκτώ φ.ο. μετά από εκχύλιση υποστρώματος (BX1) φορτισμένου με τα τις υπό εξέταση ουσίες ($2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) με τη χρήση διαφορετικών εκχυλιστικών μέσων (ακετόνη, μεθανόλη, ακετονιτρίλιο, ακετονιτρίλιο+ακετόνη, μεθανόλη+νερό)

| | Μεθανόλη | | Μεθανόλη +Νερό (1:1) | | Μεθανόλη+Νερό (7:3) | | Ακετονιτρίλιο | | Ακετόνη + Ακετονιτρίλιο (1:1) | | Ακετόνη | |
|----------------|----------|-----|----------------------|-----|---------------------|------|---------------|-----|-------------------------------|------|---------|------|
| | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Dimethoate | 95,6 | 4,1 | 103,9 | 1,6 | 90,5 | 1,6 | 105,1 | 2,7 | 105,3 | 2,8 | 89,7 | 9,1 |
| Terbuthylazine | 100,2 | 4,6 | 85,9 | 2,5 | 84,5 | 2,5 | 92,5 | 1,2 | 94,5 | 4,9 | 92,8 | 8,3 |
| Metribuzin | 96,5 | 4,0 | 95,1 | 3,3 | 82,4 | 3,3 | 88,7 | 2,4 | 92,5 | 6,0 | 90,0 | 8,2 |
| Metalaxyl-M | 95,4 | 2,4 | 102,0 | 1,3 | 94,9 | 1,3 | 90,3 | 2,9 | 93,4 | 6,9 | 88,5 | 6,1 |
| Chlorpyrifos | 97,8 | 3,1 | 42,7 | 2,3 | 77,2 | 2,3 | 90,5 | 0,9 | 90,3 | 4,6 | 90,5 | 9,1 |
| Iprodione | 84,4 | 8,2 | 26,3 | 2,0 | 45,6 | 8,3 | 103,3 | 2,6 | 106,4 | 11,6 | 94,2 | 11,5 |
| Indoxacarb | 96,7 | 5,6 | 117,5 | 3,8 | 122,9 | 17,0 | 108,0 | 0,6 | 113,4 | 5,4 | 95,8 | 10,9 |
| Azoxystrobin | 94,2 | 4,4 | nd ¹ | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 93,8 | 12,4 |

¹ Δεν συμπεριελήφθησε στη δοκιμή

Αντίστοιχα χαμηλά ποσοστά ανάκτησης του dimethoate σε υδατικά δείγματα με τη χρήση μικροστηλών C18 έχουν αναφερθεί προηγουμένως (Tolosa et al., 1996; Molina et al., 1994). Αντιθέτως το υλικό πλήρωσης της στήλης Isolute 101 (*Polystyrene-divinylbenzene copolymer*) σχηματίζει ισχυρά υδρόφοβη επιφάνεια που ευνοεί την παραλαβή ισχυρά πολικών ουσιών όπως το dimethoate (Tanabe et al., 2000). Οι μικροστήλες EnviCarb χρησιμοποιημένες σε κανονική φάση έδωσαν ικανοποιητικά ποσοστά ανάκτησης των ουσιών (>79%) και μικρή παραλλακτικότητα στις μετρήσεις. Αντίθετα οι ίδιες μικροστήλες όταν χρησιμοποιήθηκαν σε αντίστροφη φάση έδωσαν μη αποδεκτά ποσοστά παραλαβής για τις περισσότερες ουσίες της δοκιμής (Πίνακας 12.2).

Πίνακας 12.2. Δοκιμές ανάκτησης εννιά φ.ο. μετά από εκχύλιση υποστρώματος (BX1) φορτισμένου με τις υπό εξέταση ουσίες ($2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) με τη χρήση μικροστηλών αντίστροφης φάσης (C18, Isolute 101) και στηλών ενεργού άνθρακα (EnviCarb)

| | Εκχύλιση υδατομεθανολικών διαλυμάτων | | | | | | Εκχύλιση δειγμάτων σε οργανικό διαλύτη | |
|----------------|--------------------------------------|------|-------------|------|----------|------|--|------|
| | Isolute C18 | | Isolute 101 | | EnviCarb | | EnviCarb | |
| | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Dimethoate | 49,5 | 11,7 | 95,6 | 0,2 | 46,7 | 12,3 | 88,6 | 6,7 |
| Terbuthylazine | 96,1 | 5,7 | 89,8 | 2,9 | 86,9 | 7,2 | 87,3 | 5,5 |
| Metribuzin | 87,6 | 4,2 | 79,5 | 1,4 | 31,2 | 19,4 | 90,2 | 3,1 |
| Metalaxyl-M | 85,5 | 6,1 | 98,6 | 8,6 | 55,7 | 14,1 | 99,3 | 0,5 |
| Buprofezin | nd ¹ | - | 85,1 | 1,7 | 68,8 | 11,1 | 79,7 | 12,5 |
| Chlorpyrifos | 80,9 | 9,6 | nd | - | nd | - | nd | - |
| Iprodione | 114,6 | 15,5 | 71,7 | 12,3 | 30,7 | 6,7 | 81,6 | 9,9 |
| Indoxacarb | 96,3 | 11,1 | 117,9 | 17,3 | 76,9 | 12,2 | 102,6 | 7,2 |
| Azoxystrobin | nd | - | 97,4 | 7,7 | 112,3 | 8,9 | 88,8 | 13,1 |

¹ οι ουσίες αυτές δεν συμπεριελήφθησαν στις δοκιμές

12.1.2. Επικύρωση τελικής μεθόδου

Στα τυπικά χρωματογραφήματα του **διαγράμματος Γ του παραρτήματος** καταγράφονται οι χρόνοι κατακράτησης (t_R) 8 φ.ο. Για την ταυτοποίηση των ουσιών πραγματοποιήθηκε και χρωματογραφική

ανάλυση του ίδιου δείγματος σε διαφορετικό ανιχνευτή (μECD) με τις παραμέτρους ανάλυσης (χρωματογραφική στήλη, συνθήκες λειτουργίας του χρωματογράφου) να παραμένουν σταθεροί.

Γραμμικότητα

Στο πλαίσιο της επικύρωσης της αναλυτικής μεθόδου πραγματοποιήθηκε έλεγχος τόσο της γραμμικότητας του ανιχνευτή (NPD), όσο και της γραμμικότητας της μεθόδου. Το εύρος των συγκεντρώσεων κάθε μιας από τις 8 φ.ο. του ελέγχθηκαν καταγράφεται στον **πίνακα 12.3**. Το χαμηλότερο εύρος συγκεντρώσεων αφορούσε το indoxacarb λόγω της μικρής δόσης εφαρμογής της ουσίας στον αγρό. Η ύπαρξη ισχυρής γραμμικής συσχέτισης στο εύρος των συγκεντρώσεων βαθμονόμησης του ανιχνευτή είναι εμφανής με τον εκτιμώμενο συντελεστή προσαρμογής να εμφανίζει τιμή μεγαλύτερη από 0,994 τόσο στα πρότυπα διαλύματα σε καθαρό διαλύτη όσο και στα μικτά πρότυπα διαλύματα εργασίας με εξαίρεση το indoxacarb για το οποίο ο αντίστοιχος συντελεστής ήταν 0,985.

Πίνακας 12.3. Γραμμικότητα του χρωματογραφικού σήματος του ανιχνευτή NPD (πρότυπο διάλυμα ακετόνης) και της αναλυτικής μεθόδου (πρότυπα διαλύματα φορτισμένου υποστρώματος) σε πέντε διαφορετικά υποστρώματα (έδαφος και βιομίγμα). Για την κατασκευή των καμπυλών αναφοράς και τον υπολογισμό των παραμέτρων (b) και (c) της γραμμικής συσχέτισης ($y=bx+c$) χρησιμοποιήθηκαν 6 πρότυπα διαλύματα σε συγκεντρώσεις με εύρος STD:20 έως STD

| | | TRB | DIM | MTR | MTX | BUP | IPR | IND | AZX | CHL |
|---|--------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Εύρος συγκεντρώσεων ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | STD:20 | 3,65 | 1,66 | 2,19 | 2 | 0,78 | 2,6 | 0,21 | 1,56 | 2,5 |
| | STD | 72,92 | 33,33 | 43,75 | 40 | 15,63 | 52,1 | 4,13 | 31,25 | 50 |
| Ακετόνη | b | 31,61 | 223,07 | 16,99 | 7,1 | 25,43 | 5,22 | 1,81 | 12,3 | 250,7 |
| | c | -7,44 | -65,53 | -4 | -3,24 | -1,37 | -2,85 | 0,48 | -1,76 | -30,7 |
| | r^2 | 0,999 | 0,999 | 1 | 1 | 1 | 0,999 | 0,998 | 1 | 0,999 |
| S | b | 35,26 | 261,24 | 17,65 | 7,27 | 25,8 | 8,38 | 1,89 | 17,19 | 310,8 |
| | c | -6,69 | -57,26 | -5,67 | -2,68 | -1,38 | -3,25 | 0,33 | -3,48 | -60,3 |
| | r^2 | 0,999 | 0,999 | 0,999 | 0,999 | 0,998 | 0,999 | 0,985 | 0,999 | 0,999 |
| STRBX | b | 40,22 | 317,11 | 22,17 | 9,27 | 30,72 | 9,22 | 5,33 | 19,6 | 333,2 |
| | c | -5,19 | -57,12 | -2,32 | -4,33 | -1,05 | -1,05 | -0,33 | -4,08 | -49,8 |
| | r^2 | 0,999 | 0,999 | 0,996 | 0,994 | 0,998 | 0,995 | 0,994 | 0,999 | 0,999 |
| OBX1 | b | 35,91 | 296,38 | 18,97 | 8 | 26,89 | 8,62 | 5,15 | 18,02 | 314,7 |
| | c | 0,61 | -59,89 | -3,68 | -2,89 | 1,73 | -2,64 | -0,23 | 0,75 | -70,2 |
| | r^2 | 0,997 | 0,998 | 0,999 | 0,998 | 0,999 | 0,996 | 0,99 | 0,998 | 0,999 |
| BX3 | b | 37,23 | 271,53 | 20,14 | 8,15 | 28,59 | 8,86 | 5,03 | 17,45 | 299,1 |
| | c | -2,91 | -70,47 | 1,49 | -1,8 | 1,28 | -4,51 | -0,42 | -2,99 | -33,5 |
| | r^2 | 0,998 | 0,998 | 0,998 | 0,997 | 0,996 | 0,998 | 0,999 | 0,999 | 0,999 |
| 50% | b | 37,5 | 266,87 | 19,77 | 8,18 | 28,13 | 8,59 | 4,44 | 17,68 | 297,4 |
| | c | -3,81 | -52,57 | -10,55 | -4,75 | -1,49 | -3 | -0,48 | -3,27 | -40,2 |
| | r^2 | 0,994 | 0,996 | 0,996 | 0,999 | 0,998 | 0,999 | 0,987 | 0,999 | 0,998 |

Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης

Τα όρια ποσοτικοποίησης της 1^{ης} μεθόδου με τη χρήση του εκλεκτικού ανιχνευτή NPD εμφάνισαν ένα εύρος τιμών μεταξύ 0,010 και 0,372 (**πίνακας 12.4**). Οι μικρότερες τιμές αφορούσαν τα δύο οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα dimethoate και chlorpyrifos ενώ τα υψηλότερα όρια ορίστηκαν για το μυκητοκτόνο iprodione και για το εντομοκτόνο indoxacarb (0,218 και 0,372 αντίστοιχα)

Πίνακας 12.4. Ανάκτηση, επαναληψιμότητα και όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της 1^{ης} μεθόδου. Για τις δοκιμές των πειραμάτων ανάκτησης χρησιμοποιήθηκε φορτισμένο υπόστρωμα BX1 σε επίπεδο φόρτισης 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (n=12). Για τον ορισμό των ορίων LOQ και LOD χρησιμοποιήθηκαν εκχυλίσματα εδάφους

| | Μέση τιμή (%) | Επαναληψιμότητα | Όρια της μεθόδου ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | |
|---------------|------------------|-----------------|--|-------|
| | | RSD | LOD | LOQ |
| Terbutylazine | 91,7 | 2,5 | 0,007 | 0,024 |
| Dimethoate | 92,9 | 6,5 | 0,003 | 0,010 |
| Metribuzin | 93,7 | 7,4 | 0,013 | 0,044 |
| Metalaxyl-M | 98,1 | 1,7 | 0,030 | 0,100 |
| Buprofezin | 94,3 | 7,7 | 0,020 | 0,066 |
| Iprodione | 104,2 | 12,6 | 0,066 | 0,218 |
| Indoxacarb | 108,3 | 10,4 | 0,113 | 0,372 |
| Azoxystrobin | 96,9 | 13,6 | 0,047 | 0,156 |
| Chlorpyrifos | 97,9 | 4,5 | 0,003 | 0,010 |

Ορθότητα της μεθόδου

Τα αποτελέσματα των δοκιμών ανάκτησης (1^η μέθοδος) αναγράφονται στον **πίνακα 12.5**. Το εύρος των επιπέδων φόρτισης (STD:20 έως STD) χρησιμοποιήθηκε για να καλυφθεί κατά το δυνατό όλο το φάσμα των συγκεντρώσεων των αναλυτών στα δείγματα ελέγχου. Ο υπολογισμός της ποσοστιαίας ανάκτησης των ουσιών καθώς και η τιμή της σχετικής τυπικής απόκλισης μεταξύ των επαναλήψεων σε κάθε επίπεδο συγκέντρωσης χρησιμοποιήθηκαν ως κριτήρια για τον έλεγχο της ορθότητας και της ακρίβειας της μεθόδου, αντίστοιχα. Για την περαιτέρω θεμελίωση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων η χρωματογραφική ανάλυση στο υψηλότερο επίπεδο συγκεντρώσεων επαναλήφθηκε με τη χρησιμοποίηση διαφορετικού ανιχνευτή (μECD). Στις περισσότερες περιπτώσεις ανεξάρτητα από την ονομαστική συγκέντρωση εμβολιασμού και το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε τα ποσοστά ανακτήσεων βρίσκονταν εντός των επιτρεπτών ορίων και η απόκλιση μεταξύ των τιμών των επαναλήψεων ήταν ικανοποιητική (RSD<15% στις 169 από τις 173 περιπτώσεις). Για τις περισσότερες από τις ουσίες που εξετάστηκαν μάλιστα (dimethoate, terbutylazine, metalaxyl-M, metribuzin, buprofezin) το ποσοστό ανάκτησης δεν διαφοροποιείται σημαντικά με τη συγκέντρωση εμβολιασμού, ενώ η μέση τιμή της σχετικής τυπικής απόκλισης ήταν μικρότερη από 6%. Αντίθετα, για τις ουσίες iprodione, azoxystrobin και κυρίως για το indoxacarb οι τιμές των ποσοστιαίων ανακτήσεων σε ορισμένες περιπτώσεις εμφανίζονται οριακά υψηλότερες του ορίου του 110%, με τις υψηλότερες τιμές να καταγράφονται στις μικρότερες τιμές συγκέντρωσης του αναλύτη. Παρόμοια ικανότητα της συγκέντρωσης του αναλύτη να διαφοροποιεί τη σχετική επίδραση του υποστρώματος στα αποτελέσματα των δοκιμών ανάκτησης έχει αναφερθεί και άλλου (Hajslova et al., 1998).

Διαφοροποιήσεις ως προς το ποσοστό ανάκτησης υπάρχουν και μεταξύ διαφορετικών υποστρωμάτων με τα βιομίγματα BX1, BX2 και 50% να δίνουν αποδεκτές τιμές σε κάθε περίπτωση (73-113,6%), ενώ τα υποστρώματα S, OBX1 και BX3 δίνουν σε ορισμένες περιπτώσεις υψηλές τιμές ανακτήσεων (>115% σε 5 από τις συνολικά 67 μετρήσεις).

Πίνακας 12.5. Αποτελέσματα δοκιμών ανάκτησης οκτώ φ.ο. σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα φόρτισης και σε έξι διαφορετικά υποστρώματα. Για την ανάλυση των φορτισμένων δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η 1^η μέθοδος. Για επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων η ανάλυση των δειγμάτων που φορτίστηκαν στο STD επίπεδο πραγματοποιήθηκε και με τη χρησιμοποίηση του εκλεκτικού ανιχνευτή ECD

| | | NPD | | | | | | | | μECD | |
|-----------------------|-------------|-----------------|------|-----------------|------|-------|------|-------|------|-----------------|------|
| | | STD:20 | | STD:8 | | STD:4 | | STD | | STD | |
| | | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Dimethoate | S | 113,2 | 1,1 | 108,1 | 8,3 | 98,6 | 4,4 | 86,7 | 8,4 | 98,3 | 14,8 |
| | BX1 | 106,3 | 5,8 | 106,8 | 4,4 | 105,0 | 12,4 | 77,3 | 6,6 | 91,7 | 12,0 |
| | 50% | 94,7 | 2,3 | 97,6 | 5,8 | 105,7 | 11,1 | 81,7 | 3,6 | 87,9 | 4,5 |
| | OBX1 | 95,9 | 6,2 | 101,0 | 8,6 | nd | - | 93,3 | 6,9 | 86,9 | 14,7 |
| | BX3 | 105,9 | 7,8 | 106,4 | 8,1 | 108,2 | 4,0 | 89,5 | 3,3 | 90,9 | 7,1 |
| | BX2 | 88,8 | 0,5 | 119,4 | 3,8 | 107,8 | 1,5 | 107,2 | 7,5 | 97,8 | 13,2 |
| Terbuthylazine | S | 107,1 | 4,1 | 108,8 | 7,0 | 97,4 | 5,2 | 81,0 | 4,4 | 73,8 | 9,8 |
| | BX1 | 101,4 | 1,7 | 112,2 | 2,2 | 105,1 | 10,6 | 80,5 | 9,6 | 67,9 | 9,7 |
| | 50% | 104,1 | 0,5 | 106,1 | 1,6 | 97,6 | 4,1 | 91,0 | 7,7 | 74,8 | 8,0 |
| | OBX1 | 103,4 | 4,3 | 107,0 | 6,8 | nd | - | 86,5 | 9,3 | 69,4 | 4,3 |
| | BX3 | 102,9 | 8,9 | 97,4 | 2,6 | 93,4 | 1,3 | 92,3 | 8,2 | 88,7 | 5,6 |
| | BX2 | 100,7 | 9,9 | 107,9 | 2,4 | 108,2 | 6,4 | 94,3 | 8,2 | 82,1 | 10,8 |
| Metribuzin | S | 100,9 | 4,0 | 105,0 | 6,8 | 99,1 | 4,2 | 90,2 | 5,7 | 90,3 | 2,6 |
| | BX1 | 97,4 | 4,3 | 105,8 | 4,4 | 102,1 | 8,4 | 79,4 | 5,7 | 85,8 | 2,5 |
| | 50% | 100,1 | 0,4 | 103,8 | 1,9 | 95,5 | 2,2 | 101,1 | 3,8 | 92,5 | 0,5 |
| | OBX1 | 95,0 | 5,4 | 102,7 | 4,1 | nd | - | 102,9 | 8,6 | 88,4 | 2,4 |
| | BX3 | 100,0 | 8,3 | 95,6 | 4,0 | 98,4 | 1,1 | 95,0 | 10,0 | 95,0 | 1,8 |
| | BX2 | 92,8 | 12,6 | 99,3 | 2,6 | 104,1 | 9,4 | 90,6 | 10,0 | 89,2 | 3,8 |
| Metalaxyl-M | S | 95,5 | 6,7 | 97,9 | 8,9 | 93,0 | 3,5 | 91,7 | 4,7 | nd ¹ | - |
| | BX1 | 105,3 | 5,2 | 110,5 | 6,3 | 107,0 | 9,1 | 82,9 | 10,7 | nd | - |
| | 50% | 92,1 | 2,7 | 95,1 | 1,9 | 98,1 | 4,9 | 99,9 | 6,7 | nd | - |
| | OBX1 | 98,6 | 4,5 | 106,5 | 1,4 | nd | - | 93,1 | 6,9 | nd | - |
| | BX3 | 96,1 | 9,8 | 95,7 | 3,3 | 95,9 | 2,5 | 98,4 | 9,7 | nd | - |
| | BX2 | 99,9 | 13,5 | 101,2 | 4,0 | 108,7 | 10,7 | 94,8 | 10,0 | nd | - |
| Buprofezin | S | 100,2 | 2,3 | 105,5 | 5,9 | 102,4 | 4,6 | 87,0 | 2,8 | 84,1 | 10,1 |
| | BX1 | 108,5 | 4,4 | 114,7 | 3,9 | 112,1 | 10,2 | 85,5 | 7,6 | 75,6 | 9,8 |
| | 50% | 101,5 | 2,1 | 105,3 | 1,0 | 103,1 | 3,3 | 93,4 | 9,6 | 93,2 | 6,7 |
| | OBX1 | 105,8 | 3,2 | 107,0 | 3,8 | nd | - | 88,9 | 10,5 | 82,5 | 14,8 |
| | BX3 | 105,5 | 9,3 | 95,9 | 3,4 | 99,6 | 0,7 | 95,2 | 6,0 | 95,5 | 6,5 |
| | BX2 | 103,8 | 9,2 | 105,6 | 1,7 | 100,8 | 5,7 | 97,0 | 8,8 | 84,6 | 9,8 |
| Iprodione | S | 114,9 | 8,4 | 112,1 | 6,7 | 95,8 | 4,8 | 73,0 | 5,1 | 93,7 | 13,3 |
| | BX1 | 93,7 | 7,0 | 98,9 | 3,0 | 104,1 | 5,4 | 78,2 | 9,9 | 74,4 | 14,7 |
| | 50% | 99,9 | 5,0 | 101,0 | 4,9 | 93,7 | 5,6 | 78,1 | 6,9 | 84,2 | 11,4 |
| | OBX1 | 101,2 | 11,0 | 104,9 | 9,2 | nd | - | 88,8 | 7,9 | 70,9 | 15,0 |
| | BX3 | 101,8 | 6,2 | 99,0 | 5,8 | 93,3 | 0,7 | 91,3 | 12,3 | 85,9 | 7,1 |
| | BX2 | 106,7 | 0,9 | 108,7 | 3,5 | 106,5 | 4,4 | 97,8 | 13,0 | 82,9 | 20,6 |
| Indoxacarb | S | 117,2 | 5,3 | 111,3 | 10,7 | 99,8 | 4,3 | 91,0 | 4,9 | 94,1 | 9,0 |
| | BX1 | nd ² | - | nd ² | - | 103,1 | 26,5 | 93,3 | 7,4 | 98,0 | 10,5 |
| | 50% | nd ² | - | nd ² | - | 104,0 | 12,0 | 105,9 | 28,1 | 106,4 | 6,5 |
| | OBX1 | nd ² | - | 104,2 | 2,1 | nd | - | 109,7 | 11,4 | 117,3 | 13,5 |
| | BX3 | 125,0 | 14,8 | 125,7 | 13,5 | 125,9 | 7,5 | 111,9 | 6,7 | 114,8 | 5,4 |
| | BX2 | 113,3 | 7,9 | 109,6 | 3,1 | 103,3 | 5,9 | 105,9 | 12,1 | 110,0 | 11,0 |
| Azoxystrobin | S | 123,6 | 6,1 | 109,6 | 6,9 | 102,4 | 17,8 | 78,3 | 5,7 | 82,2 | 6,9 |
| | BX1 | 89,1 | 1,7 | 105,5 | 2,6 | 114,7 | 25,9 | 86,8 | 8,1 | 76,2 | 11,1 |
| | 50% | 99,1 | 1,5 | 95,6 | 4,3 | 82,3 | 8,9 | 86,2 | 3,6 | 84,6 | 1,4 |
| | OBX1 | 92,7 | 7,0 | 103,9 | 3,8 | nd | - | 79,5 | 9,0 | 78,7 | 14,9 |
| | BX3 | 108,6 | 2,5 | 107,3 | 0,8 | 84,2 | 3,6 | 93,6 | 7,2 | 95,3 | 7,4 |
| | BX2 | 105,2 | 13,1 | 101,5 | 3,1 | 82,3 | 7,9 | 89,0 | 8,9 | 81,7 | 12,6 |

¹ το metalaxyl-M δεν ανιχνεύεται στον ECD

² συγκέντρωση < LOQ

Η ορθότητα της ανάλυσης των δειγμάτων με τη χρήση της μεθόδου που περιλαμβάνει ένα στάδιο καθαρισμού προ της χρωματογραφικής ανάλυσης (2^η μέθοδος) εκτιμήθηκε με δοκιμές ανάκτησης σε δύο επίπεδα συγκεντρώσεων σε 6 υποστρώματα. Η μέση τιμή ανάκτησης ήταν 101,5% και η σχετική τυπική απόκλιση εμφάνισε εύρος τιμών από 0,7 έως 21%. Τις υψηλότερες τιμές ανάκτησης εμφάνισε το indoxacarb που σε ορισμένες περιπτώσεις βρίσκονται οριακά εκτός του αποδεκτού εύρους τιμών ανάκτησης (πίνακας 12.6).

Πίνακας 12.6. Αποτελέσματα δοκιμών ανάκτησης οκτώ φ.ο. σε έξι διαφορετικά υποστρώματα μετά από φόρτιση δειγμάτων σε δύο επίπεδα συγκεντρώσεων: STD:10 (A) και STD:4 (B) και ανάλυση τους με τη 2^η μέθοδο

| A | soil | | 50% | | OBX1 | | STRBX | | BX3 | | BX1 | |
|---------------|------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|-----|------|------|
| | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Terbutylazine | 95,2 | 4,8 | 98,2 | 2,7 | 100,4 | 1,9 | 91,0 | 1,1 | 92,8 | 0,3 | 96,6 | 3,5 |
| Dimethoate | 73,8 | 8,5 | 105,4 | 4,3 | 106,9 | 5,6 | 102,6 | 6,5 | 93,9 | 2,7 | 95,3 | 6,2 |
| Metribuzin | 81,0 | 5,2 | 89,2 | 2,6 | 94,4 | 2,8 | 85,6 | 2,7 | 83,7 | 1,1 | 91,1 | 2,3 |
| Metalaxyl-M | 92,5 | 5,1 | 95,2 | 3,0 | 97,9 | 2,8 | 88,4 | 2,2 | 88,4 | 2,6 | 94,3 | 1,9 |
| Buprofezin | 94,5 | 3,9 | 97,0 | 2,7 | 98,5 | 2,0 | 88,4 | 1,3 | 91,1 | 1,3 | 97,6 | 2,2 |
| Iprodione | 83,2 | 11,3 | 102,2 | 4,5 | 108,2 | 7,4 | 109,6 | 7,2 | 105,1 | 1,2 | 94,5 | 3,8 |
| Indoxacarb | 98,8 | 8,1 | 117,5 | 13,8 | 118,0 | 13,0 | 126,6 | 13,3 | 107,0 | 7,0 | 98,2 | 15,5 |
| Azoxystrobin | 95,1 | 6,1 | 103,9 | 4,0 | 111,9 | 4,0 | 101,4 | 6,5 | 96,9 | 2,0 | 99,2 | 5,2 |

| B | soil | | 50% | | OBX1 | | STRBX | | BX3 | | BX1 | |
|---------------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|-----|
| | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Terbutylazine | 103,8 | 1,7 | 104,1 | 2,2 | 107,8 | 5,7 | 100,4 | 1,5 | 101,1 | 12,0 | 107,6 | 3,9 |
| Dimethoate | 106,9 | 2,9 | 88,2 | 6,7 | 98,5 | 9,6 | 95,5 | 7,5 | 108,6 | 10,5 | 88,7 | 9,3 |
| Metribuzin | 101,4 | 3,0 | 99,8 | 3,4 | 94,5 | 5,9 | 108,2 | 2,6 | 96,2 | 13,6 | 104,8 | 4,6 |
| Metalaxyl-M | 94,4 | 1,5 | 96,3 | 3,6 | 99,2 | 3,9 | 101,6 | 3,0 | 99,2 | 11,6 | 104,0 | 4,9 |
| Buprofezin | 92,4 | 0,7 | 96,0 | 1,1 | 106,6 | 5,0 | 87,8 | 12,0 | 97,5 | 12,6 | 107,5 | 5,0 |
| Iprodione | 102,2 | 11,1 | 95,5 | 5,8 | 110,0 | 11,4 | 105,0 | 8,2 | 109,2 | 15,2 | 92,3 | 3,7 |
| Indoxacarb | 113,3 | 21,0 | 93,2 | 14,6 | 119,0 | 15,0 | 124,5 | 6,6 | 135,1 | 20,0 | 81,8 | 4,0 |
| Azoxystrobin | 108,2 | 1,6 | 103,8 | 3,6 | 100,7 | 6,4 | 98,0 | 6,0 | 93,5 | 12,3 | 99,8 | 2,2 |

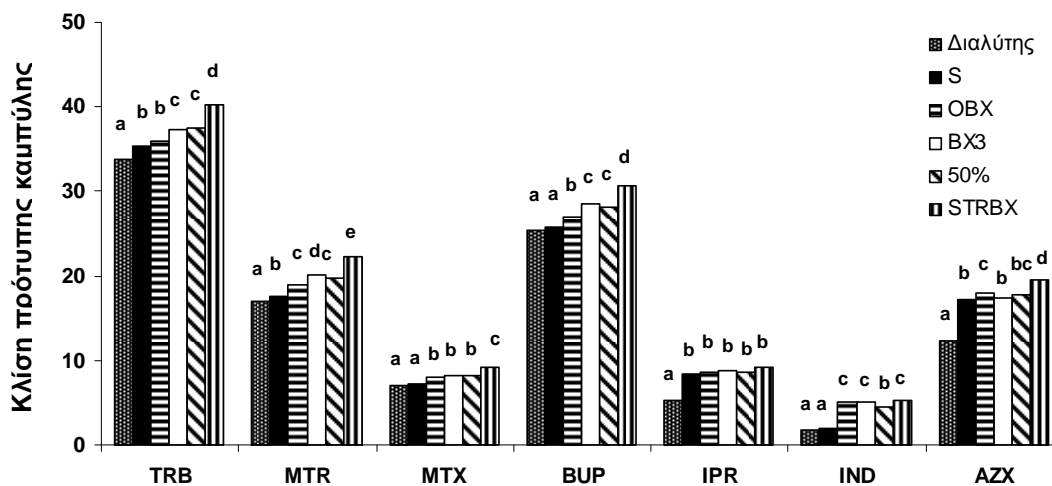
Επαναληψιμότητα

Η πιστότητα της 1^{ης} μεθόδου ελέγχθηκε ως προς την παράμετρο της επαναληψιμότητας και τα αποτελέσματα αυτής της δοκιμής εμφανίζονται στον **πίνακα 12.4**. Ο έλεγχος της επαναληψιμότητας έγινε σε εμβολιασμένα δείγματα υποστρώματος BX1 και σε επίπεδο συγκέντρωσης 2 µg·mL⁻¹. Ο μέσος όρος ανακτήσεων στο επιλεγμένο επίπεδο συγκεντρώσεων κυμάνθηκε από 91,7 (terbutylazine) έως 108,3 (indoxacarb) με τη σχετική τυπική απόκλιση να λαμβάνει τιμές μικρότερες του 15% ανεξάρτητα από την εξεταζόμενη ουσία. Τα αποτελέσματα αυτά φανερώνουν την υψηλή επαναληψιμότητα της μεθόδου

Έλεγχος της επίδρασης υποστρώματος

Η επίδραση του υποστρώματος στο χρωματογραφικό σήμα μελετήθηκε με κριτήριο τη μεταβολή στη μέση τιμή της κλίσης των ευθειών των καμπυλών αναφοράς για τον υπολογισμό των οποίων χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διάλυμα σε καθαρό διαλύτη και μικτά πρότυπα διαλύματα εργασίας.

Γενικά παρατηρήθηκε ότι οι τιμές της κλίσης της ευθείας επηρεάζονται σημαντικά από την παρουσία συστατικών του υποστρώματος. Η ένταση της επίδρασης αυτής διαφοροποιείται με τη φ.ο. που εξετάζεται. Έτσι έντονη αλληλεπίδραση αναλύτη και υποστρώματος παρατηρήθηκε για την ουσία indoxacarb, όπου η διαφορά στην κλίση των ευθειών των πρότυπων σε διαλύτη και σε εκχυλίσματα των υποστρωμάτων διαφοροποιούνταν με ένα συντελεστή μεταξύ 2,5 και 3 (**Διάγραμμα 12.1**).



Διάγραμμα 12.1. Η σύγκριση των κλίσεων των ευθειών των καμπυλών αναφοράς επτά ουσιών σε καθαρό διαλύτη και σε εκχυλίσματα υποστρωμάτων εδάφους (S), βιομπίγματος τύρφης (OBX), βιομπίγματος κομπόστας εμπορίου (BX3), βιομπίγματος με υπόστρωμα ανάπτυξης μανιταριών (50%) και σε βιομπίγμα με κομπόστα ελαιόφυλλων (STRBX). Τα σύμβολα a,b,c,d και e αντιπροσωπεύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές συμφώνα με τη δοκιμή Student

Επίσης για τις ουσίες iprodione και azoxystrobin παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις (έως και 60%) στη σχετική απόκριση του ανιχνευτή στα πρότυπα διαλύματα εργασίας σε σχέση με τις τιμές απόκρισης με τη χρήση καθαρού διαλύτη. Το γεγονός ότι η επίδραση του υποστρώματος ήταν πιο έντονη στις ουσίες iprodione, indoxacarb και azoxystrobin, που εμφανίζουν και τις μεγαλύτερες τιμές χρόνου κατακράτησης, σημαίνει πως η επίδραση του υποστρώματος γίνεται πιο έντονη όσο αυξάνεται το χρονικό διάστημα παραμονής της ουσίας στη χρωματογραφική στήλη. Ο χρόνος συγκράτησης έχει αναφερθεί ως παράγοντας που επηρεάζει την ένταση της αλληλεπίδρασης αναλύτη και υποστρώματος στην αέρια χρωματογραφία (Anastassiades et al., 2003). Γενικά οι διαφορές στην απόκριση του ανιχνευτή για όλες τις ουσίες της δοκιμής ακολούθησαν τη σειρά STRBX > BX3 = OBX = 50% > S > καθαρός διαλύτης. Για τη διασφάλιση της αξιοπιστίας του προσδιορισμού των συγκεντρώσεων των υπολειμμάτων όλων των φ.ο. κρίθηκε απαραίτητη η χρησιμοποίηση μικτών προτύπων διαλυμάτων σε εκχύλισμα του κάθε υποστρώματος για τη βαθμονόμηση του ανιχνευτή.

12.1.3. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του chlorpyrifos και του μεταβολίτη 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP)

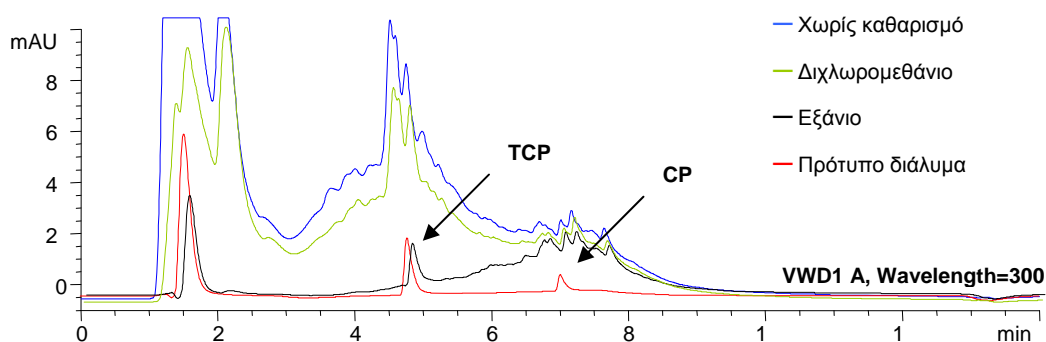
Οι προκαταρκτικές δοκιμές περιλάμβαναν τη χρήση τριών διαφορετικών οργανικών διαλυτών για τη βελτιστοποίηση της ανάκτησης στην τεχνική της υγρής-υγρής εκχύλισης για τον καθαρισμό καθώς επίσης και την αξιολόγηση της χρήσης μικροφυσιγγίων αντίστροφης φάσης Isolute C18 για το καθαρισμό και την προσυγκέντρωση των δειγμάτων. Για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα της ανάλυσης που δεν περιλάμβανε κάποιο στάδιο καθαρισμού. Τα αποτελέσματα των δοκιμών αυτών εμφανίζονται στον **πίνακα 12.7** ενώ στο **διάγραμμα 12.2**

γίνεται αντιπαραβολή τεσσάρων χρωματογραφημάτων που αντιστοιχούν σε πρότυπο διάλυμα και σε δείγμα με τη μεσολάβηση ή όχι κάποιου σταδίου καθαρισμού. Η χρησιμοποίηση στηλών C18 οδήγησε σε ικανοποιητικό ποσοστό παραλαβής του μητρικού μορίου (94,3%) αλλά το ποσοστό παραλαβής του μεταβολίτη TCP δεν ξεπερνούσε το 30%.

Πίνακας 12.7. Οι ποσοστιαίες ανακτήσεις των chlorpyrifos και TCP σε υπόστρωμα BX2 μετά από στάδιο καθαρισμού με κατανομή σε εξάνιο, διχλωρομεθάνιο και οξικό αιθυλεστέρα ή πέρασμα από στήλη SPE (C18). Η φόρτιση των δειγμάτων έγινε σε συγκέντρωση $0,25 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ξ.β υποστρώματος

| | Ανάκτηση | | | |
|-------------------------|----------|------|--------------|------|
| | TCP | | Chlorpyrifos | |
| | % | RSD | % | RSD |
| Χωρίς στάδιο καθαρισμού | 74,7 | 5,3 | 81,7 | 6,4 |
| Εξάνιο | 75,7 | 11,4 | 83,6 | 8,9 |
| Διχλωρομεθάνιο | 69,9 | 18,3 | 77,5 | 14,8 |
| Οξικός αιθυλεστέρας | 76,1 | 9,9 | 84,8 | 10,1 |
| SPE C18 | 22,3 | 14,4 | 94,3 | 11,5 |

Η ποσοστιαία παραλαβή των ουσιών με εξάνιο, διχλωρομεθάνιο ή οξικό αιθυλεστέρα στο στάδιο της εκχύλισης υγρής-υγρής φάσης ήταν παραπλήσια αυτής της δοκιμής χωρίς παρεμβολή σταδίου καθαρισμού. Παρατηρήθηκε όμως σαφής διαφοροποίηση όσο αφορά την ικανότητα καθαρισμού του δείγματος.



Διάγραμμα 12.2. Χρωματογράφημα HPLC των chlorpyrifos και TCP χωρίς (—) ή μετά από καθαρισμό των εκχυλισμάτων με κατανομή σε διχλωρομεθάνιο (—) ή εξάνιο (—). Για σύγκριση των αποτελεσμάτων στην εικόνα συμπεριλήφθηκε και ένα χρωματογράφημα πρότυπης ουσίας σε καθαρό διάλυμα (—)

Η κατανομή με τη χρήση διχλωρομεθανίου και οξικού αιθυλεστέρα διαφοροποίησε ελάχιστα την παρεμβολή του υποστρώματος στη χρωματογραφική ανάλυση σε αντίθεση με το εξάνιο το οποίο οδήγησε σε αφαίρεση μεγάλου μέρους των παρεμβαλλομένων συστατικών του υποστρώματος ιδιαίτερα αυτών με μικρό χρόνο κατακράτησης στη χρωματογραφική στήλη (**παράρτημα, διάγραμμα Δ**).

Πίνακας 12.8. Ο χρόνος συγκράτησης, η γραμμικότητα και τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου

| | Χρόνος συγκράτησης t_R (min) ¹ | Γραμμικότητα | | Όρια μεθόδου ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | |
|--------------|---|---------------------|-------|--|-------|
| | | εύρος | r^2 | LOQ | LOD |
| Chlorpyrifos | 7,12 | 0,25-5 ² | 0,996 | 0,050 | 0,015 |
| TCP | 4,81 | 0,25-5 | 0,991 | 0,065 | 0,020 |

¹ Μέσος όρος των δειγμάτων (n=12)

² Εύρος συγκεντρώσεων σε $\mu\text{g mL}^{-1}$

Η δοκιμή με τη χρήση εξανίου ως εκχυλιστικό μέσο επαναλήφθηκε σε δύο επίπεδα φόρτισης (0,25 και 2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) και τα αποτελέσματα αποτυπώνεται στον **πίνακα 12.9**. Η γραμμικότητα της μεθόδου εκφρασμένη με τον συντελεστή προσαρμογής r^2 εμφάνισε τιμές μεγαλύτερες από 0,99 και για τις δύο ουσίες. Τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου ήταν μικρότερα από 0,02 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ και της ποσοτικοποίησης μικρότερα από 0,065 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (**πίνακας 12.8**).

Πίνακας 12.9. Ποσοστιαία ανάκτηση του chlorpyrifos και TCP σε δύο επίπεδα δοκιμών (0,25 και 2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) στο έδαφος και σε BX2 βιομίγμα μετά από καθαρισμό των δειγμάτων με εκχύλιση υγρής-υγρής φάσης και χρήση εξανίου σαν εκχυλιστικό μέσο

| | Έδαφος | | | | Βιομίγμα BX2 | | | |
|---------------------|-------------------|------------------|------|-----|--------------|------|------|------|
| | 0,25 ¹ | | 2,5 | | 0,25 | | 2,5 | |
| | % | RSD ² | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Chlorpyrifos | 83,1 | 11,2 | 90,4 | 6,3 | 82,1 | 9,8 | 84,8 | 10,4 |
| TCP | 75,1 | 6,9 | 80,6 | 3,4 | 73,4 | 12,6 | 70,4 | 13,5 |

¹ Σε $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

² Σχετική τυπική απόκλιση εκφρασμένη ως ποσοστό %

12.1.4. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του terbutylazine και των μεταβολιτών

Οι χρόνοι κατακράτησης του terbutylazine και των μεταβολιτών desethyl- και hydroxy- στις χρωματογραφικές συνθήκες που επιλέχθηκαν ήταν 13,52, 11,51 και 7,57 (**παράρτημα, διάγραμμα E**). Για την εκτίμηση της ακρίβειας της μεθόδου ανάλυσης του terbutylazine και των κυριότερων μεταβολιτών του από δείγματα εδάφους ή μιγμάτων οργανικών υλικών πραγματοποιήθηκε δοκιμή ανάκτησης σε τρία επίπεδα συγκεντρώσεων. Τα αποτελέσματα των δοκιμών αυτών συνοψίζονται στον **πίνακα 12.10**. Η ικανότητα παραλαβής του συνόλου των υπολειμμάτων των εξεταζόμενων ουσιών επιβεβαιώνεται από τα υψηλά ποσοστά ανάκτησης (>74,5%) ενώ ικανοποιητική εμφανίζεται και η επαναληψιμότητα, με την μικρή τιμή της σχετικής τυπικής απόκλισης μεταξύ των επαναλήψεων (RSD<14,2%)

Πίνακας 12.10. Ποσοστά ανάκτησης της μεθόδου ανάλυσης του terbutylazine και των μεταβολιτών του. Για τη δοκιμή χρησιμοποιήθηκε έδαφος (A) και το οργανικό υπόστρωμα BX2 (B)

| A | Έδαφος | | | | | |
|--------------------------------|-------------------|------|------|-----|-------|-----|
| | 0,25 ¹ | | 0,5 | | 2,5 | |
| | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Terbutylazine | 89,2 | 8,4 | 95,2 | 1,2 | 90,4 | 4,1 |
| Hydroxy- terbutylazine | 74,5 | 14,2 | 79,9 | 5,2 | 94,4 | 3,9 |
| Desethyl- terbutylazine | 90,3 | 7,7 | 78,9 | 3,3 | 103,2 | 9,2 |

| B | BX2 | | | | | |
|--------------------------------|-------|------|-------|-----|-------|------|
| | 0,25 | | 0,5 | | 2,5 | |
| | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Terbutylazine | 116,7 | 10,1 | 106,3 | 3,3 | 108,3 | 0,3 |
| Hydroxy- terbutylazine | 82,1 | 9,7 | 94,0 | 6,6 | 77,7 | 11,9 |
| Desethyl- terbutylazine | 90,8 | 3,0 | 84,4 | 6,9 | 106,0 | 0,8 |

¹ Σε $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Επίσης στο εύρος των συγκεντρώσεων που επιλέχθηκε, η γραμμικότητα της μεθόδου ήταν ικανοποιητική ($r^2 > 0,99$). Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού υπολογίστηκαν σε 0,015 ,

0,03 , 0,024 και 0,05 , 0,1 , 0,08 για τη μητρική ουσία και τους μεταβολίτες hydroxy- και desethyl-, αντίστοιχα (πίνακας 12.11).

Πίνακας 12.11. Αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου HPLC-UV για τον προσδιορισμό των terbutylazine, hydroxy terbutylazine και desethyl terbutylazine στα βιομίγματα

| | Χρόνος συγκράτησης t_R (min) | Γραμμικότητα | | Όρια μεθόδου ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | |
|--------------------------------|-----------------------------------|--------------|-------|--|-------|
| | | εύρος | r^2 | LOQ | LOD |
| Terbutylazine | 13,52 | 1-20 | 0,999 | 0,050 | 0,015 |
| Hydroxy-terbutylazine | 7,57 | 0,1-2 | 0,998 | 0,100 | 0,030 |
| Desethyl- terbutylazine | 11,51 | 0,1-2 | 0,999 | 0,080 | 0,024 |

12.1.5. Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού του metribuzin και των μεταβολιτών

Οι προκαταρκτικές δοκιμές για τον καθαρισμό των δειγμάτων περιελάμβανε τη χρήση μικροφισιγγίων C18 μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με μικροστήλες EnviCarb καθώς και την κατανομή υγρής-υγρής φάσης. Τα αποτελέσματα των δοκιμών ανάκτησης παρουσιάζονται στον **πίνακα 12.12**. Επίσης κάποια χαρακτηριστικά χρωματογραφήματα της δοκιμής αυτής παρουσιάζονται στο **διάγραμμα ΣΤ του παραρτήματος**.

Πίνακας 12.12. Οι ποσοστιαίες ανακτήσεις των metribuzin και των τριών κύριων μεταβολιτών του σε υποστρώμα BX2 μετά από στάδιο καθαρισμού με κατανομή σε χλωροφόρμιο ή διέλευση από στήλη C18 ή μετά από διαδοχική διέλευση από στήλες C18 και EnviCarb. Η φόρτιση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ υποστρώματος

| | C18 | | Κατανομή σε χλωροφόρμιο | | C18 + EnviCarb | |
|----------------------------------|-------|------|-------------------------|------|----------------|------|
| | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Diketometribuzin | 93,5 | 6,3 | 62,6 | 13,3 | 102,6 | 3,3 |
| Desaminodiketo metribuzin | 100,2 | 12,1 | 76,2 | 8,8 | 104,9 | 13,9 |
| Desamino metribuzin | 89,8 | 7,4 | 75,1 | 4,4 | 98,5 | 10,1 |
| Metribuzin | 85,6 | 6,2 | 82,9 | 12,2 | 102,4 | 10,7 |

Η χρησιμοποίηση στηλών C18 οδήγησε σε ικανοποιητικά ποσοστά ανάκτησης και για τις 4 ουσίες της δοκιμής αλλά οι μικροστήλες δεν κατάφεραν να απομακρύνουν επιτυχώς μεγάλο μέρος του υποστρώματος. Η κατανομή σε χλωροφόρμιο αντίθετα οδήγησε σε σημαντική μείωση των συστατικών του υποστρώματος αλλά η ικανότητα παραλαβής του diketo μεταβολίτη ήταν περιορισμένη. Αντίθετα το διαδοχικό πέρασμα των δειγμάτων από μικροστήλες EnviCarb και C18 οδηγεί ταυτόχρονα σε μείωση των παρεμβάλοντων συστατικών του υποστρώματος και σε ικανοποιητικά ποσοστά ανάκτησης.

Πίνακας 12.13. Αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου προσδιορισμού του metribuzin και των μεταβολιτών του στα δείγματα ελέγχου

| | Χρόνος συγκράτησης t_R (min) ¹ | Γραμμικότητα | | Όρια μεθόδου ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | |
|---|--|--------------|-------|--|------|
| | | εύρος | r^2 | LOQ | LOD |
| Diketo metribuzin (DK) | 14,71 | 0,1-2 | 0,999 | 0,1 | 0,03 |
| Desaminodiketo metribuzin (DADK) | 15,30 | 0,1-2 | 0,999 | 0,1 | 0,03 |
| Desamino metribuzin (DA) | 16,35 | 0,1-2 | 0,997 | 0,1 | 0,03 |
| Metribuzin (MTR) | 17,82 | 1-20 | 0,999 | 0,1 | 0,03 |

¹ Μέσος όρος των δειγμάτων (n=12)

Στις χρωματογραφικές συνθήκες της μεθόδου ο χρόνος συγκράτησης των ουσιών ήταν 14,7 έως 17,8 min. Επίσης η γραμμικότητα της μεθόδου ήταν ικανοποιητική ($r^2 > 0,997$). Τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού ορίστηκαν στη μικρότερη συγκέντρωση στην οποία η δοκιμή ανάκτησης ήταν επιτυχής (**πίνακας 12.13**). Οι δοκιμές ανακτήσεις του metribuzin και των μεταβολιτών του παρουσιάζονται στον **πίνακα 12.14**. Τα υψηλά ποσοστά ανάκτησης (>72,4%) και η μικρή τιμή του ποσοστιαίου τυπικού σφάλματος (<20,4%) φανερώνουν την υψηλή αποτελεσματικότητα της μεθόδου για παραλλαγή των ουσιών από όλα τα υποστρώματα.

Πίνακας 12.14. Ποσοστιαία ανάκτηση του metribuzin (MTR) και των μεταβολιτών diketo (DK), desamino (DA) και desaminodiketo metribuzin (DADK) σε δύο επίπεδα δοκιμών (0,1 και 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Τα υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν για τη δοκιμή ήταν έδαφος και βιομίγματα STRBX, OBX

| | soil | | | | STRBX | | | | OBX | | | |
|-------------|------------------|------|------|------|-------|------|-------|------|------|-----|-------|------|
| | 0,1 ¹ | | 0,5 | | 0,1 | | 0,5 | | 0,1 | | 0,5 | |
| | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| DK | 90,8 | 10,9 | 91,3 | 4,0 | 100,8 | 9,7 | 102,6 | 3,3 | 81,2 | 5,2 | 102,0 | 11,9 |
| DADK | 97,9 | 13,7 | 92,3 | 12,7 | 100,4 | 10,1 | 104,9 | 13,9 | 95,5 | 5,8 | 109,6 | 6,5 |
| DA | 80,8 | 15,5 | 86,4 | 4,1 | 90,8 | 20,4 | 98,5 | 10,1 | 76,3 | 2,2 | 86,4 | 4,1 |
| MTR | 78,6 | 12,0 | 87,4 | 8,9 | 75,0 | 12,1 | 102,4 | 10,7 | 72,4 | 7,3 | 86,7 | 5,3 |

¹ Σε $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

12.2. Δοκιμές προσρόφησης

Τα αποτελέσματα των δοκιμών ανάκτησης για τη μέθοδο προσδιορισμού των υπολειμμάτων των 4 ουσιών της δοκιμής σε υδατικά διαλύματα εμφανίζονται στον **πίνακα 12.15**. Στις χρωματογραφικές συνθήκες που επιλέχθηκαν οι χρόνοι συγκράτησης των τεσσάρων ουσιών βρίσκονταν μεταξύ 10,20 και 21,54 (**πίνακας 12.16**). Σε κάθε περίπτωση οι ποσοστιαίες ανακτήσεις των υπολειμμάτων είναι υψηλότερες του 70%, με τη μέση ποσοστιαία ανάκτηση, ανεξάρτητα της συγκέντρωσης εμβολιασμού να είναι μεγαλύτερη από 87% για κάθε ουσία. Επίσης η παραλλακτικότητα μεταξύ των επαναλήψεων ήταν ικανοποιητική (RSD%<11) σε όλα τα επίπεδα συγκεντρώσεων της δοκιμής

Πίνακας 12.15. Αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου προσδιορισμού των metalaxyl-M, metribuzin, terbuthylazine και indoxacarb σε υδατικά διαλύματα σε διάφορα επίπεδα ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

| | Ανάκτηση | | | | | | | |
|-------------------------------|-------------------|------------------|------|-----|-------|------|-------|------|
| | 0,01 ¹ | | 0,2 | | 2 | | 5 | |
| | % | RSD ² | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Terbuthylazine | nd | - | 87,7 | 3,5 | 90,1 | 8,4 | 91,1 | 5,5 |
| Metalaxyl-M | nd | - | 90,2 | 8,5 | 93,4 | 3,4 | 88,9 | 11,0 |
| Metribuzin | nd | - | 99,4 | 9,9 | 102,7 | 4,2 | 107,1 | 4,9 |
| Indoxacarb³ | 98,9 | 3,9 | 87,1 | 8,4 | 103,1 | 11,1 | nd | - |

¹ Σε $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

² Σχετική τυπική απόκλιση εκφρασμένη ως ποσοστό %

³ Για τη χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε ο ανιχνευτής ECD

Για τον ορισμό των ορίων ποσοτικοποίησης της μεθόδου ανάλυσης χρησιμοποιήθηκαν τα μικρότερα επίπεδα συγκεντρώσεων στα οποία η δοκιμάστηκε η μέθοδος. Τα όρια της ανίχνευσης της μεθόδου ορίστηκαν ως το 1/3 της τιμής της συγκέντρωσης που αντιστοιχεί στο LOQ κάθε ουσίας.

Πίνακας 12.16. Χρόνος συγκράτησης (t_R), γραμμικότητα και τα όρια ανίχνευσης και προσδιορισμού της μεθόδου

| | Χρόνος συγκράτησης t_R (min) | Γραμμικότητα | | LOQ | LOD |
|----------------------|--------------------------------|---------------------|-------|--------------------------|--------------------------|
| | | εύρος | r^2 | ($\mu\text{g g}^{-1}$) | ($\mu\text{g g}^{-1}$) |
| Terbutylazine | 10,199 | 0,5-10 ¹ | 0,999 | 0,2 | 0,07 |
| Metalaxyl-M | 11,110 | 0,5-10 | 0,999 | 0,2 | 0,07 |
| Metribuzin | 11,411 | 0,5-10 | 0,999 | 0,2 | 0,07 |
| Indoxacarb | 21,544 | 0,01-0,2 | 0,999 | 0,01 | 0,003 |

¹ Σε $\mu\text{g mL}^{-1}$

12.3. Δοκιμές έκπλυσης

12.3.1. Προκαταρκτικές δοκιμές

Σταθερότητα ουσιών στο υδατικό διάλυμα

Οι ουσίες που επιλέχθηκαν για τις δοκιμές έκπλυσης παρουσίασαν μεγάλες διαφορές ως προς την σταθερότητα τους κατά την αποθήκευση. Από τις ουσίες αυτές μόνο το metalaxyl-M εμφάνισε ικανοποιητική σταθερότητα σε συνθήκες εργαστηρίου ανεξάρτητα από το υπόστρωμα δοκιμής. Αντιθέτως το iprodione εμφάνισε ισχυρή τάση υδρόλυσης σε όλες τις συνθήκες διατήρησης του. Είναι χαρακτηριστικό ότι μια εβδομάδα παραμονής σε θερμοκρασία δωματίου είναι αρκετή ώστε να απομακρύνει το 95-98% της συνολικής ποσότητας του iprodione (**πίνακας 12.17**). Ακόμη όμως και η ψύξη στους 4°C δεν είναι ικανή να αποτρέψει την αβιοτική διάσπαση του μορίου. Στην περίπτωση αυτή οι απώλειες των υπολειμμάτων αγγίζουν το 68-90%, ανάλογα με το υπόστρωμα μελέτης. Η ισχυρή τάση αποδόμησης του μορίου αποδίδεται στις αλκαλικές συνθήκες του εκπλύματος (Walker, 1987).

Πίνακας 12.17. Η σταθερότητα πέντε φ.ο. σε δύο υδατικά διαλύματα από έκπλυμα (εδάφους, S3 και βιομίγματος με βάση την κομπόστα, LBX). Τα δείγματα διατηρήθηκαν για επτά ημέρες μετά την εφαρμογή των ουσιών σε συνθήκες δωματίου (23°C ± 2) και στη συντήρηση (4°C) πριν την ανάλυση τους. Κάθε τιμή αντιπροσωπεύει το σήμα του ανιχνευτή (εμβαδό κορυφής) εκφρασμένο ως ποσοστό της τιμής σε χρόνο t=0. Ο δείκτης (*) φανερώνει στατιστικά σημαντικές διαφορές (n=3, p<0,05)

| | Συγκέντρωση ¹ | S3 | | LBX | |
|----------------------|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| | | 23°C | 4°C | 23°C | 4°C |
| Terbutylazine | 0,8 | 82,2 | 80,1 | 84,6 * | 101,3 |
| Metalaxyl-M | 4,0 | 89,5 | 106,2 | 108,2 | 111,0 |
| Metribuzin | 2,0 | 65,4 * | 106,5 | 106,6 | 114,2 |
| Chlorpyrifos | 0,4 | 72,9 * | 105,4 | 98,9 | 103,2 |
| Iprodione | 16 | 1,6 * | 10,4 * | 4,8 * | 22,5 * |

¹ Σε $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτά η τακτική μετάγγιση των εκπλυμάτων από τις φιάλες συλλογής στις φιάλες συντήρησης και η αποθήκευση των δειγμάτων μελέτης στους 4°C δεν επαρκεί για την εξασφάλιση της σταθερότητας των υπολειμμάτων. Για το λόγο αυτό δοκιμάστηκε η διόρθωση της τιμής του pH στην ουδέτερη-όξινη περιοχή για τον περιορισμό των απωλειών λόγω αλκαλικής υδρόλυσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η διόρθωση του pH στην ουδέτερη ή όξινη περιοχή τιμών προ της αποθήκευσης των δειγμάτων στους 4°C εξασφαλίζει ικανοποιητική σταθερότητα για περίοδο τουλάχιστο μιας εβδομάδας (**πίνακας 12.18**)

Πίνακας 12.18. Η σταθερότητα πέντε φ.ο. σε δύο υδατικά διαλύματα από έκπλυμα υποστρωμάτων εδάφους (S3) και βιομίγματα με βάση την κομπόστα (LBX) Τα δείγματα διατηρήθηκαν για επτά ημέρες μετά την εφαρμογή των ουσιών σε θερμοκρασία συντήρησης (4°C) με διόρθωση του pH στις τιμές 5, 6, 7. Οι τιμές εκφράστηκαν ως ποσοστό της χρωματογραφικής απόκρισης σε χρόνο t=0. Ο δείκτης (*) φανερώνει στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$)

| | S3 | | | LBX | | |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|------|-------|
| | pH 5 | pH 6 | pH 7 | pH 5 | pH 6 | pH 7 |
| Terbutylazine | 89,9 | 98,5 | 86,1 | 106,1 | 96,7 | 118,4 |
| Metalaxyl-M | 105,1 | 108,3 | 106,4 | 97,0 | 92,7 | 108,3 |
| Metribuzin | 104,6 | 104,0 | 108,1 | 102,3 | 97,7 | 111,2 |
| Chlorpyrifos | 109,2 | 107,2 | 102,5 | 94,5 | 89,6 | 100,7 |
| Iprodione | 104,6 | 105,8 | 110,9 | 99,7 | 89,4 | 93,9 |

Καθαρισμός δειγμάτων

Η μέθοδος παραλαβής των ουσιών με τη χρήση των μικροσφαιρών Isolute C18 δεν οδηγεί σε ικανοποιητικά ποσοστά ανάκτησης για μερικές από τις ουσίες της δοκιμής ιδιαίτερα για το metalaxyl-M και το iprodione όπου οι ποσοστιαίες ανακτήσεις είναι μικρότερες των ανεκτών ορίων. Αντιθέτως η κατανομή υγρής-υγρής φάσης με τη χρήση διχλωρομεθανίου οδήγησε σε ικανοποιητικές ανακτήσεις για το σύνολο των ουσιών όχι όμως και σε ικανοποιητικό καθαρισμό των δειγμάτων από τα συστατικά του υποστρώματος (**πίνακας 12.19**). Εξαίρεση είναι η αδυναμία ικανοποιητικής παραλαβής του metribuzin με τη χρήση του εξάνιου ως διαλύτη εκχύλισης. Η χρήση του εξάνιου (μη πολικός διαλύτης) οδήγησε σε ικανοποιητικό καθαρισμό του δείγματος και σε ικανοποιητικά ποσοστά παραλαβής των ουσιών με εξαίρεση το metribuzin. Η χρήση όμως μίγματος των δύο διαλυτών εξάνιο και διχλωρομεθάνιο σε αναλογία 80:20 vol.% οδήγησε ταυτόχρονα σε αποδεκτά ποσοστά ανάκτησης και αφαίρεση μεγάλου μέρους παρεμβάλλοντων συστατικών του υποστρώματος (**πίνακας 20.2**).

Πίνακας 12.19. Ποσοστιαία ανάκτηση και σχετικό τυπικό σφάλμα τριών μεθόδων που δοκιμάστηκαν για την παραλαβή των ουσιών terbutylazine, metalaxyl-M, metribuzin, chlorpyrifos και iprodione σε εκπλύματα στηλών BX φορτισμένων με τις ουσίες σε συγκέντρωση HR:20

| | C18 | | Διχλωρομεθάνιο | | Εξάνιο | |
|----------------------|------|------|----------------|------|--------|------|
| | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Terbutylazine | 72,1 | 13,0 | 93,4 | 7,3 | 107,3 | 10,2 |
| Metalaxyl-M | 62,9 | 12,9 | 116,6 | 9,9 | 90,8 | 10,1 |
| Metribuzin | 95,8 | 9,2 | 95,0 | 3,1 | 31,3 | 5,1 |
| Chlorpyrifos | 70,3 | 30,6 | 102,1 | 1,9 | 96,6 | 3,4 |
| Iprodione | 39,6 | 27,6 | 71,9 | 10,7 | 84,5 | 8,7 |

12.3.2. Επικύρωση τελικής μεθόδου

Γραμμικότητα, ορθότητα μεθόδου και όρια ανίχνευσης-ποσοτικοποίησης

Η γραμμικότητα του ανιχνευτή υπολογίστηκε σε μικτά πρότυπα διαλύματα εδάφους και υποστρώματος BX και σε εύρος τιμών συγκεντρώσεων HR:20 έως HR¹ εμφάνισε ικανοποιητικές τιμές $r^2 > 0,99$ σε κάθε περίπτωση. Επίσης τα αποτελέσματα των δοκιμών ανάκτησης στα 4 επίπεδα που επιλέχθηκαν εμφανίζονται στον **πίνακα 12.20**. Είναι φανερό ότι η μέθοδος που επιλέχθηκε είναι σε θέση να δώσει ορθά και αξιόπιστα αποτελέσματα καθώς το ποσοστό ανάκτησης των ουσιών κυμάνθηκε από 86 έως 108% σε όλες τις περιπτώσεις ενώ και το σχετικό τυπικό σφάλμα είχε τιμή

¹ HR: 0,4 , 0,8 , 2 , 4 , 16 $\mu\text{g mL}^{-1}$ των ουσιών terbutylazine, metribuzin, metalaxyl-M, iprodione και chlorpyrifos αντίστοιχα

μικρότερη του 15%. Τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού εμφάνισαν ένα εύρος τιμών μεταξύ 0,008 (chlorpyrifos) και 0,334 (iprodione)

Πίνακας 12.20. Ποσοσταία ανάκτηση και τα όρια ανίχνευσης και προσδιορισμού της μεθόδου παραλαβής των υπολειμμάτων πέντε φ.ο. από το έκπλυμα

| | Όρια μεθόδου ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | | Ανακτήσεις | | | | | | | |
|----------------------|--|-------|----------------|------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
| | LOD | LOQ | HR:160 | | HR: 80 | | HR: 40 | | HR | |
| | | | % | RSD | % | RSD | % | RSD | % | RSD |
| Terbutylazine | 0,067 | 0,022 | - [†] | - | - | - | 95,83 | 13,58 | 96,45 | 14,69 |
| Metalaxyl-M | 0,084 | 0,028 | 99,44 | 0,97 | 97,06 | 10,93 | 100,83 | 5,16 | 97,73 | 8,78 |
| Metribuzin | 0,042 | 0,014 | 87,38 | 4,03 | 94,05 | 2,19 | 90,24 | 2,70 | 86,51 | 5,21 |
| Chlorpyrifos | 0,008 | 0,003 | 107,70 | 3,51 | 102,56 | 8,86 | 92,54 | 14,38 | 100,00 | 10,62 |
| Iprodione | 0,334 | 0,111 | 94,93 | 7,00 | 100,34 | 2,94 | 103,13 | 15,75 | 93,67 | 8,44 |

[†] επίπεδο συγκέντρωσης μικρότερο του ορίου ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ)

Επίδραση υποστρώματος

Οι διαδοχικές εκχύσεις πρότυπων διαλυμάτων που παρασκευάστηκαν σε καθαρό διαλύτη και σε εκχυλίσματα των υποστρωμάτων φανέρωσαν την ύπαρξη σημαντικών διαφορών στην ένταση του χρωματογραφικού σήματος οφειλόμενων στην επίδραση του υποστρώματος. Σε όλες τις περιπτώσεις η παρουσία του υποστρώματος είχε θετικό αντίκτυπο στην απόκριση του χρωματογραφικού σήματος με εξαίρεση το iprodione για το οποίο η αλληλεπίδραση αναλύτη και συστατικών του υποστρώματος οδηγεί σε μικρότερες τιμές σήματος από αυτές που προκύπτουν από την χρωματογραφική ανάλυση προτύπου της ίδιας συγκέντρωσης σε καθαρό διαλύτη (**πίνακας 12.21**). Επομένως στη χάραξη των πρότυπων καμπύλων αναφοράς για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων στα δείγματα μελέτης ήταν επιβεβλημένη η χρήση φορτισμένων εκχυλισμάτων του κάθε υποστρώματος

Πίνακας 12.21. Μέση χρωματογραφική απόκριση πέντε φ.ο. μετά από έκχυση τους σε χρωματογράφο NPD κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Οι ουσίες προστέθηκαν σε εκχύλισμα εδάφους και σε εκχυλίσματα των οργανικών υποστρωμάτων της δοκιμής. Οι δείκτες a και b αντιπροσωπεύουν στατιστικές διαφορές με βάση τα όρια εμπιστοσύνης (95%)

| | S | OBX | BX | GS |
|----------------------|---------|---------|---------|---------|
| Terbutylazine | 119,4 a | 121,2 a | 114,2 a | 113,4 a |
| Metalaxyl-M | 125,9 a | 128,1 a | 126,7 a | 124,9 a |
| Metribuzin | 126,3 a | 127,8 a | 127,5 a | 125,1 a |
| Chlorpyrifos | 130,5 a | 135,2 a | 133,9 a | 130,7 a |
| Iprodione | 111,6 a | 87,6 b | 87,3 b | 85,0 b |

Περιγραφή της κινητικής αποδόμησης στα δείγματα εργασίας

13.1. Εισαγωγή

Η επιλογή του μοντέλου για τη μαθηματική περιγραφή της πορείας μείωσης των υπολειμμάτων των φ.ο. καθορίζει την αξιοπιστία των παραμέτρων της αποδόμησης (*degradation endpoints*) δηλαδή του ρυθμού αποδόμησης (k) και χρόνου ημιζωής ($t_{1/2}$). Για την ακρίβεια, στην αποτίμηση των αποτελεσμάτων είναι απαραίτητο να τεθούν συγκεκριμένοι κανόνες τόσο στο χειρισμό των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τη χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων όσο και στην αξιολόγηση της καταλληλότητας κάθε μοντέλου που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την γραφική και μαθηματική αποτύπωση των αποτελεσμάτων.

13.2. Επιλογή κινητικού μοντέλου

Τα αποτελέσματα, που προέκυψαν από τα πειράματα αποδόμησης τοποθετήθηκαν σε σύστημα αξόνων, όπου ο οριζόντιος άξονας αντιπροσωπεύει το χρόνο επώασης και ο κατακόρυφος τη συγκέντρωση των υπολειμμάτων εκφρασμένη ως ποσοστό επί της αρχικής συγκέντρωσης. Ως αρχική συγκέντρωση ορίστηκε η μετρούμενη συγκέντρωση της φ.ο. αμέσως μετά την εφαρμογή ($t=0$) και όχι η θεωρητικά εφαρμοσθείσα ποσότητα. Για την αξιόπιστη περιγραφή των αποτελεσμάτων αποδόμησης χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από 9 διαφορετικά χρονικά σημεία δειγματοληψίας, αριθμός που υπερκαλύπτει την ελάχιστη απαίτηση για 6 χρόνους δειγματοληψίας, που προτείνεται στην οδηγία OECD, (2001). Εξάιρεση από το όριο των 6 σημείων δειγματοληψίας εμφανίζεται στο dimethoate, όπου λόγω της ταχείας διάσπασης του ο αριθμός των σημείων που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση των κινητικών παραμέτρων συνήθως δεν ξεπερνά τα 5. Η αποτίμηση της αξιοπιστίας 6 κινητικών μοντέλων (όπως παρουσιάστηκαν στην **παράγραφο 4.5.2.**) που χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή της πορείας αποδόμησης 8 φ.ο. σε τρία διαφορετικής σύστασης υποστρώματα εμφανίζεται στον **πίνακα 13.1**. Η αποτελεσματικότητα κάθε μοντέλου, όπως αυτή αποτυπώνεται από τις παραμέτρους σφάλμα της δοκιμής χ^2 και συντελεστής παλινδρόμησης r^2 , διαφοροποιείται τόσο μεταξύ ουσιών όσο και μεταξύ υποστρωμάτων.

Πίνακας 13.1. Καταγραφή των παραμέτρων $t_{1/2}$, συντελεστής παλινδρόμησης (r^2), σφάλμα δοκιμής χ^2 της στατιστικής ανάλυσης για έξι κινητικά μοντέλα που περιγράφουν την πορεία αποδόμησης οκτώ φ.ο. σε τρία διαφορετικής σύστασης υποστρώματα (έδαφος-S1, βιομίγμα που περιέχει κομπόστα-BX1 και βιομίγμα με τύρφη-OBX1).

| | | SFO ¹ | | | GH | | | HS | | | Bi-Ex | | | HA | | | SM | | |
|-------------|----------------------|------------------|-----------|----------|-------|-----------|----------|-------|-----------|----------------|-------|----------------|----------|-------|-----------|----------|-------|-----------|----------|
| | | r^2 | $t_{1/2}$ | χ^2 | r^2 | $t_{1/2}$ | χ^2 | r^2 | $t_{1/2}$ | χ^2 | r^2 | $t_{1/2}$ | χ^2 | r^2 | $t_{1/2}$ | χ^2 | r^2 | $t_{1/2}$ | χ^2 |
| BX1 | Terbutylazine | 0,882 | 57,8 | 7,6 | 0,934 | 41,0 | 4,4 | 0,941 | 43,0 | 3,6 | 0,947 | 41,0 | 2,7 | 0,934 | 40,8 | 3,8 | 0,919 | 41,2 | 5,0 |
| | Dimethoate | 0,942 | 5,8 | 13,2 | 0,900 | 5,8 | 15,8 | 0,900 | 2,7 | — ² | 0,900 | 6,0 | — | 0,935 | 5,0 | 0,8 | 0,909 | 6,3 | 14,1 |
| | Metalaxyl-M | 0,865 | 34,7 | 11,4 | 0,882 | 45,1 | 9,3 | 0,974 | 49,1 | 2,4 | 0,882 | 49,0 | 10 | 0,963 | 52,0 | 3,8 | 0,964 | 51,1 | 3,6 |
| | Metribuzin | 0,979 | 21,0 | 6,6 | 0,966 | 22,7 | 6,4 | 0,968 | 23,9 | 6,5 | 0,966 | 24,0 | 6,9 | 0,956 | 27,1 | 9,7 | 0,968 | 23,1 | 6,3 |
| | Buprofezin | 0,975 | 28,9 | 6,0 | 0,974 | 23,6 | 5,0 | 0,983 | 23,9 | 3,6 | 0,983 | 23,0 | 3,4 | 0,974 | 22,4 | 5,3 | 0,966 | 27,8 | 6,2 |
| | Iprodione | 0,760 | 31,5 | 27,2 | 0,895 | 9,4 | 5,9 | 0,904 | 9,8 | 2,2 | 0,902 | 9,5 | 3,4 | 0,895 | 9,4 | 5,9 | 0,901 | 9,4 | 3,8 |
| | Indoxacarb | 0,441 | 53,3 | 35,2 | 0,833 | 8,6 | 18,4 | 0,916 | 7,1 | 11,6 | 0,896 | 7,5 | 14,1 | 0,833 | 8,5 | 18,4 | 0,884 | 7,1 | 14,5 |
| | Azoxystrobin | 0,866 | 25,7 | 22,8 | 0,932 | 7,9 | 9,4 | 0,931 | 7,8 | 10,9 | 0,940 | 7,0 | 8,4 | 0,932 | 7,9 | 9,4 | 0,913 | 9,4 | 12,7 |
| S1 | Terbutylazine | 0,800 | 99,0 | 5,2 | 0,922 | 206,5 | 2,6 | 0,906 | 105,1 | 3,4 | 0,924 | 173,0 | 2,6 | 0,922 | 205,5 | 2,6 | 0,812 | 97,5 | 5,3 |
| | Dimethoate | 0,972 | 5,9 | 35,3 | 0,995 | 7,2 | 3,9 | 0,997 | 7,9 | 2,3 | 0,998 | 7,5 | 4,5 | 0,998 | 7,9 | 1,5 | 0,995 | 7,2 | 15,2 |
| | Metalaxyl-M | 0,650 | 173,3 | 5,6 | 0,929 | 1920,4 | 2,0 | 0,900 | 236,5 | 2,8 | 0,936 | ∞ ³ | 1,9 | 0,906 | 700,0 | 2,5 | 0,663 | 145,5 | 5,7 |
| | Metribuzin | 0,841 | 34,7 | 17,1 | 0,980 | 13,8 | 5,5 | 0,964 | 11,7 | 8,2 | 0,979 | 14,0 | 5,7 | 0,980 | 13,8 | 5,5 | 0,980 | 14,2 | 5,3 |
| | Buprofezin | 0,728 | 86,6 | 8,8 | 0,949 | 74,0 | 3,1 | 0,933 | 73,0 | 4,2 | 0,962 | ∞ | 2,2 | 0,949 | 74,1 | 3,1 | 0,961 | ∞ | 2,2 |
| | Iprodione | 0,745 | 86,6 | 6,9 | 0,891 | 110,3 | 3,1 | 0,880 | 75,0 | 4,0 | 0,893 | 69,0 | 3,6 | 0,890 | 108,6 | 3,1 | 0,870 | ∞ | 4,0 |
| | Indoxacarb | 0,015 | 231,0 | 54,9 | 0,343 | 14,5 | 48,2 | 0,621 | 7,7 | 38,7 | 0,586 | 11,0 | 40,3 | 0,343 | 14,5 | 48,2 | 0,447 | 9,2 | 44,0 |
| | Azoxystrobin | 0,730 | 69,3 | 10,8 | 0,968 | 41,8 | 2,6 | 0,945 | 48,7 | 4,7 | 0,967 | 45,0 | 3,1 | 0,968 | 41,9 | 2,6 | 0,968 | 42,4 | 2,6 |
| OBX1 | Terbutylazine | 0,970 | 38,5 | 5,1 | 0,976 | 30,5 | 1,6 | 0,977 | 31,4 | 1,0 | 0,976 | 30,5 | 1,6 | 0,976 | 30,5 | 1,6 | 0,968 | 42,4 | 1,9 |
| | Dimethoate | 0,962 | 6,0 | 25,3 | 0,910 | 9,0 | 16,5 | 0,978 | 10,8 | 1,3 | 0,910 | 10,5 | 18,9 | 0,935 | 11,5 | — | 0,972 | 11,7 | 7,8 |
| | Metalaxyl-M | 0,027 | ∞ | 4,1 | 0,062 | ∞ | 4,2 | 0,140 | ∞ | 4,5 | 0,113 | ∞ | 4,1 | 0,027 | 5936,0 | 4,4 | 0,094 | ∞ | 4,0 |
| | Metribuzin | 0,978 | 27,7 | 4,9 | 0,967 | 25,1 | 4,4 | 0,969 | 27,2 | 4,2 | 0,968 | 27,0 | 4,5 | 0,967 | 25,4 | 4,4 | 0,967 | 22,4 | 6,0 |
| | Buprofezin | 0,833 | 86,6 | 7,0 | 0,944 | 88,6 | 1,9 | 0,937 | 71,3 | 2,7 | 0,944 | 74,0 | 2 | 0,944 | 89,3 | 1,9 | 0,813 | 72,0 | 7,0 |
| | Iprodione | 0,198 | ∞ | 2,9 | 0,191 | ∞ | 2,8 | 0,257 | ∞ | 3,1 | 0,238 | ∞ | 2,9 | 0,197 | ∞ | 2,8 | 0,191 | ∞ | 2,8 |
| | Indoxacarb | 0,708 | 115,5 | 6,1 | 0,736 | 222,0 | 5,9 | 0,764 | 134,8 | 5,8 | 0,745 | 145,0 | 6,1 | 0,736 | 221,6 | 5,9 | 0,703 | 106,7 | 6,4 |
| | Azoxystrobin | 0,924 | 17,3 | 15,3 | 0,931 | 13,7 | 9 | 0,935 | 13,1 | 8,5 | 0,933 | 15,0 | 9 | 0,901 | 15 | — | 0,931 | 17,0 | 14,3 |

¹ SFO: Κινητικό μοντέλο 1^{ns} τάξης/ GH: Μοντέλο Gustafson-Holden/ HS: μοντέλο hockey-stick/ Bi-Ex: διεκθετικό μοντέλο/ HA: μοντέλο Hammaker/ SM: μοντέλο Suett

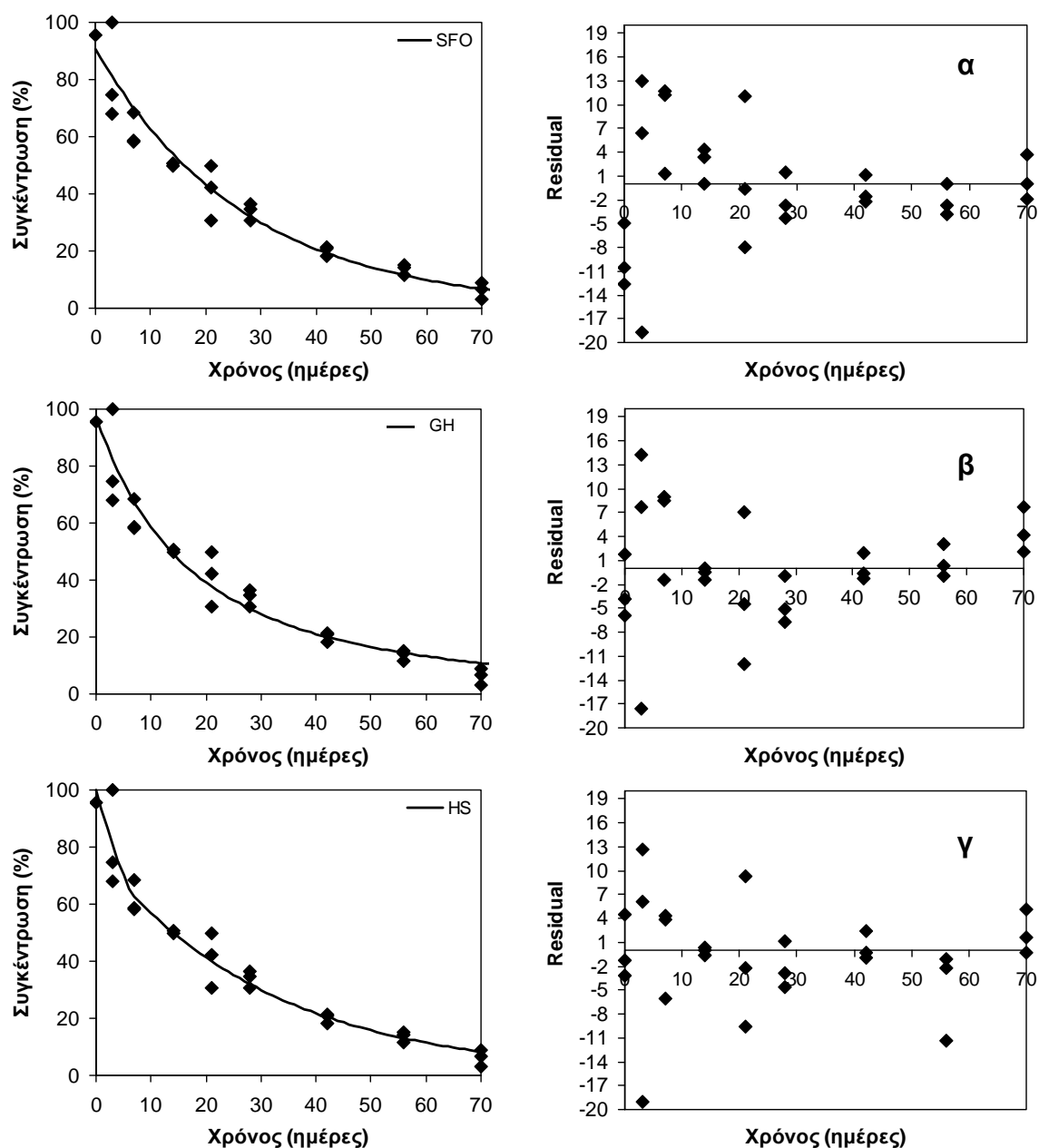
² Αδυναμία του στατιστικού προγράμματος να δώσει τιμή

³ Τιμή που τείνει στο άπειρο

Σε όλες τις περιπτώσεις τα μοντέλα δύο φάσεων εμφάνισαν μεγαλύτερη ικανότητα προσαρμογής στα δεδομένα έναντι της απλής εκθετικής συνάρτησης. Επίσης, η σύγκριση των διαφορετικών σύνθετων μοντέλων αποδόμησης έδειξε ότι στις περισσότερες περιπτώσεις οι διαφοροποιήσεις στην τιμή του σφάλματος χ^2 ήταν ελάχιστες. Εξαιρέση αποτελούσε η πορεία αποδόμησης του indoxacarb για το οποίο η χρήση του μοντέλου hockey stick (HS) δίνει συστηματικά μικρότερες τιμές σφάλματος της δοκιμής χ^2 σε όλα τα υποστρώματα. Γενικά στις περιπτώσεις που η πορεία αποδόμησης δεν μπορεί να περιγραφεί ικανοποιητικά με τη χρήση της κινητικής εξίσωσης πρώτης τάξης θα χρησιμοποιείται το μοντέλο δύο φάσεων hockey stick, το οποίο εμφανίζει τρία συγκριτικά πλεονεκτήματα, παρά το μειονέκτημα των 4 παραμέτρων (C_0 , k_1 , k_2 , t_b) που απαιτούνται για την περιγραφή του. Τα πλεονεκτήματα αυτά είναι ότι σε αντίθεση με τα υπόλοιπα σύνθετα μοντέλα οι τιμές k_1 και k_2 μπορούν άμεσα να συγκριθούν με το συντελεστή k του κινητικού μοντέλου πρώτης τάξης, το μοντέλο είναι πιο ευαίσθητο στις απότομες μεταβολές του ρυθμού αποδόμησης (π.χ. indoxacarb) και τέλος είναι το μοναδικό μοντέλο που μπορεί να περιγράψει ικανοποιητικά την πορεία αποδόμησης με αρχική φάση υστέρησης (π.χ. metalaxyl-M)

13.3. Κινητική αποδόμησης πρώτης τάξης

Η εξίσωση κινητικής πρώτης τάξης (SFO) καλύπτει την απαίτηση για απλότητα στη περιγραφή των αποτελεσμάτων και για το λόγο αυτό προκρίνεται ως μαθηματικό εργαλείο για την περιγραφή της κινητικής συμπεριφοράς αποδόμησης στα αποτελέσματα των δοκιμών αποδόμησης. Στην κατηγορία των ουσιών όπου η κινητική πρώτης τάξης οδηγεί σχεδόν πάντα σε ικανοποιητική εκτίμηση των παραμέτρων αποδόμησης περιλαμβάνονται ουσίες με σχετικά αργό ρυθμό αποδόμησης (terbuthylazine, buprofezin και chlorpyrifos). Επίσης, καλή εφαρμογή της κινητικής πρώτης τάξης στα αποτελέσματα αποδόμησης παρατηρήθηκε και για τις φ.ο. metribuzin, dimethoate παρά την μεγάλη ταχύτητα αποδόμησης τους. Αυτό αποδίδεται στο γεγονός ότι η ταχεία διάσπαση των ουσιών συνδυάζεται με απουσία ισχυρής προσρόφησης τους στα συστατικά των υποστρωμάτων (μικρή τιμή K_{oc}) γεγονός που επιτρέπει τη διατήρηση ενός σταθερού ρυθμού μείωσης της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων μέχρι τη πλήρη διάσπαση τους. Στο **διάγραμμα 13.1** απεικονίζεται η αποδόμηση του chlorpyrifos στο BX5 βιομίγμα. Τα αποτελέσματα της δοκιμής αναπαραστάθηκαν σε σύστημα αξόνων και η μείωση των υπολειμμάτων στην πορεία του χρόνου περιγράφηκε με κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης και δύο σύνθετα κινητικά μοντέλα (μοντέλο Gustafson Holden, μοντέλο Hockey Stick). Και τα τρία μοντέλα έδωσαν ικανοποιητικές τιμές των παραμέτρων σφάλμα χ^2 και r^2 , με την ικανότητα προσαρμογής στα δεδομένα να αυξάνεται με τη σειρά SFO<GH<HS. Σε κάθε περίπτωση το σφάλμα της δοκιμής χ^2 εμφάνισε τιμή μικρότερη της αποδεκτής τιμής (15%) και η παράμετρος συντελεστής παλινδρόμησης (r^2) παρουσίασε τιμές μεγαλύτερες του 0,900. Παράλληλα η τιμή της αρχική συγκέντρωσης (C_0) προσεγγίζει ικανοποιητικά την αρχική τιμή ορισμού (100%). Στην περίπτωση αυτή και σε παρόμοιες περιπτώσεις άλλων συνδυασμών φ.ο.-υποστρώματος η χρήση της κινητικής πρώτης τάξης προκρίνεται έναντι των σύνθετων μοντέλων καθώς επιτυγχάνεται ικανοποιητική ακρίβεια ($r^2 > 0,9$, τιμή σφάλματος $\chi^2 < 15$), απλότητα περιγραφής και ευκολία μαθηματικής αποτύπωσης της αποδόμησης (σταθερός ρυθμός αποδόμησης k).



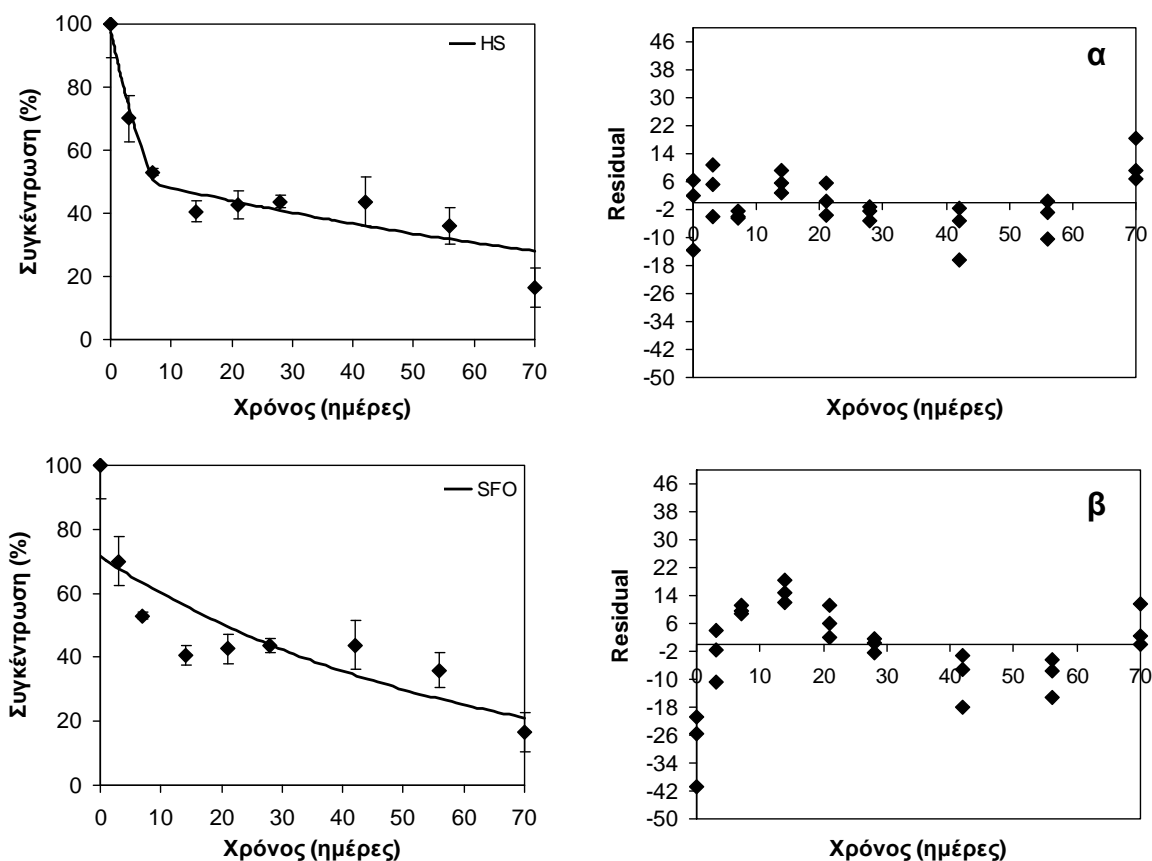
| | C_0 (%) | a | b | k_1 (d^{-1}) | k_2 (d^{-1}) | t_b (d) | r^2 | Σφάλμα της δοκιμής χ^2 |
|---------------------------------------|-----------|-------|-------|--------------------|--------------------|-----------|-------|-----------------------------|
| Κινητική 1 ^{ου} βαθμού (SFO) | 90,65 | — | — | 0,037 | — | — | 0,945 | 7,9 |
| Gustafson-Holden (GH) | 97,31 | 1,939 | 33,32 | — | — | — | 0,953 | 5,9 |
| Hockey Stick (HS) | 100 | — | — | 0,071 | 0,032 | 6,27 | 0,962 | 5,2 |

Διάγραμμα 13.1. Γραφική αναπαράσταση των αποτελεσμάτων αποδόμησης του εντομοκτόνου chlorpyrifos στο υπόστρωμα BX5. Τα αποτελέσματα ανάγονται σε ποσοστό επί της αρχικά εφαρμοσθείσας ποσότητας. Τα μοντέλα SFO (α), GH (β) και HS (γ) χρησιμοποιήθηκαν για την αποτίμηση της αποτελεσματικότητας προσαρμογής

13.4. Πορεία αποδόμησης με αλλαγή του ρυθμού μείωσης των υπολειμμάτων

Κατά τη στατιστική ανάλυση και τη γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων εμφανίστηκαν περιπτώσεις όπου η εξίσωση της κινητικής πρώτης τάξης απέτυχε να περιγράψει με ικανοποιητική ακρίβεια την πορεία αποδόμησης των ουσιών σε όλα ή σε κάποια από τα υπό μελέτη υποστρώματα με αποτέλεσμα να είναι απαραίτητη η χρήση σύνθετου κινητικού μοντέλου. Σε ορισμένες μάλιστα από τις ουσίες αυτές η σύνθετη συμπεριφορά αποδόμησης αποτελεί τον κανόνα και όχι την εξαίρεση. Στην

κατηγορία αυτή ανήκει το εντομοκτόνο indoxacarb το οποίο τυπικά εμφανίζει μια έντονα διφασική συμπεριφορά όπου η αρχική ταχεία πορεία αποδόμησης ακολουθείται από απότομη μεταβολή του ρυθμού μείωσης των υπολειμμάτων ή σε ορισμένες περιπτώσεις από πλήρη αναστολή της πορείας αποδόμησης. Ο διφασικός χαρακτήρας του indoxacarb εξηγεί και τις πολύ μεγάλες διαφορές της τιμής της παραμέτρου $t_{1/2}$ της ουσίας που δίνει η χρησιμοποίηση απλού ή σύνθετου κινητικού μοντέλου για την περιγραφή των αποτελεσμάτων (πίνακας 13.1).



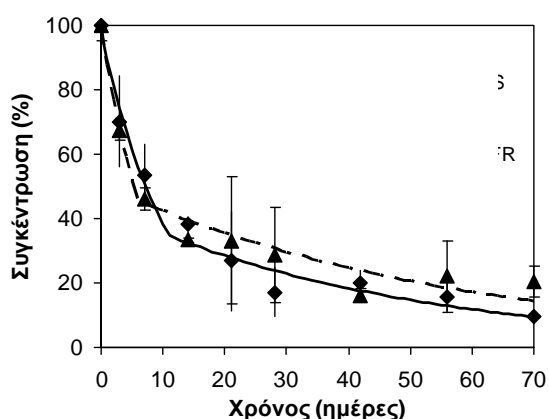
| | C_0 (%) | $t_{1/2}$ (d) | r^2 | Σφάλμα της δοκιμής χ^2 |
|--------------------------------|-----------|---------------|-------|-----------------------------|
| Hockey stick | 98,32 | 7,6 | 0,89 | 10,2 |
| Κινητική 1 ^{ης} τάξης | 70,91 | 40,07 | 0,74 | 20,2 |

Διάγραμμα 13.2. Περιγραφή της αποδόμησης του indoxacarb σε βιομίγμα που περιέχει άχυρο, κομπόστα ελαιόφυλλων και έδαφος (BX2) με τη χρήση σύνθετου μοντέλου hockey stick (α) και κινητικού μοντέλου πρώτης τάξης (β) και παρουσίαση των κινητικών και στατιστικών παραμέτρων C_0 , r^2 και σφάλμα της δοκιμής χ^2

Στο **διάγραμμα 13.2** απεικονίζεται το πρότυπο αποδόμησης του indoxacarb στο βιομίγμα STRBX και η περιγραφή της πορείας μείωσης των υπολειμμάτων με τη χρήση κινητικής πρώτης τάξης (SFO) ή του σύνθετου μοντέλου hockey stick (HS). Η τιμή $t_{1/2}$ που προκύπτει από τη χρήση του μοντέλου SFO είναι πολλαπλάσια της αντίστοιχης τιμής από την εφαρμογή του διφασικού μοντέλου. Επίσης στην περίπτωση της χρησιμοποίησης του μοντέλου hockey stick η κατανομή των υπολειμμάτων (*residuals*) στον άξονα του χρόνου εμφανίζεται περισσότερο συμμετρική ως προς τον άξονα του χρόνου, ενώ η μέση τιμή των απόλυτων τιμών των υπολειμμάτων είναι σαφώς μικρότερη.

13.5. Χρήση της παραμέτρου $t_{3/4}$ και $t_{9/10}$

Η σύγκριση της αποτελεσματικότητας των διαφορετικών υποστρωμάτων ως προς την αποδόμηση της ίδιας ουσίας μπορεί να διαφοροποιείται όταν ως κριτήριο σύγκρισης χρησιμοποιηθεί η παράμετρος $t_{3/4}$ ή $t_{9/10}$ αντί του χρόνου $t_{1/2}$. Στο **διάγραμμα 13.3** γίνεται σύγκριση δύο υποστρωμάτων (GSBX, SFRBX) ως προς την ικανότητα τους να αποδομούν το indoxacarb. Στην περίπτωση που χρησιμοποιηθεί ο χρόνος $t_{1/2}$ για σύγκριση της αποδομητικής ικανότητας προκύπτει ότι το υπόστρωμα SFRBX είναι πιο αποτελεσματικό ως προς την αποδόμηση του indoxacarb. Αντιθέτως αν χρησιμοποιηθεί ο χρόνος που απαιτείται για μείωση της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων στο 25% ή 10% της αρχικά εφαρμοσθείσας ($t_{3/4}$ και $t_{9/10}$ αντίστοιχα) ποσότητας το υπόστρωμα GSBX εμφανίζεται να έχει σαφώς μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα.



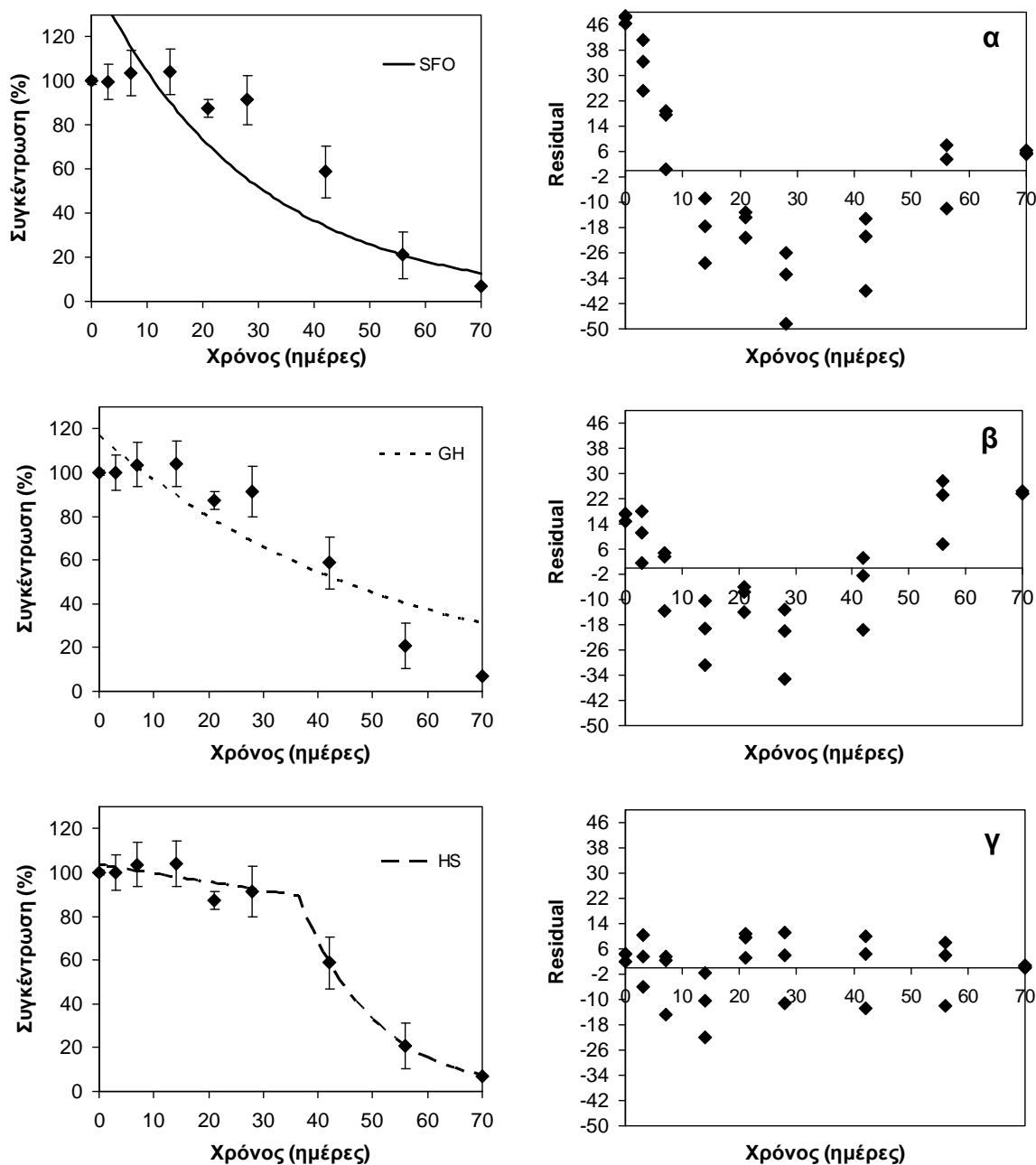
| | $t_{1/2}$ | $t_{3/4}$ | $t_{9/10}$ |
|--------------|-----------|-----------|------------|
| GSBX | 7,4 | 25,9 | 67,5 |
| SFRBX | 5,3 | 39,3 | 90,2 |

Διάγραμμα 13.3. Πορεία αποδόμησης του indoxacarb σε υποστρώματα που περιέχουν βόστρυχους αμπέλου (GSBX, ♦) και υπολειμμάτων καλλιέργειας ηλιάνθου (SFRBX, ▲). Οι παράμετροι $t_{1/2}$, $t_{3/4}$ ή $t_{9/10}$ αφορούν το χρόνο που απαιτείται για μείωση των υπολειμμάτων κατά 50, 75 και 90% αντίστοιχα όταν για την περιγραφή της αποδόμησης χρησιμοποιείται το μοντέλο hockey stick

13.6. Πορεία αποδόμησης με αρχική φάση υστέρησης

Η περίπτωση ύπαρξης φάσης υστέρησης παρατηρήθηκε για το μυκητοκτόνο metalaxyl-M, όταν η αποδόμηση του εξετάστηκε σε υποστρώματα που περιέχουν κομπόστα από ελαιόφυλλα και σε κάποιο από τα λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα (STRBX, SFRBX, CCBX, GSBX). Η φάση αυτή, διάρκειας από 17 έως 53 ημέρες, ακολουθείται από μια φάση ταχύτατης αποδόμησης. Ένα παράδειγμα αυτής της συμπεριφοράς παρουσιάζεται στο **διάγραμμα 13.4**. Το υπόστρωμα άχυρου, εδάφους και κομπόστας (STRBX) εμφανίζει μια αρχική αδυναμία αποδόμησης του metalaxyl-M που διαρκεί περισσότερο από 30 ημέρες.

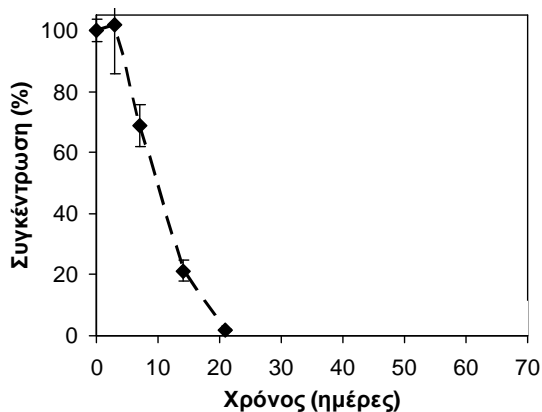
Στο χρονικό αυτό διάστημα η μείωση των υπολειμμάτων αντιστοιχεί σε <10% της αρχικής ποσότητας εφαρμογής. Η ουσιαστική μείωση των υπολειμμάτων της ουσίας παρατηρείται μετά το χρόνο διαφοροποίησης των 30 ημερών και οδηγεί σε 82% μείωση των υπολειμμάτων της ουσίας. Η χρήση της κινητικής πρώτης τάξης οδηγεί σε σημαντική υποεκτίμηση του χρόνου που απαιτείται για τη μείωση της συγκέντρωσης στο 50% της αρχικά εφαρμοσθείσας. Επίσης τα συνεχή στο χρόνο σύνθετα κινητικά μοντέλα (GH, bi-Ex, ST, HK), αν και δίνουν πιο αξιόπιστα αποτελέσματα σε σχέση με το μονοφασικό κινητικό μοντέλο, δεν είναι αρκετά ευαίσθητα σε απότομες μεταβολές στο ρυθμό αποδόμησης. Η χρήση αντίθετα του μη-συνεχούς στο χρόνο μοντέλου hockey stick περιγράφει με ικανοποιητική ακρίβεια τα αποτελέσματα.



| | C_0 (%) | $t_{1/2}$ (d) | r^2 | Σφάλμα της δοκιμής χ^2 |
|-------------------------------------|-----------|---------------|-------|-----------------------------|
| Κινητική 1 ^η τάξης (SFO) | 147,99 | 19,9 | 0,83 | 27,6 |
| Gustafson-Holden (GH) | 116,46 | 36,6 | 0,76 | 18,2 |
| Hockey Stick (HS) | 103,64 | 43,8 | 0,94 | 6,0 |

Διάγραμμα 13.4. Σύγκριση μονοφασικού (SFO) και δύο σύνθετων μοντέλων (hockey stick-HS και Gustafson Holden-GH) ως προς την ικανότητα περιγραφής της αποδόμησης του metalaxyl-M στο υπόστρωμα STRBX και καταγραφή των κινητικών και στατιστικών παραμέτρων

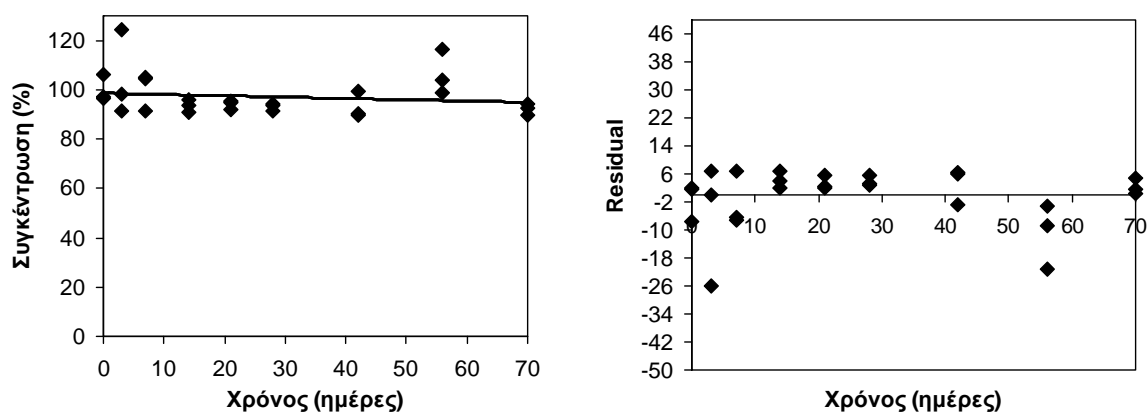
Μικρότερης διάρκειας φάση υστέρηση (3-5 ημέρες περίπου) εμφανίζει και η αποδόμηση του dimethoate όταν εφαρμόζεται σε τυπικό βιομίγμα τύρφης (OBX2) ανεξάρτητα από την αρχική δόση εφαρμογής. Η αρχική αυτή σχεδόν μηδενική αποδόμηση των πρώτων ημερών διαδέχεται μια περίοδος όπου η μείωση των υπολειμμάτων του dimethoate εμφανίζει ρυθμούς αντίστοιχους άλλων υποστρωμάτων για την ίδια ουσία, στις ίδιες δόσεις εφαρμογής (**διάγραμμα 13.5**)



Διάγραμμα 13.5. Η πορεία μείωσης των υπολειμμάτων του εντομοκτόνου dimethoate σε βιομίγμα με βάση την τύρφη στη δόση εφαρμογής STD

13.7. Περιπτώσεις μηδενικού ρυθμού αποδόμησης

Ο ρυθμός αποδόμησης σε ορισμένα από τα υποστρώματα που συμπεριελήφθησαν στη δοκιμή ήταν ελάχιστος ή μηδενικός. Σε πολλές από τις περιπτώσεις αυτές μάλιστα δεν εμφανίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών σε κάθε σημείο δειγματοληψίας. Στις περιπτώσεις αυτές, επίσης, η χρήση του r^2 ως κριτηρίου της καταλληλότητας του μοντέλου που χρησιμοποιείται οδηγεί σε εσφαλμένα συμπεράσματα. Για παράδειγμα, η αποδόμηση του metalaxyl-M στο οργανικό βιομίγμα OBX1 ήταν σχεδόν μηδενική (**διάγραμμα 13.6**) και μάλιστα η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσων όρων όλων των χρόνων δειγματοληψίας ($p > 0.01$). Στην περίπτωση αυτή η τιμή r^2 ήταν 0,027, άρα πολύ μικρότερη της αποδεκτής τιμής. Η διαγραμματική απεικόνιση και οπτική αποτίμηση των αποτελεσμάτων, σε συνδυασμό με τη χρήση της δοκιμής χ^2 δείχνει ότι η διασπορά των μετρούμενων τιμών γύρω από την εκτιμώμενη τιμή είναι μικρή και επομένως το κινητικό μοντέλο που επιλέχθηκε έχει ικανοποιητική προσαρμογή στα δεδομένα (*goodness of fit*).

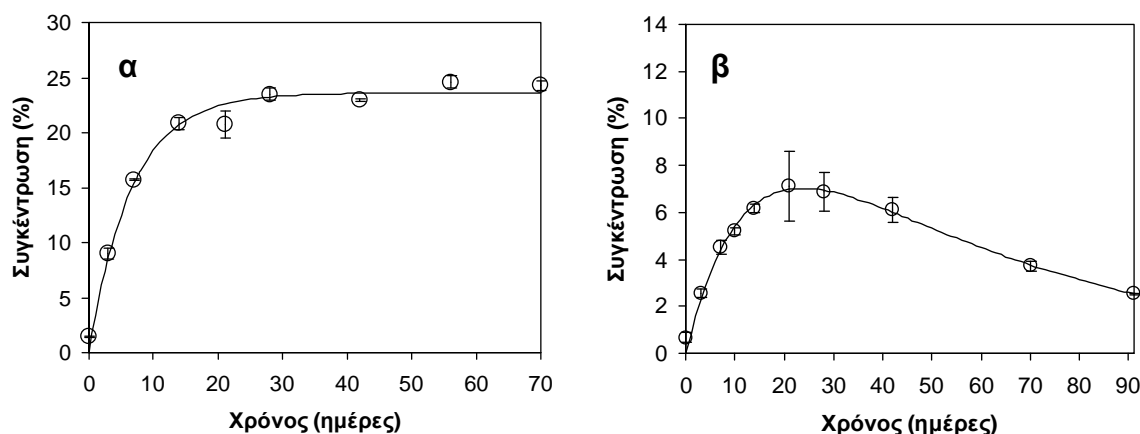


| | C_0 (%) | k (d^{-1}) | r^2 | t_b (d) |
|----------|-----------|------------------|-------|-----------|
| OBX1-MTX | 98,62 | 0,0006 | 0,027 | 4,2 |

Διάγραμμα 13.6. Η αποδόμηση του metalaxyl-M σε οργανικό υπόστρωμα που περιέχει τύρφη (OBX1) στη δόση εφαρμογής STD και οι παράμετροι αποδόμησης του μορίου

13.8. Κινητική και μεταβολίτες

Τα αναλυτικά δεδομένα που αφορούσαν την πορεία σχηματισμού και διάσπασης των μεταβολιτών των ουσιών chlorpyrifos, terbuthylazine και metribuzin μεταφέρθηκαν σε διάγραμμα συγκέντρωσης - χρόνου επώασης. Για την απεικόνιση της πορείας σχηματισμού και αποδόμησης των μεταβολιτών και για την μαθηματική έκφραση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση 4.31. Παράδειγμα εφαρμογής του μοντέλου αυτού στην περιγραφή της πορείας σχηματισμού και αποδόμησης της ουσίας desamino metribuzin στο έδαφος εμφανίζεται στο **διάγραμμα 13.7β**.



| | C_{max} (%) | a | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | t_{max} (d) | r^2 |
|--|---------------|-------|--------------------------|--------------------------|---------------|-------|
| 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) | 23,6 | | 0,151 | | - | 0,985 |
| Desamino metribuzin | 7,0 | 11,07 | 0,079 | 0,019 | 23,7 | 0,984 |

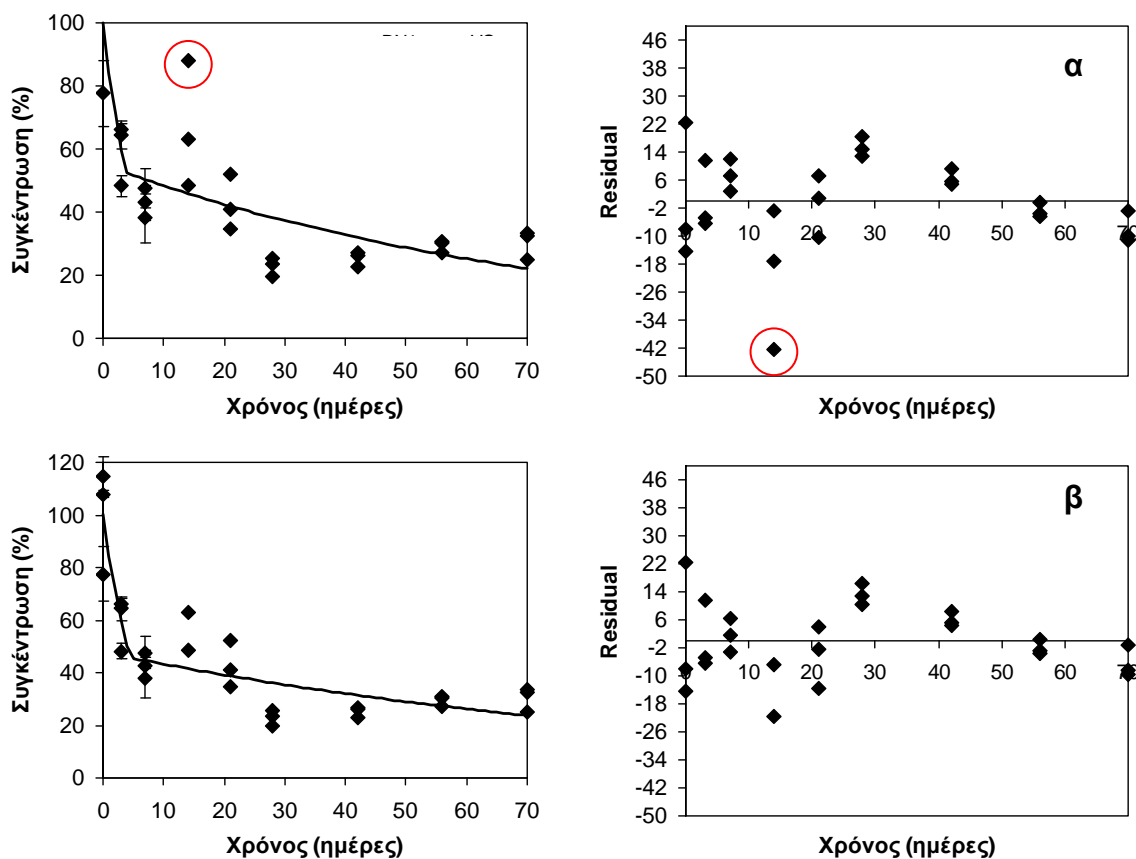
Διάγραμμα 13.7. Πορεία σχηματισμού και αποδόμησης των υπολειμμάτων του TCP (α) και του desamino metribuzin (β) στο έδαφος. Για την περιγραφή της πορείας των υπολειμμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα κινητικά μοντέλα που περιγράφονται από τις εξισώσεις 4.29 και 4.30 αντίστοιχα (σελ. 58)

Σε ορισμένες περιπτώσεις όμως στο χρονικό διάστημα παρακολούθησης που ακολουθήθηκε περιλαμβάνεται μόνο η αρχική πορεία σχηματισμού του μεταβολίτη. Παράδειγμα τέτοιας συμπεριφοράς παρατηρήθηκε στην αποδόμηση του chlorpyrifos στο έδαφος με το σχηματισμό του κύριου μεταβολίτη TCP (**διάγραμμα 13.7α**). Στις περιπτώσεις αυτές για την αποτίμηση των αποτελεσμάτων εφαρμόζεται η εξίσωση 4.29. Σε όλες τις περιπτώσεις η καταλληλότητα του μοντέλου για προσαρμογή στα δεδομένα θα θεωρείται ικανοποιητική όταν ο συντελεστής r^2 λαμβάνει τιμές μεγαλύτερες από 0,900

13.9. Αφαίρεση ακραίων τιμών

Σε ορισμένες περιπτώσεις μεμονωμένες τιμές της χρωματογραφικής ανάλυσης των δειγμάτων απέχουν σημαντικά από τις τιμές που εκτιμώνται από το κινητικό μοντέλο που χρησιμοποιείται. Σε τέτοιες περιπτώσεις είναι απαραίτητη η αφαίρεση των ακραίων τιμών των πειραματικών δεδομένων προκειμένου οι παράμετροι r^2 και σφάλμα της δοκιμής χ^2 να βρεθούν εντός των ανεκτών ορίων. Η επιλογή των περιπτώσεων που κρίνεται απαραίτητη η αφαίρεση των ακραίων τιμών αφορά σε περιπτώσεις που το χρησιμοποιούμενο μοντέλο δεν καλύπτει τις ελάχιστες στατιστικές απαιτήσεις προσαρμογής στα δεδομένα (σφάλμα της δοκιμής $\chi^2 < 15\%$, $p < 0,05$). Στις περιπτώσεις αυτές αφαιρείται ο ελάχιστος αριθμός σημείων που απαιτείται μέχρι την επαναφορά του επιπέδου του σφάλματος στα ανεκτά όρια και αφετέρου τα αφαιρούμενα σημεία είναι αυτά που απέχουν περισσότερο από την εκτιμώμενη από το μοντέλο τιμή. Ένα παράδειγμα εμφανίζεται στο **διάγραμμα**

13.8 όπου απεικονίζεται η μείωση των υπολειμμάτων του indoxacarb στο υπόστρωμα ΒΧ4. Η αφαίρεση της ακραίας τιμής σε χρόνο 14 ημερών από την εφαρμογή οδήγησε σε επιτυχία της δοκιμής χ^2 και σε σημαντική διόρθωση της τιμής του σφάλματος της δοκιμής χ^2 . Η παράμετρος $t_{1/2}$ που προκύπτει μετά τη διόρθωση διαφέρει σημαντικά από την αρχικά εκτιμώμενη τιμή



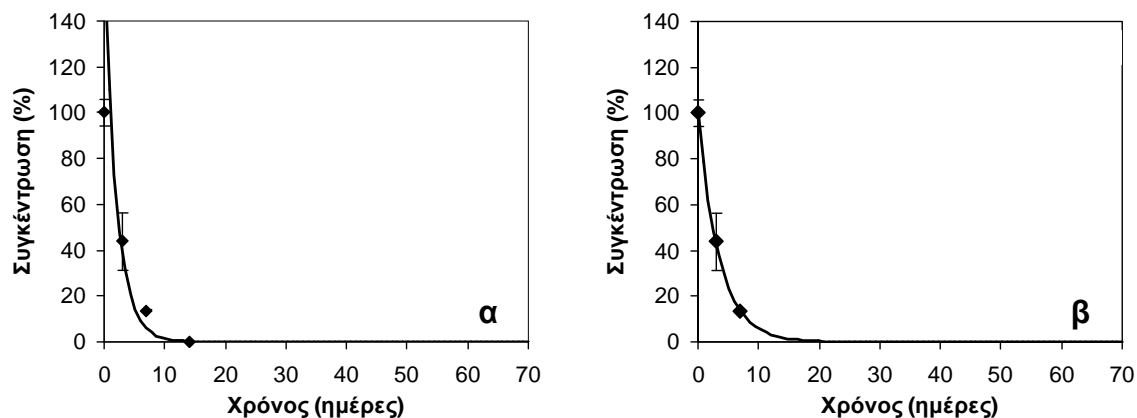
| | C_0 (%) | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | t_b (d) | $t_{1/2}$ (d) | r^2 | Σφάλμα της δοκιμής χ^2 |
|--------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|-----------|---------------|-------|-----------------------------|
| Αρχικό μοντέλο | 100 | 0,172 | 0,013 | 3,757 | 7,4 | 0,734 | 18,6 |
| Διορθωμένο μοντέλο | 100 | 0,172 | 0,010 | 4,554 | 4,0 | 0,831 | 14,6 |

Διάγραμμα 13.8. Πορεία αποδόμησης του indoxacarb και οι εξαγόμενοι παράμετροι αποδόμησης στο υπόστρωμα ΒΧ4 στη δόση εφαρμογής STD:10 πριν (α) και μετά (β) από την αφαίρεση της ακραίας τιμής (αναφέρεται σε κύκλο)

13.10. Τιμές κοντά από τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού

Για όλες τις φ.ο. που συμπεριελήφθησαν στις δοκιμές αποδόμησης το όριο ποσοτικοποίησης έχει μικρότερη τιμή από το 1% της αρχικής συγκέντρωσης των φ.ο. και επομένως ο υπολογισμός των παραμέτρων της αποδόμησης (k , $t_{1/2}$) αντιστοιχεί σε επίπεδα συγκέντρωσης σαφώς υψηλότερα του LOQ. Εξάιρεση αποτελεί το dimethoate λόγω της ταχείας μείωσης των υπολειμμάτων του σε σύντομο χρονικό διάστημα. Στις περιπτώσεις που στους χρόνους δειγματοληψίας περιλαμβάνονται τιμές που προσεγγίζουν τα όρια του ποσοτικού προσδιορισμού απαιτείται ιδιαίτερος χειρισμός καθώς ο συνυπολογισμός πολύ μικρών τιμών συγκέντρωσης μπορεί να οδηγήσει σε μη αποδεκτές τιμές των παραμέτρων k και C_0 . Στο **διάγραμμα 13.9** αναπαρίσταται γραφικά η πορεία αποδόμησης του dimethoate. Ο συνυπολογισμός όλων των μη μηδενικών τιμών συγκέντρωσης οδηγεί σε μη-αληθή εκτιμώμενη παράμετρο C_0 (166%). Αντίθετα μετά την αφαίρεση των τιμών συγκέντρωσης που αντιστοιχούν στο χρόνο δειγματοληψίας $t=14$ η καμπύλη εμφανίζει πιο ρεαλιστική πορεία. Η

διαδικασία αυτή αφαίρεσης των σημείων που βρίσκονται κοντά στα όρια ποσοτικού προσδιορισμού δεν ακολουθήθηκε στις περιπτώσεις που εξετάζεται η κινητική πορεία των μεταβολιών των chlorpyrifos, metribuzin και terbuthylazine



| | C_0 (%) | $t_{1/2}$ (d) | k (d ⁻¹) | r^2 |
|------------------------------|-----------|---------------|------------------------|-------|
| Μοντέλο χωρίς αφαίρεση τιμών | 166,01 | 1,4 | 0,479 | 0,95 |
| Διορθωμένο μοντέλο | 100,14 | 2,4 | 0,285 | 0,98 |

Διάγραμμα 13.9. Η αποδόμηση του dimethoate στο υπόστρωμα SFRBX όταν τα σημεία δειγματοληψίας που λαμβάνονται υπόψη στον προσδιορισμό των παραμέτρων της αποδόμησης αντιστοιχούν στους χρόνους 0, 3, 7, 14 (α) ή 0, 3, 7 (β)

Συμβολή των οργανικών υλικών που περιέχονται στο βιομίγμα στη συνολική συμπεριφορά αποδόμησης

14.1. Εισαγωγή

Η παρούσα δοκιμή αφορά στην αξιολόγηση της συνεισφοράς των χουμοποιημένων ή μη χουμοποιημένων οργανικών συστατικών του βιομίγματος στην αποδόμηση επιλεγμένων φ.ο. Για το λόγο αυτό σχηματίστηκαν μίγματα εδάφους με άχυρο (S+Sw), εδάφους με κομπόστα που προήλθε από SMS του *Agaricus bisporus* (S+C) και εδάφους με άχυρο και την ίδια κομπόστα (S+Sw+C). Το έδαφος (S1), χωρίς προσθήκη εξωγενούς οργανικής ύλης, χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας. Κριτήριο για την αξιολόγηση των υποστρωμάτων αυτών ήταν η αποτελεσματικότητα στην αποδόμηση ενός μίγματος 8 φ.ο. (terbuthylazine, dimethoate, metribuzin metalaxyl-M, buprofezin, iprodione, indoxacarb και azoxystrobin) σε εργαστηριακές δοκιμές. Το μίγμα των παραπάνω φ.ο. εφαρμόστηκε και στα 4 υποστρώματα στην STD δόση. Από τη σύγκριση της πορείας αποδόμησης των φ.ο. στα διαφορετικά υποστρώματα είναι δυνατό να εξαχθούν συμπεράσματα όσο αφορά:

- το πώς διαφοροποιείται ο ρυθμός αποδόμησης μετά την ανάμιξη καθενός από τα οργανικά υλικά με το έδαφος
- τις πιθανές αλληλεπιδράσεις από την ταυτόχρονη παρουσία τέτοιων ετερογενών ως προς τη σύσταση τους οργανικών υλικών στο βιομίγμα μελέτης
- τη σχέση μεταξύ μικροβιακής δραστηριότητας και αποδομητικής ικανότητας των υποστρωμάτων

Τα αποτελέσματα των δοκιμών αποδόμησης των 8 φ.ο. στα 4 υποστρώματα παρουσιάστηκαν σε διάγραμμα συγκέντρωσης-χρόνου. Η κινητική πρώτης τάξης χρησιμοποιήθηκε για τη γραφική απόδοση της αποδόμησης εκτός των περιπτώσεων διφασικής αποδόμησης, για την περιγραφή των οποίων χρησιμοποιήθηκε το σύνθετο κινητικό μοντέλο hockey stick. Ο ρυθμός αποδόμησης k κυμαίνονταν από 0,003 (terbuthylazine) έως 0,175 (dimethoate), ενώ το σχετικό τυπικό σφάλμα του ρυθμού αποδόμησης k κυμάνθηκε από 3 έως 33%. Στις περιπτώσεις που χρησιμοποιήθηκε σύνθετο

κινητικό μοντέλο το σφάλμα της παραμέτρου k_2 ήταν μεγαλύτερο από το αντίστοιχο σφάλμα του αρχικού ρυθμού αποδόμησης (k_1). Με το τέλος της περιόδου επώασης των 70 ημερών η συγκέντρωση των υπολειμμάτων που παρέμεινε στα υποστρώματα ήταν πάντα $\geq 10\%$ της αρχικής, με εξαίρεση για την ουσία dimethoate, η συγκέντρωση των υπολειμμάτων της οποίας ήταν μικρότερη του ορίου ανίχνευσης. Παρά το γεγονός ότι για τις 7 από τα 8 υπό μελέτη φ.ο. η πλήρης πορεία διάσπασης δεν ολοκληρώθηκε στο χρονικό διάστημα επώασης των 70 ημερών, ο χρόνος αυτός θεωρείται ικανοποιητικός για την αξιόπιστη εκτίμηση των κινητικών παραμέτρων της αποδόμησης. Μάλιστα στις 22 από τις συνολικά 32 περιπτώσεις εκτίμησης η τιμή της παραμέτρου $t_{1/2}$ εμφανίζεται μικρότερη από τον συνολικό χρόνο παρακολούθησης.

14.2. Αποτελέσματα δοκιμών μέτρησης της έντασης της αναπνοής

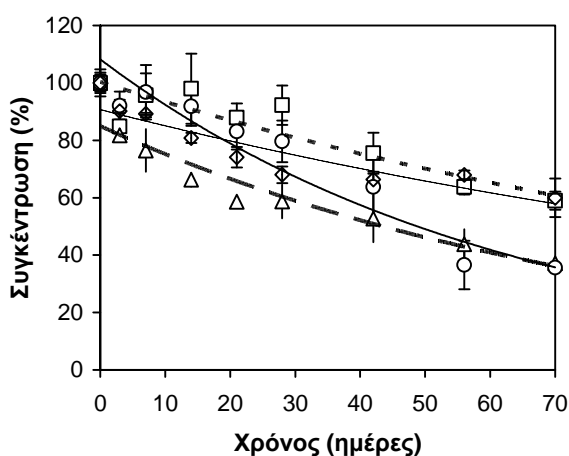
Ο υπολογισμός της ροής CO_2 που ελευθερώνεται μετά από σύντομη επώαση των δειγμάτων παρουσία γλυκόζης χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης της συνολικής μικροβιακής δραστηριότητας του εδάφους και των οργανικών υποστρωμάτων (βιομιγμάτων). Σκοπός ήταν να διαπιστωθεί κατά πόσο η διαφοροποίηση στην αναπνευστική δραστηριότητα διαφορετικών υποστρωμάτων συμβαδίζει με ανάλογες μεταβολές στην αποδομητική ικανότητα τους. Για κάθε γραμμάριο εδάφους που επωάστηκε παρουσία γλυκόζης εκλύθηκαν $57,2 \text{ } \mu\text{g CO}_2 \cdot \text{h}^{-1}$. Η ανάμιξη εδάφους και κομπόστας οδήγησε σε αύξηση της αναπνευστικής δραστηριότητας της μικροχλωρίδας κατά 23% ($70,4 \text{ } \mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Επίσης η ελευθέρωση CO_2 όταν το έδαφος αναμίχθηκε με άχυρο ήταν αυξημένη κατά 69% σε σχέση με αυτή του εδάφους ($96,8 \text{ } \mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Την υψηλότερη τιμή μικροβιακής δραστηριότητας εμφάνισε το βιομίγμα που είναι προϊόν ανάμιξης των δύο οργανικών υλικών και του εδάφους (S+Sw+C). Στην περίπτωση αυτή η αναπνευστική δραστηριότητα βρέθηκε τριπλάσια αυτής που υπολογίστηκε στο έδαφος ($176 \text{ } \mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Παρόλα αυτά όμως, στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του παραγόμενου CO_2 και των παραμέτρων της αποδόμησης δεν ήταν εμφανής για καμία από τις φ.ο. της δοκιμής.

14.3. Η επίδραση της εξωγενούς προέλευσης οργανικής ύλης στην αποδόμηση φ.ο.

14.3.1. Terbutylazine

Η πορεία μείωσης των υπολειμμάτων του terbutylazine σε όλες τις περιπτώσεις ήταν βραδεία καθώς στο τέλος του χρόνου επώασης η ποσότητα που αποδομήθηκε ήταν μικρότερη του 60% της αρχικά εφαρμοσθείσας. Την υψηλότερη τιμή χρόνου ημιζωής ($t_{1/2} = 108$ ημέρες) παρουσίασε το terbutylazine στο έδαφος-μάρτυρα (**πίνακας 14.1**). Παραπλήσιες τιμές χρόνου ημιζωής έχουν υπολογιστεί και προηγουμένως σε εργαστηριακές δοκιμές αποδόμησης με τη χρήση εδαφών με ποικίλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (Dousset et al., 1997; James et al., 1998). Για την περιγραφή της πορείας μείωσης των υπολειμμάτων χρησιμοποιήθηκε η κινητική πρώτης τάξης με ικανοποιητική προσαρμογή στα δεδομένα ($r^2 > 0,764$) (**διάγραμμα 14.1**). Η προσθήκη άχυρου στο έδαφος (S+Sw) βελτίωσε σημαντικά την ικανότητα αποδόμησης και οδήγησε σε μείωση του εκτιμώμενου χρόνου ημιζωής κατά 57% . Η σημαντικά μικρότερη τιμή της παραμέτρου $t_{1/2}$ που συνεπάγεται η ενσωμάτωση του άχυρου μπορεί να αποδοθεί στην αύξηση της συνολικής μικροβιακής δραστηριότητας και επομένως στην αυξημένη συμμεταβολική διάσπαση του μορίου. Η μελέτη της τύχης του terbutylazine σε έδαφος που περιείχε

υπολείμματα αραβόσιτου έδειξε παραπλήσια ταχύτητα αποδόμησης με αυτή σε έδαφος που δεν έχει δεχθεί καμία μεταχείριση (Dolapstoglou et al., 2007). Στο μίγμα κομπόστας και εδάφους (S+C) το terbutylazine εμφάνισε παραπλήσιο χρόνο ημιζωής με αυτόν στο έδαφος. Σε προηγούμενη μελέτη η ανάμιξη εδάφους και κομπόστας από υπολείμματα βαμβακοκαλλιέργειας στις ίδιες αναλογίες με αυτές της δοκιμής είχε οδηγήσει σε σημαντική μείωση της ικανότητας αποδόμησης του terbutylazine σε σχέση με το έδαφος (Kranvariti et al., 2010). Η διαφοροποίηση στα αποτελέσματα των δύο δοκιμών πιθανόν να εξηγείται από τη διαφορά στην προέλευση και στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των κομποστών που χρησιμοποιήθηκαν. Σε άλλη εργασία η προσθήκη εξωγενούς προέλευσης οργανικής ουσίας με τη μορφή κομπόστας, σε αναλογία 3%, οδήγησε σε αυξημένη ικανότητα αποδόμησης του terbutylazine (Navarro et al., 2003). Η συνύπαρξη των δύο ετερογενών πηγών οργανικής ύλης (άχυρο και κομπόστα) και του εδάφους στο ίδιο βιομίγμα (S+S_w+C) οδήγησε σε αύξηση του ρυθμού αποδόμησης του terbutylazine σε επίπεδα παρόμοια με αυτά που παρουσιάστηκαν όταν στο έδαφος προστέθηκε μόνο άχυρο. Επομένως η ενσωμάτωση του άχυρου στο έδαφος φαίνεται να αποτελεί τον κρίσιμο παράγοντα επηρεασμού της συμπεριφοράς αποδόμησης του terbutylazine. Έντονοι ρυθμοί αποδόμησης του terbutylazine σε υπόστρωμα που περιείχε άχυρο, κομπόστα και έδαφος σε ογκομετρική αναλογία 1:2:1 διαπιστώθηκε και σε προηγούμενη εργασία (Kranvariti et al., 2010).



Διάγραμμα 14.1. Η αποδόμηση του terbutylazine (TRB) σε τέσσερα υποστρώματα: έδαφος (◇), μίγμα εδάφους και κομπόστας (2:1) (□), έδαφος και άχυρου (1:1) (○) και έδαφος, κομπόστας και άχυρου (1:1:2) (Δ). Για την περιγραφή της αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης

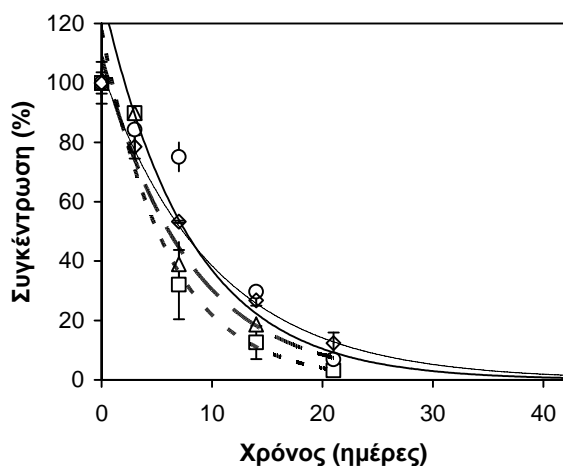
Πίνακας 14.1. Καταγραφή των παραμέτρων της κινητικής της αποδόμησης του terbutylazine σε τέσσερα διαφορετικής σύστασης υποστρώματα: έδαφος (S), έδαφος+άχυρο (S+S_w), έδαφος+άχυρο+κομπόστα (S+S_w+C) και έδαφος+κομπόστα (S+C). Οι δείκτες a,b,c φανερώνουν διαφορές εκτός των ορίων εμπιστοσύνης σε επίπεδο σημαντικότητας 5%

| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | r ² | t _{1/2} (d) | Όρια εμπιστοσύνης 95% | | Sig. |
|--------------------|--------------------|-----------------------------------|----------------|----------------------|-----------------------|-------|------|
| | | | | | κάτω | άνω | |
| S | 90,6 | 0,007 ± 0,001 | 0,800 | 108,2 | 82,3 | 157,5 | b |
| S+C+S _w | 84,8 | 0,012 ± 0,001 | 0,882 | 56,7 | 47,6 | 70,1 | a |
| S+C | 98,8 | 0,007 ± 0,001 | 0,764 | 96,8 | 73,6 | 141,3 | b |
| S+S _w | 108,0 | 0,016 ± 0,002 | 0,825 | 43,8 | 36,0 | 56,0 | a |

14.3.2. Dimethoate

Η πολύ μεγάλη ταχύτητα αποδόμησης του dimethoate οδηγεί σε μείωση των υπολειμμάτων κάτω από τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού του σε σύντομο χρονικό διάστημα (<42 ημέρες) μετά την εφαρμογή του μίγματος των ουσιών (**διάγραμμα 14.2, πίνακας 14.2**). Χρόνοι ημιζωής μικρότεροι των 8 ημερών, είναι εμφανείς τόσο στο έδαφος όσο και στα οργανικά υποστρώματα. Αντίστοιχα μικρός χρόνος παραμονής της ουσίας στο έδαφος έχει διαπιστωθεί προηγουμένως τόσο σε εργαστηριακές δοκιμές

όσο και σε πειράματα στον αγρό (Bohn, 1964). Η προσθήκη οργανικής ύλης με τη μορφή κομπόστας στο έδαφος διαφοροποιεί τις παραμέτρους της αποδόμησης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα συμπεράσματα προηγούμενων μελετών, όπου η αύξηση του μικροβιακού πληθυσμού και η συνακόλουθη βελτίωση της αποδόμησης οργανοφωσφορικών ουσιών, συμπεριλαμβανομένου και του dimethoate, επιτεύχθηκε με την ενσωμάτωση σταθεροποιημένων αστικών λυμάτων στο έδαφος (Sanchez et al., 2004). Χαρακτηριστικό της συμπεριφοράς αποδόμησης του dimethoate είναι η σταθερή ταχύτητα μείωσης των υπολειμμάτων σε όλη τη διάρκεια παρακολούθησης γεγονός που μπορεί να εξηγηθεί από τη μικρή έκταση της προσρόφησης του dimethoate στα συστατικά της εξωγενούς οργανικής ουσίας (Hernandez-Soriano et al., 2007).



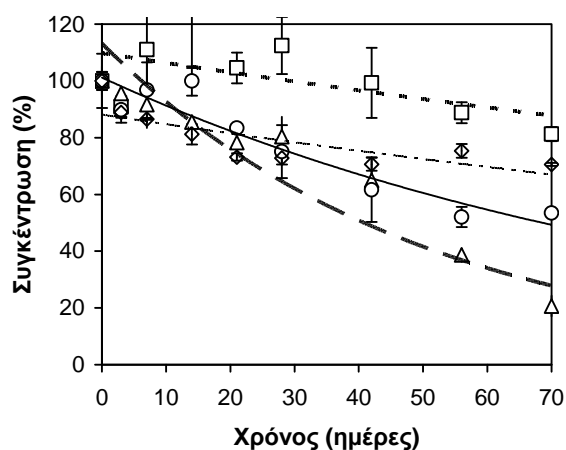
Διάγραμμα 14.2. Η αποδόμηση του dimethoate (DIM) σε τέσσερα υποστρώματα: έδαφος (◇), μίγμα εδάφους και κομπόστας (2:1) (□), έδαφους και άχυρου (1:1) (○) και έδαφους, κομπόστας και άχυρου (1:1:2) (Δ). Για την περιγραφή της αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης

Πίνακας 14.2. Καταγραφή των παραμέτρων της κινητικής της αποδόμησης του dimethoate σε τέσσερα διαφορετικής σύστασης υποστρώματα: έδαφος (S), έδαφος+άχυρο (S+S_w), έδαφος+άχυρο+κομπόστα (S+S_w+C) και έδαφος+κομπόστα (S+C). Οι δείκτες a,b,c φανερώνουν διαφορές εκτός των ορίων εμπιστοσύνης σε επίπεδο σημαντικότητας 5%

| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | r ² | t _{1/2} (d) | Όρια εμπιστοσύνης 95% | | Sig. |
|--------------------------|--------------------|-----------------------------------|----------------|----------------------|-----------------------|------|------|
| | | | | | κάτω | άνω | |
| S | 115,5 | 0,118 ± 0,008 | 0,972 | 5,9 | 5,2 | 6,8 | a |
| S+C+S_w | 108,5 | 0,140 ± 0,026 | 0,833 | 5,0 | 3,6 | 7,8 | ab |
| S+C | 115,3 | 0,175 ± 0,011 | 0,949 | 4,0 | 3,5 | 4,5 | a |
| S+S_w | 110,6 | 0,087 ± 0,009 | 0,909 | 8,0 | 6,6 | 10,0 | b |

14.3.3. Metalaxyl-M

Το metalaxyl-M εμφάνισε μικρή ικανότητα αποδόμησης τόσο στο έδαφος όσο και στο βιομίγμα που περιείχε έδαφος και κομπόστα. Η προσθήκη λιγνινοκυτταρινικής φύσεως υποστρώματος, με τη μορφή άχυρου, στο έδαφος οδήγησε σε σημαντική μείωση του χρόνου ημιζωής (64%) (**διάγραμμα 14.3**, **πίνακας 14.3**). Η ταυτόχρονη όμως παρουσία και των τριών συστατικών των βιομιγμάτων ενίσχυσε περαιτέρω την αποδομητική δράση με το χρόνο ημιζωής να μειώνεται κατά 80%. Σε προηγούμενη έρευνα η αποδόμηση του metalaxyl σε έδαφος στο οποίο ενσωματώθηκαν κομποστοποιημένα υγρά ή στερεά παραπροϊόντα ελαιοτριβείων σε ποσοστό 10% εμφανίστηκε μειωμένη σε σχέση με το έδαφος (Fernandes et al., 2006)



Διάγραμμα 14.3. Η αποδόμηση του metalaxyl-M (MTX) σε τέσσερα υποστρώματα: έδαφος (◇), μίγμα εδάφους και κομπόστας (2:1) (□), εδάφους και άχυρου (1:1) (○) και εδάφους, κομπόστας και άχυρου (1:1:2) (Δ). Για την περιγραφή της αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης

Πίνακας 14.3. Καταγραφή των παραμέτρων της κινητικής της αποδόμησης του metalaxyl-M σε τέσσερα διαφορετικής σύστασης υποστρώματα: έδαφος (S), έδαφος+άχυρο (S+S_w), έδαφος+άχυρο+κομπόστα (S+S_w+C) και έδαφος+κομπόστα (S+C). Οι δείκτες a,b,c φανερώνουν διαφορές εκτός των ορίων εμπιστοσύνης σε επίπεδο σημαντικότητας 5%

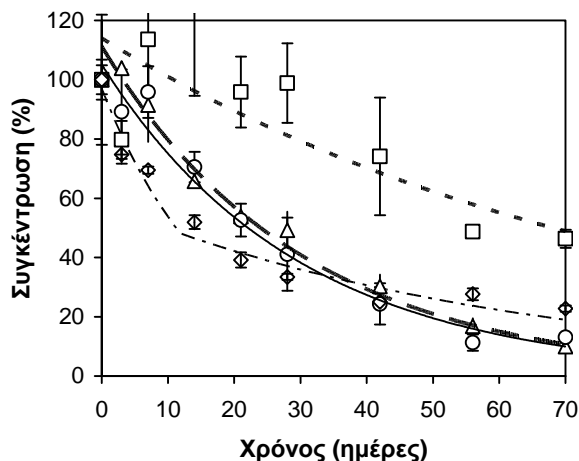
| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | r ² | t _{1/2} (d) | Όρια εμπιστοσύνης 95% | | Sig. |
|--------------------------|--------------------|-----------------------------------|----------------|----------------------|-----------------------|-------|------|
| | | | | | κάτω | άνω | |
| S | 88,9 | 0,004 ± 0,001 | 0,697 | 177,1 | 112,5 | 415,8 | c |
| S+C+S_w | 114,2 | 0,020 ± 0,002 | 0,865 | 34,6 | 27,3 | 47,4 | a |
| S+C | 107,2 | 0,003 ± 0,001 | 0,231 | 216,8 | 106,0 | 478,9 | c |
| S+S_w | 101,5 | 0,011 ± 0,001 | 0,838 | 67,4 | 55,3 | 86,6 | b |

14.3.4. Metribuzin

Η σχετικά γρήγορη ταχύτητα αποδόμησης του metribuzin στο έδαφος οδήγησε σε μείωση κατά 50% της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων σε λιγότερο από δύο εβδομάδες από την εφαρμογή της ουσίας. Η μεταβολή του ρυθμού αποδόμησης στο έδαφος καθιστά αναγκαία τη χρησιμοποίηση κινητικού μοντέλου δύο φάσεων για την περιγραφή των πειραματικών δεδομένων, με το χρόνο μετάβασης από την ταχεία στην αργή φάση αποδόμησης να είναι 12 ημέρες (**διάγραμμα 14.4**, **πίνακας 14.4**). Σύνθετο κινητικό μοντέλο έχει χρησιμοποιηθεί και σε άλλες εργασίες για την περιγραφή της τύχης των υπολειμμάτων του metribuzin στο έδαφος (Henriksen et al., 2004). Η προσθήκη άχυρου δεν διαφοροποίησε πρακτικά το χρόνο ημιζωής του. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με προηγούμενα βιβλιογραφικά δεδομένα, όπου προσθήκη άχυρου στο έδαφος οδήγησε σε μεγάλη μείωση του χρόνου ημιζωής του metribuzin (Pettygrove and Naylor, 1985). Ακόμη πιο σημαντική μείωση του χρόνου ημιζωής παρατηρήθηκε με την προσθήκη υπολειμμάτων ψυχανθών, όπως μηδικής και βίκου (Johnson, 2001), ενώ η ενσωμάτωση υπολειμμάτων καλλιέργειας σόγιας σε επιφανειακό έδαφος δεν μετέβαλε σημαντικά της κινητικές παραμέτρους της αποδόμησης του metribuzin (Locke and Harper, 1991). Αντίστοιχα, το βιομίγμα που περιέχει το έδαφος και τις δύο μορφές οργανικής ύλης εμφάνισε παραπλήσιες κινητικές παραμέτρους τόσο με το βιομίγμα άχυρου-εδάφους όσο και με το έδαφος μάρτυρα.

Η προσθήκη κομπόστας προκάλεσε εξασθένηση της δυναμικής αποδόμησης των υπολειμμάτων της ουσίας καθώς ο εκτιμώμενος χρόνος ημιζωής αυξήθηκε κατά 4,5 φορές. Παρόμοια συμπεριφορά αναφέρεται σε μελέτη εφαρμογής στο έδαφος βιολογικής κομπόστας (2,5-5%) προερχόμενης από υπολείμματα επεξεργασίας ζάχαρης η οποία οδήγησε σε μείωση στο ρυθμό αποδόμησης του metribuzin και σε αντίστοιχη αύξηση του χρόνου παραμονής της ουσίας στο έδαφος. Η μείωση αυτή

του ρυθμού αποδόμησης αποδόθηκε στη ισχυρή προσρόφηση του μορίου στο μίγμα εδάφους-κομπόστας, που οδηγεί σε μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του μορίου στο εδαφικό διάλυμα (Singh, 2008). Όμως, σε άλλη εργασία, η προσθήκη κομπόστας οδήγησε σε αύξηση του ρυθμού ανοργανοποίησης του μορίου με την ένταση της μεταβολικής διεργασίας να είναι ανάλογη της περιεκτικότητας σε κομπόστα (Getenga, 2003).



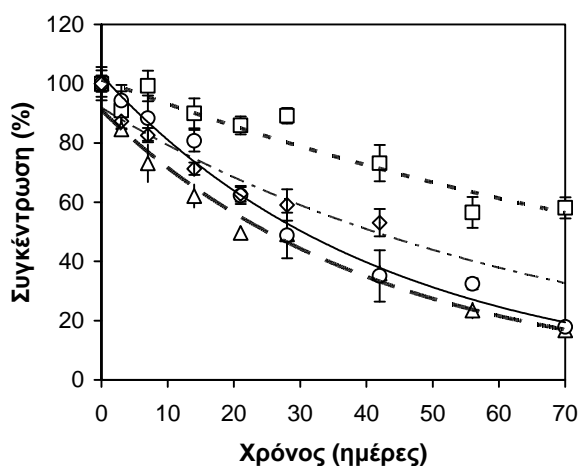
Διάγραμμα 14.4. Η αποδόμηση του metolaxyl-M (MTX) σε τέσσερα υποστρώματα: έδαφος (◇), μίγμα εδάφους και κομπόστας (2:1) (□), έδαφος και άχυρου (1:1) (○) και έδαφος, κομπόστας και άχυρου (1:1:2) (Δ). Για την περιγραφή της αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης ή σύνθετο μοντέλο hockey stick

Πίνακας 14.4. Καταγραφή των παραμέτρων της κινητικής της αποδόμησης του metribuzin σε τέσσερα διαφορετικής σύστασης υποστρώματα: έδαφος (S), έδαφος+άχυρο (S+S_w), έδαφος+άχυρο+κομπόστα (S+S_w+C) και έδαφος+κομπόστα (S+C). Οι δείκτες a,b,c φανερώνουν διαφορές εκτός των ορίων εμπιστοσύνης σε επίπεδο σημαντικότητας 5%

| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) | Όρια | | Sig. |
|--------------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|---------------------|-------|------|
| | | | | | | | εμπιστοσύνης 95% | | |
| | | | | | | | κάτω | άνω | |
| S | 96,8 | 0,059 ± 0,009 | 0,016 ± 0,002 | 11,9 | 0,964 | 12,6 | 8,1 | 28,0 | a |
| S+C+S_w | 110,7 | 0,033 ± 0,001 | | | 0,979 | 20,8 | 19,4 | 22,3 | a |
| S+C | 109,6 | 0,012 ± 0,002 | | | 0,618 | 57,3 | 39,3 | 105,8 | b |
| S+S_w | 108,5 | 0,036 ± 0,002 | | | 0,928 | 20,6 | 17,9 | 24,2 | a |

14.3.5. Buprofezin

Ο υψηλός χρόνος ημιζωής (87 ημέρες) που εμφάνισε η ουσία buprofezin στο έδαφος διαφοροποιήθηκε ελάχιστα με την προσθήκη ώριμης κομπόστας, ενώ με την προσθήκη εξωγενούς πηγής άνθρακα με τη μορφή άχυρου μειώθηκε περίπου στο ένα τρίτο (**διάγραμμα 14.5, πίνακας 14.5**). Η ταυτόχρονη εφαρμογή κομπόστας και άχυρου έδωσε τιμές παραπλήσιες με αυτές που εμφάνισε η προσθήκη άχυρου στο έδαφος.



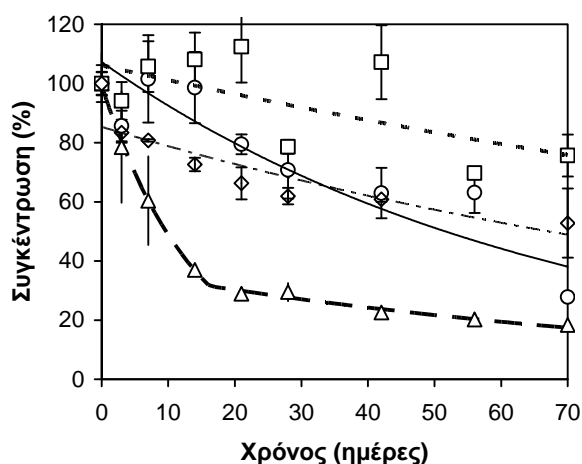
Διάγραμμα 14.5. Η αποδόμηση του burofezin (BUP) σε τέσσερα υποστρώματα: έδαφος (◇), μίγμα εδάφους και κομπόστας (2:1) (□), εδάφους και άχυρου (1:1) (○) και εδάφους, κομπόστας και άχυρου (1:1:2) (Δ). Για την περιγραφή της αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης

Πίνακας 14.5. Καταγραφή των παραμέτρων της κινητικής της αποδόμησης του burofezin σε τέσσερα διαφορετικής σύστασης υποστρώματα: έδαφος (S), έδαφος+άχυρο (S+S_w), έδαφος+άχυρο+κομπόστα (S+S_w+C) και έδαφος+κομπόστα (S+C). Οι δείκτες a,b,c φανερώνουν διαφορές εκτός των ορίων εμπιστοσύνης σε επίπεδο σημαντικότητας 5%

| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | r ² | t _{1/2} (d) | Όρια εμπιστοσύνης 95% | | Sig. |
|--------------------------|--------------------|-----------------------------------|----------------|----------------------|-----------------------|-------|------|
| | | | | | κάτω | άνω | |
| S | 84,516 | 0,008 ± 0,001 | 0,728 | 87,1 | 82,3 | 157,5 | b |
| S+C+S_w | 90,981 | 0,024 ± 0,001 | 0,975 | 28,9 | 26,7 | 31,4 | a |
| S+C | 100,939 | 0,008 ± 0,001 | 0,853 | 82,8 | 67,0 | 108,6 | b |
| S+S_w | 101,101 | 0,023 ± 0,001 | 0,935 | 29,1 | 26,2 | 32,8 | a |

14.3.6. Iprodione

Ο χρόνος ημιζωής στο έδαφος για το iprodione ήταν 100 ημέρες (**διάγραμμα 14.6, πίνακας 14.6**). Συγκριτικά μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής εμφάνισε το υπόστρωμα που περιείχε έδαφος και κομπόστα, καθώς στην περίπτωση αυτή ο ρυθμός αποδόμησης του iprodione ήταν μειωμένος κατά 25%. Αντιθέτως, η προσθήκη στο έδαφος άχυρου (S+S_w) ή μίγματος άχυρου και κομπόστας (S+S_w+C) βελτίωσε τη συνολική αποδομητική ικανότητα. Η ανάμιξη άχυρου και εδάφους οδήγησε σε βελτίωση κατά 50% του ρυθμού αποδόμησης σε σχέση με αυτόν στο έδαφος μάρτυρα. Η συνεργιστική δράση που προκύπτει από την ανάμιξη και των δύο οργανικών υλικών με το έδαφος (S+S_w+C) οδήγησε σε χρόνο ζωής μικρότερο από 10 ημέρες. Στην περίπτωση αυτή η αποδόμηση της ουσίας περιλάμβανε ένα αρχικό στάδιο, διάρκειας 16 ημερών περίπου, όπου ο ρυθμός αποδόμησης ήταν πολλαπλάσιος από τον αντίστοιχο ρυθμό των υπολοίπων μεταχειρίσεων στο ίδιο χρονικό διάστημα. Στο τέλος της περιόδου αυτής η ποσότητα του iprodione που παρέμεινε στο υπόστρωμα αντιστοιχούσε στο 30% της αρχικά εφαρμοσθείσας. Μετά το χρόνο διαφοροποίησης ο ρυθμός μείωσης των υπολειμμάτων μειώθηκε κατά πολύ και προσέγγισε τιμές πιο κοντά σε αυτές που εμφάνισε στο έδαφος και στο μίγμα εδάφους κομπόστας.



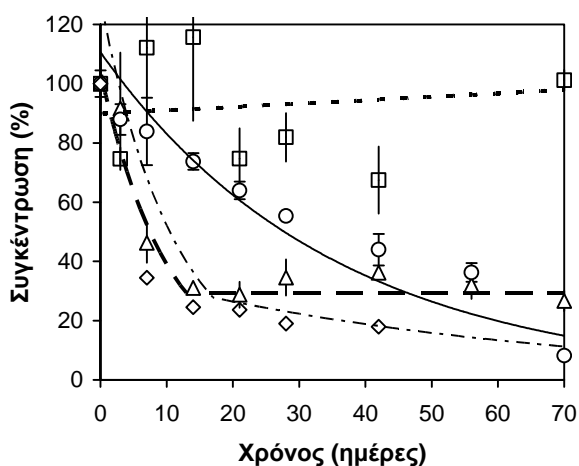
Διάγραμμα 14.6. Η αποδόμηση του iprodione (IPR) σε τέσσερα υποστρώματα: έδαφος (◇), μίγμα εδάφους και κομπόστα (2:1) (□), εδάφους και άχυρου (1:1) (○) και εδάφους, κομπόστα και άχυρου (1:1:2) (Δ). Για την περιγραφή της αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης ή σύνθετο μοντέλο hockey stick

Πίνακας 14.6. Καταγραφή των παραμέτρων της κινητικής της αποδόμησης του iprodione σε τέσσερα διαφορετικής σύστασης υποστρώματα: έδαφος (S), έδαφος+άχυρο (S+S_w), έδαφος+άχυρο+κομπόστα (S+S_w+C) και έδαφος+κομπόστα (S+C). Οι δείκτες a,b,c φανερώνουν διαφορές εκτός των ορίων εμπιστοσύνης σε επίπεδο σημαντικότητας 5%

| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) | Όρια | | Sig. |
|--------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|------------------|-------|------|
| | | | | | | | εμπιστοσύνης 95% | | |
| | | | | | | | κάτω | άνω | |
| S | 85,9 | 0,008 ± 0,001 | | | 0,745 | 100,2 | 71,0 | 170,2 | bc |
| S+C+S _w | 99,3 | 0,071 ± 0,010 | 0,011 ± 0,006 | 16,150 | 0,904 | 9,8 | 7,7 | 13,5 | a |
| S+C | 105,5 | 0,006 ± 0,001 | | | 0,368 | 144,3 | 78,4 | 902,1 | c |
| S+S _w | 101,8 | 0,012 ± 0,002 | | | 0,696 | 46,9 | 34,4 | 73,5 | b |

14.3.7. Indoxacarb

Για το indoxacarb η κινητική της αποδόμησης του στο έδαφος και στο βιομίγμα και των τριών συστατικών (S+S_w+C) ήταν έντονα διφασική και για την περιγραφή των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το σύνθετο κινητικό μοντέλο hockey stick (πίνακας 14.7, διάγραμμα 14.7). Ο έντονα διφασικός χαρακτήρας του indoxacarb στο έδαφος έχει αναφερθεί και σε άλλες εργασίες (Hetrick et al., 2005) και αποδόθηκε στην ταυτόχρονη επίδραση δύο παραγόντων: α) της ευκολίας αποδόμησης του μορίου με υψηλούς ρυθμούς, που συχνά οδηγεί σε χρόνους ημιζωής λίγων ημερών, β) της πολύ ισχυρής προσρόφησης του μορίου στην οργανική ουσία του εδάφους λόγω της υψηλής λιποφιλικότητας του μορίου (K_{ow}=2,5). Και στις δύο περιπτώσεις της δοκιμής μας ο υπολογιζόμενος από τις παραμέτρους του μοντέλου χρόνος t_{1/2} ήταν κοντά στις 7 ημέρες, ενώ ο χρόνος μετάβασης από την ταχεία στην αργή πορεία αποδόμησης ήταν μεταξύ 13 και 17 ημερών. Το βιομίγμα που περιείχε άχυρο και έδαφος (S+S_w) δεν εμφάνισε ταχεία περίοδο αποδόμησης και ο χρόνος ημιζωής του indoxacarb ήταν πολύ μεγαλύτερος των προηγούμενων τιμών. Σε χρόνο μάλιστα κοντά στις 70 ημέρες από την εφαρμογή η συγκέντρωση των υπολειμμάτων του indoxacarb στο βιομίγμα S+S_w+C είναι σχεδόν ίδια με αυτή στο S+S_w παρά τη πολύ μεγάλη διαφοροποίηση του χρόνου t_{1/2} μεταξύ των μεταχειρίσεων (διάγραμμα 14.7). Το indoxacarb εμφανίστηκε ιδιαίτερα σταθερό στο μίγμα κομπόστα και εδάφους (S+S_w) και για το χρονικό διάστημα 70 ημερών δεν παρατηρήθηκε καμία μείωση των υπολειμμάτων της ουσίας. Οι μηδενικοί ρυθμοί αποδόμησης στην περίπτωση αυτή μπορεί να σχετιστούν με τη μικρή βιοδιαθεσιμότητα του μορίου στους μικροβιακούς αποδομητές ως αποτέλεσμα της σταθεροποίησης των υπολειμμάτων του indoxacarb στην οργανική ουσία.



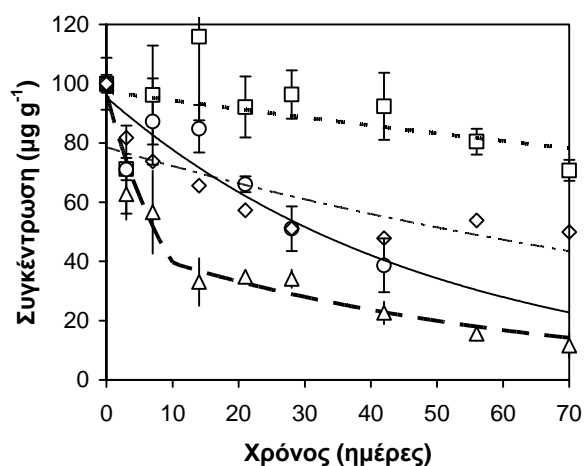
Διάγραμμα 14.7. Η αποδόμηση του indoxacarb (IND) σε τέσσερα υποστρώματα: έδαφος (◇), μίγμα εδάφους και κομπόστας (2:1) (□), εδάφους και άχυρου (1:1) (○) και εδάφους, κομπόστας και άχυρου (1:1:2) (Δ). Για την περιγραφή της αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης ή σύνθετο μοντέλο hockey stick

Πίνακας 14.7. Καταγραφή παραμέτρων της κινητικής της αποδόμησης του indoxacarb σε τέσσερα διαφορετικής σύστασης υποστρώματα: έδαφος (S), έδαφος+άχυρο (S+S_w), έδαφος+άχυρο+κομπόστα (S+S_w+C) και έδαφος+κομπόστα (S+C). Οι δείκτες a,b,c φανερώνουν διαφορές εκτός των ορίων εμπιστοσύνης σε επίπεδο σημαντικότητας 5%

| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) | Όρια εμπιστοσύνης 95% | | Sig. |
|--------------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|-----------------------|------|------|
| | | | | | | | κάτω | άνω | |
| S | 128,1 | 0,090 ± 0,028 | 0,017 ± 0,009 | 16,944 | 0,621 | 7,7 | 4,8 | 19,3 | ab |
| S+C+S_w | 104,0 | 0,098 ± 0,017 | -0,008 ± 0,018 | 12,880 | 0,914 | 7,1 | 5,3 | 10,7 | a |
| S+C | 90,5 | -0,002 ± 0,011 | | | 0,034 | — | — | — | c |
| S+S_w | 102,0 | 0,023 ± 0,002 | | | 0,824 | 24,3 | 18,4 | 35,5 | b |

14.3.8. Azoxystrobin

Το azoxystrobin εμφάνισε σχετικά υψηλή υπολειμματικότητα στο έδαφος καθώς ο εκτιμώμενος χρόνος ημιζωής ήταν 82 ημέρες. Από τη συμπεριφορά στα βιομίγματα, το υλικό που φαίνεται να επηρεάζει πιο έντονα την πορεία αποδόμησης είναι το άχυρο (**διάγραμμα 14.8, πίνακας 14.8**). Όταν το άχυρο ενσωματώθηκε στο έδαφος η αποδόμηση του azoxystrobin προχώρησε με ρυθμό σαφώς υψηλότερο αυτού στο έδαφος, σε αντίθεση με αυτή που παρατηρήθηκε στο βιομίγμα κομπόστας-εδάφους, όπου η πορεία αποδόμησης του μειώθηκε σημαντικά. Η ταυτόχρονη όμως παρουσία άχυρου και κομπόστας (S+S_w+C) δρα συνεργιστικά και μειώνει το χρόνο ημιζωής του azoxystrobin σε τιμές πολύ χαμηλότερες από αυτές που παρατηρήθηκαν στα S+S_w και S+C. Η ανάμιξη άχυρου, κομπόστας και εδάφους οδήγησε και σε αλλαγή της πορείας αποδόμησης από σταθερού σε μεταβαλλόμενου ρυθμού. Ο ρυθμός αποδόμησης στο αργό κομμάτι της αποδόμησης υποπενταπλασιάστηκε σε σχέση με την αρχική, ταχεία αποδόμηση, ενώ συνολικά στο τέλος της περιόδου επώασης το 88% της εφαρμοσθείσας μάζας είχε αποδομηθεί. Σε προηγούμενη ερεύνα η προσθήκη κομπόστας (5%) στο έδαφος βελτίωσε το ρυθμό αποδόμησης του azoxystrobin κατά τουλάχιστο 30% κάτω από αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες επώασης (Ghosh and Singh, 2009).



Διάγραμμα 14.8. Η αποδόμηση του azoxystrobin (AZX) σε τέσσερα υποστρώματα: έδαφος (◇), μίγμα εδάφους και κομπόστας (2:1) (□), έδαφους και άχυρου (1:1) (○) και έδαφους, κομπόστας και άχυρου (1:1:2) (Δ). Για την περιγραφή της αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης ή σύνθετο μοντέλο hockey stick

Πίνακας 14.8. Καταγραφή των κινητικών παραμέτρων της αποδόμησης του azoxystrobin σε τέσσερα διαφορετικής σύστασης υποστρώματα: έδαφος (S), έδαφους+άχυρο (S+S_w), έδαφους+άχυρο+κομπόστα (S+S_w+C) και έδαφους+κομπόστα (S+C). Οι δείκτες a,b,c φανερώνουν διαφορές εκτός των ορίων εμπιστοσύνης σε επίπεδο σημαντικότητας 5%

| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) | Όρια εμπιστοσύνης 95% | | Sig. |
|--------------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|-----------------------|-------|------|
| | | | | | | | κάτω | άνω | |
| S | 79,6 | 0,010 ± 0,001 | | | 0,730 | 82,1 | 53,9 | 172,2 | c |
| S+C+S_w | 96,6 | 0,089 ± 0,014 | 0,017 ± 0,006 | 8,9 | 0,922 | 7,8 | 6,0 | 10,7 | a |
| S+C | 94,0 | 0,003 ± 0,001 | | | 0,130 | 220,5 | 93,1 | 596,9 | d |
| S+S_w | 94,3 | 0,021 ± 0,003 | | | 0,737 | 33,9 | 24,9 | 53,1 | b |

Αποδόμηση φυτοπροστατευτικών ουσιών σε βιομίγματα με βάση τη κομπόστα

15.1. Εισαγωγή

Στα πλαίσια της δοκιμής αυτής σχηματίστηκαν 5 βιομίγματα χρησιμοποιώντας κομπόστες διαφορετικής προέλευσης (από εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης μανιταριών-BX1, από ελαιόφυλλα-BX2, κομπόστα εμπορίου-BX3, κομπόστα υπολειμμάτων απόχρωσης βάμβακος-BX4 και βαμβακόπιπας-BX5), ενώ για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων συμπεριελήφθηκε έδαφος της ίδιας περιοχής (S1) καθώς και δύο τυπικά βιομίγματα τύρφης (OBX1 και OBX2). Η δοκιμή αφορούσε τη σύγκριση των υποστρωμάτων αυτών ως προς την ικανότητα αποδόμησης ενός μίγματος 8 φ.ο που εφαρμόστηκε στα υποστρώματα σε 4 διαφορετικές δόσεις εφαρμογής (STD:10, STD, STDx4, STDx10). Τα αποτελέσματα των δοκιμών αποδόμησης μεταφέρθηκαν σε γράφημα διασποράς σε παράθεση με το χρόνο επώασης και περιγράφηκαν με τη χρήση καταλλήλου μοντέλου μιας ή δύο φάσεων όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 13. Οι προκύπτοντες χρόνοι $t_{1/2}$ από την ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτες της συνολικής ικανότητας αποδόμησης κάθε υποστρώματος. Βασικοί στόχοι της δοκιμής αυτής είναι:

- Η σύγκριση των παραμέτρων της αποδόμησης μεταξύ των βιομιγμάτων τύρφης και κομπόστας ώστε να διαπιστωθεί κατά πόσο η αντικατάσταση της τύρφης με κομπόστα επηρεάζει την αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων
- Ο υπολογισμός βιολογικών και ενζυμικών παραμέτρων σε τακτά χρονικά διαστήματα μετά την εφαρμογή των ουσιών, ώστε να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες μεταβολών σε επίπεδο μικροχλωρίδας, που προκαλούνται από την ανάμιξη ετερογενών οργανικών υποστρωμάτων και εδάφους και την εφαρμογή μίγματος φ.ο. Επίσης, εξετάζεται τυχόν συσχέτιση των βιολογικών παραμέτρων με την πορεία αποδόμησης των φ.ο. στα υποστρώματα
- Η εξέταση της σχετικής αποτελεσματικότητας κομποστών με διαφορετική προέλευση και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ώστε να διαπιστωθεί αν συγκεκριμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για την επιλογή των κομποστών που προσδίδουν

στο βιομίγμα υψηλή αποτελεσματικότητα. Ως κριτήρια για την επιλογή θεωρούνται η ικανότητα ταχείας αποδόμησης των φ.ο., η διατήρηση της αποτελεσματικότητας ακόμη και σε υψηλές δόσεις εφαρμογής και η υψηλή τιμή της μικροβιακής δραστηριότητας

- Η σύγκριση εδάφους και επιλεγμένων βιομιγμάτων τύρφης και κομπόστας ως προς την ικανότητα αποδόμησης φ.ο. όταν αυτά εφαρμόζονται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (εύρος συγκεντρώσεων x100)

Η μείωση των υπολειμμάτων του dimethoate, του terbutylazine και του burprofazin περιγράφεται καλύτερα από κινητική πρώτης τάξης σε όλα σχεδόν τα υποστρώματα της δοκιμής. Εξαιρέση από αυτή τη συμπεριφορά είναι εμφανής για το terbutylazine στο βιομίγμα BX5 και για το dimethoate στο υπόστρωμα OBX2. Η κινητική πρώτης τάξης δεν περιγράφει ικανοποιητικά την έντονα διφασική συμπεριφορά ορισμένων φ.ο. Για παράδειγμα, το indoxacarb εμφάνισε μια L τύπου πορεία μείωσης των υπολειμμάτων στο χρόνο, όπου την αρχική ταχεία πορεία αποδόμησης διαδέχεται μια πολύ πιο αργή φάση αποδόμησης, που διαρκεί μέχρι το τέλος του χρόνου παρακολούθησης. Για τις υπόλοιπες φ.ο. το διφασικό πρότυπο κινητικής συμπεριφοράς χρησιμοποιήθηκε ανά περίπτωση. Επίσης χρόνος προσαρμογής (*lag phase*) προ της μείωσης των υπολειμμάτων δεν ήταν εμφανής σε καμία από τις ουσίες της δοκιμής με εξαίρεση το dimethoate, που εμφάνισε υστέρηση 2,8 με 4,8 ημερών στο υπόστρωμα OBX2, και το metalaxyl-M στις περιπτώσεις των υποστρωμάτων S, BX5 (STD:10 δόση) και BX4 (STD δόση). Σε αντίθεση, όμως, με το dimethoate οι υπολογισθέντες χρόνοι προσαρμογής για το metalaxyl-M ήταν μεγαλύτεροι των 20 ημερών.

15.2. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των συστατικών του βιομίγματος

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των κομποστών και των τυρφών που χρησιμοποιήθηκαν στη δοκιμή συγκρίθηκαν με τις τιμές των ίδιων χαρακτηριστικών που παρουσιάζονται στη βιβλιογραφία προκειμένου να διαπιστωθεί το κατά πόσο είναι αντιπροσωπευτικά δείγματα τέτοιων υλικών. Οι δύο τύποι τύρφης εμφάνισαν υψηλή τιμή οργανικού άνθρακα (>40%) και μικρή περιεκτικότητα σε άζωτο (1,10%) σε αντίθεση με τις κομπόστες, όπου η περιεκτικότητα σε άνθρακα ήταν μικρότερη του 30% και η αναλογία σε ολικό άζωτο μεγαλύτερη από 1% (εκτός από την κομπόστα C3) (**πίνακας 7.2**). Επίσης οι τύρφες εμφάνισαν τιμές pH μικρότερες από αυτές των κομποστών της δοκιμής. Τα χαρακτηριστικά αυτά συμφωνούν με βιβλιογραφικά δεδομένα σύμφωνα με τα οποία η κομπόστα και η τύρφη διαφέρουν σημαντικά τόσο σε φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (μικρότερη τιμή pH και υψηλότερη υδατοχωρητικότητα στην τύρφη), διαθεσιμότητα ανόργανων συστατικών (μεγαλύτερη αναλογία σε άνθρακα και χαμηλότερα επίπεδα N, P και K στην τύρφη) και βιολογική δραστηριότητα (Niklasch and Joergensen, 2001). Τέτοιες διαφορές στα χαρακτηριστικά των υλικών αυτών ανακλούν διαφορές στην αποτελεσματικότητα (*effectiveness*) και στην αντοχή (*robustness*) των μικροβιακών αποδομητών άρα και της συνολικής αποτελεσματικότητας της αποδόμησης. Τα βιομίγματα με βάση την τύρφη γενικά προάγουν τη συμμεταβολική αποδόμηση των φ.ο. προσφέροντας ένα ιδανικό περιβάλλον ανάπτυξης μεταξύ άλλων και των μυκήτων λευκής σήψης που παράγουν λιγνινολυτικά ένζυμα ικανά να καταλύσουν το αρχικό στάδιο αποδόμησης μεγάλου εύρους φ.ο. (Castillo et al., 2008). Αντίθετα το ουδέτερο/αλκαλικό pH των κομποστών σε συνδυασμό με την υψηλή διαθεσιμότητα αζώτου δημιουργεί ιδανικό περιβάλλον για αποδόμηση μέσω μεταβολικών διεργασιών κυρίως από βακτηριακούς πληθυσμούς.

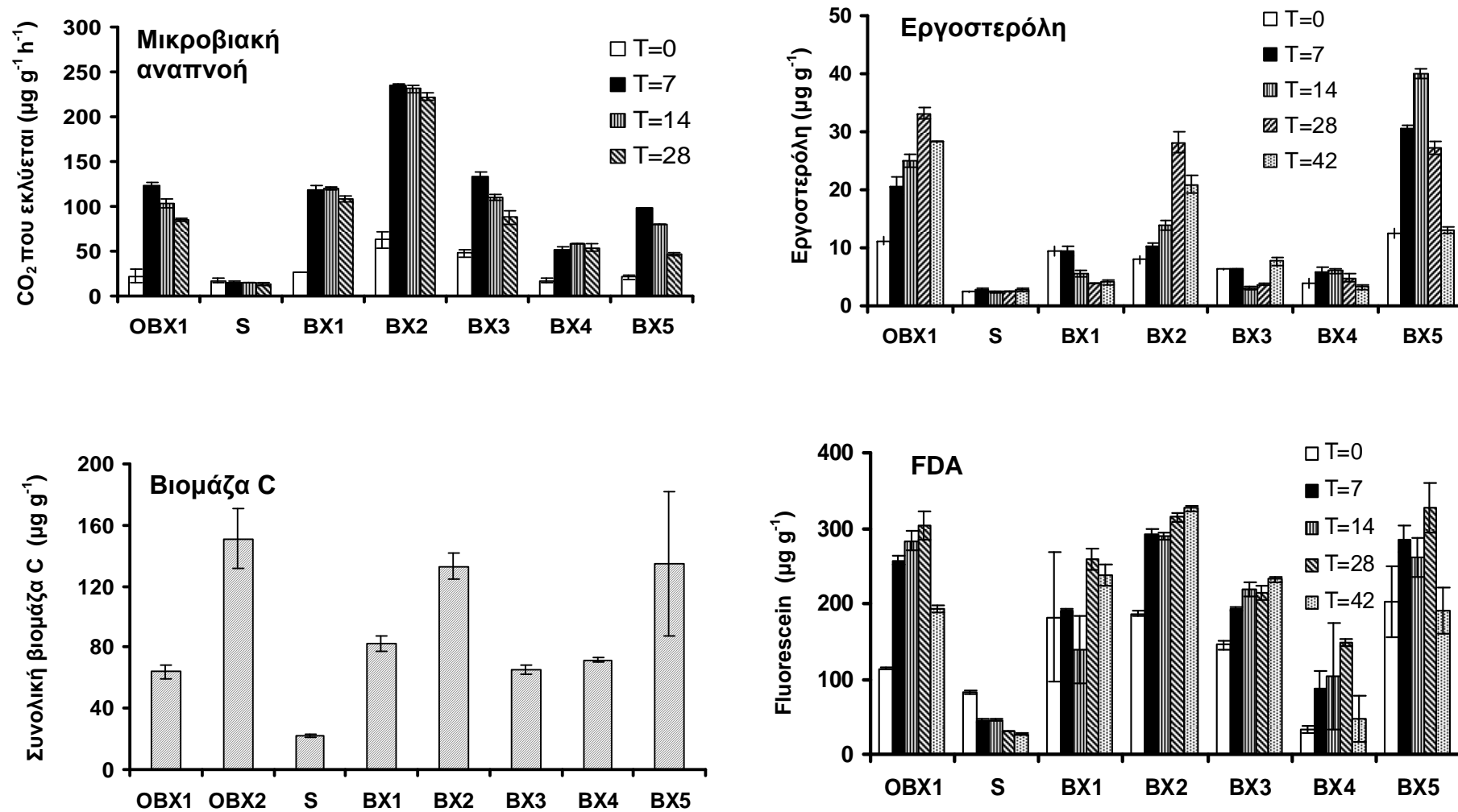
Επίσης οι πέντε κομπόστες που χρησιμοποιήθηκαν εμφάνισαν διαφοροποιημένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (**πίνακας 8.2**). Ο συντελεστής διαφοροποίησης ήταν μεγαλύτερος όσο αφορά την περιεκτικότητα σε N (13,5 φορές) και C (4,1 φορές). Σημαντικές, όμως, αποκλίσεις στις τιμές παρατηρήθηκαν και στην περιεκτικότητα σε λιγνίνη (3,5 φορές) και, λιγότερο, στην τιμή pH (εύρος 6,74-8,68). Τις μικρότερες τιμές C, N και λιγνίνης και τη μεγαλύτερη τιμή pH μεταξύ των κομποστών παρουσίασε η κομπόστα εμπορίου (C3). Οι διαφοροποιήσεις στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των κομποστών οφείλονται στην τεχνική κομποστοποίησης που επιλέγεται και τα χαρακτηριστικά των υλικών που χρησιμοποιούνται ως πρώτη ύλη (Zmora-Nahuma et al., 2007).

15.3. Μικροβιακή δραστηριότητα και βιομάζα στο έδαφος και στα βιομίγματα

Τρεις δοκιμές χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση του επιπέδου της βιολογικής δραστηριότητας και βιομάζας στα βιομίγματα και στο έδαφος. Επίσης, για την εκτίμηση της συνολικής υδρολυτικής δραστηριότητας χρησιμοποιήθηκε η δοκιμή FDA. Γενικά, παρατηρήθηκε μικροβιακή απόκριση στην ανάμιξη των οργανικών υλικών ή/και στην εφαρμογή των φ.ο. στα βιομίγματα. Σημαντικές αυξήσεις στο μέγεθος (εργοστερόλη) και στη δραστηριότητα (μικροβιακή αναπνοή και υδρολυτική δραστηριότητα) της μικροβιακής βιομάζας ήταν εμφανείς κατά τη διάρκεια της δοκιμής αποδόμησης για όλα τα βιομίγματα που χρησιμοποιήθηκαν. Αντίθετα, στο έδαφος η βιολογική δραστηριότητα παρέμεινε στα αρχικά επίπεδα σε όλη τη διάρκεια της επώασης, ενώ η υδρολυτική ενζυμική δραστηριότητα εμφάνισε σταδιακή μείωση με το χρόνο. Γενικά τόσο ο χρόνος δειγματοληψίας όσο και το χρησιμοποιούμενο υπόστρωμα και οι μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις είχαν σημαντικό αντίκτυπο στο μέγεθος και τη δραστηριότητα της μικροβιακής βιομάζας ($p < 0,001$). Αυτό αντικατοπτρίζεται στην αρχική σημαντική αύξηση ($p < 0,05$) στη μικροβιακή αναπνοή που παρατηρήθηκε σε όλα τα βιομίγματα ακόμη και 7 ημέρες μετά την εφαρμογή (**διάγραμμα 15.1α**), ενώ στατιστικά σημαντική αύξηση ($p < 0,05$) στην υδρολυτική δραστηριότητα ήταν εμφανής στο ίδιο χρονικό διάστημα αλλά μόνο για τα υποστρώματα OBX1, BX2 και BX5 (**διάγραμμα 15.1δ**).

Η μικρότερη τιμή **βιομάζας άνθρακα** υπολογίστηκε στο έδαφος μάρτυρα. Η ανάμιξη εδάφους, άχυρου και τύρφης (OBX1) ή εδάφους, άχυρου και μιας από τις κομπόστες C1, C3 και C4 οδήγησε σε τριπλασιασμό έως τετραπλασιασμό της βιομάζας άνθρακα. Οι υψηλότερες, όμως, τιμές της παραμέτρου υπολογίστηκαν στα βιομίγματα OBX2, BX2 και BX5 (**διάγραμμα 15.1γ**).

Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε **εργοστερόλη** μια σημαντική αύξηση ($p < 0,05$) παρατηρήθηκε 7 ημέρες μετά την εφαρμογή μόνο στις μεταχειρίσεις BX5 και OBX1 (**διάγραμμα 15.1β**). Βιομίγματα με χαμηλή αναλογία σε οργανικό άνθρακα γενικά εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές μικροβιακής δραστηριότητας και ενεργότητας υδρολυτικών ενζύμων. Σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ περιεχόμενου οργανικού άνθρακα των υποστρωμάτων και της ολικής βιομάζας άνθρακα ($r^2 = 0,583$, $p < 0,05$), της μέγιστης τιμής υδρολυτικής ενζυμικής δραστηριότητας ($r^2 = 0,755$, $p < 0,05$) και της μέγιστης τιμής της εργοστερόλης ($r^2 = 0,559$, $p < 0,05$) παρατηρήθηκαν μεταξύ των υποστρωμάτων.



Διάγραμμα 15.1. Εκτίμηση της μικροβιακής δραστηριότητας και βιομάζας στο έδαφος και σε έξι βιομίγματα με μέτρηση της μικροβιακής αναπνοής, της περιεκτικότητας σε εργοστερόλη και της μικροβιακής βιομάζας άνθρακα σε διάφορους χρόνους δειγματοληψίας (0-42 ημέρες). Η υδρολυτική δραστηριότητα των υποστρωμάτων (FDA) εκτιμήθηκε με μέτρηση της φλουοροσεΐνης που παράγεται από την υδρόλυση του FDA

Τόσο τα βιομίγματα με βάση την τύρφη όσο και τα βιομίγματα κομπόστας έδειξαν σημαντικά υψηλότερη μικροβιακή δραστηριότητα ($p < 0,001$) και περιεκτικότητα σε εργοστερόλη σε σχέση με το έδαφος σε όλους τους χρόνους δειγματοληψίας. Το OBX1 βιομίγμα εμφάνισε τιμές μικροβιακής αναπνοής και υδρολυτικής δραστηριότητας αντίστοιχες των περισσότερων BX βιομιγμάτων της δοκιμής. Εξαίρεση αποτέλεσε το βιομίγμα BX2 που εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή μικροβιακής αναπνοής ($p < 0,05$) και υδρολυτικής δραστηριότητας ($p < 0,05$) σε σχέση με όλα τα υποστρώματα της δοκιμής. Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε εργοστερόλη το OBX1 έδειξε συγκρίσιμες συγκεντρώσεις με το BX5 ($p > 0,05$), ενώ σημαντικά χαμηλότερες τιμές υπολογίστηκαν στα υπόλοιπα BX βιομίγματα και στο έδαφος.

15.4. Σύγκριση μεταξύ βιομιγμάτων με βάση την τύρφη και την κομπόστα

15.4.1. Αποδόμηση στα βιομίγματα τύρφης

Τα δύο βιομίγματα με βάση την τύρφη (OBX1 και OBX2) εμφάνισαν γενικά παρόμοια συμπεριφορά αποδόμησης για κάθε φ.ο. αν και οι ρυθμοί αποδόμησης ήταν γενικά μικρότεροι στο OBX2 ιδιαίτερα στη μικρότερη δόση εφαρμογής. Η αποδόμηση στα βιομίγματα τύρφης σε πολλές περιπτώσεις ήταν ίδια ή υψηλότερη αυτής του εδάφους μάρτυρα. Για παράδειγμα για το indoxacarb οι τιμές $t_{1/2}$ στα βιομιγμάτων τύρφης ήταν 3,8 με 10,5 φορές υψηλότερες από αυτές που υπολογίστηκαν στο έδαφος. Επίσης, και τα δύο βιομίγματα τύρφης εμφάνισαν χαμηλούς ρυθμούς αποδόμησης του metalaxyl-M και του iprodione στο χρονικό διάστημα των 70 ημερών, που μελετήθηκε (Πίνακας 15.1.). Η μάζα των ουσιών αυτών που αποδομήθηκε στο τέλος του χρόνου επώασης (70 ημέρες) αντιστοιχεί σε λιγότερο από το ήμισυ της αρχικά εφαρμοσθείσας και οι υπολογισθείσες τιμές $t_{1/2}$ ήταν μέχρι και 188 φορές μεγαλύτερες από αυτές που εκτιμήθηκαν στο έδαφος ή στα βιομίγματα με βάση την κομπόστα. Η καταστολή μέρους της αποδομητικής μικροχλωρίδας λόγω των έντονα όξινων συνθηκών (pH 5,03 και 5,94 για το OBX1 και το OBX2 βιομίγμα αντίστοιχα) εξηγεί σε μεγάλο βαθμό τα αποτελέσματα. Προηγούμενες αναφορές της αποδόμησης του iprodione σε εδάφη με μεγάλο εύρος τιμών pH έδειξε ότι η αποδόμηση της ουσίας σε τιμές pH 5 ήταν αμελητέα, ενώ ο χρόνος ημιζωής σε pH 6,5 ήταν δύο φορές μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο χρόνο ημιζωής σε pH 5,7 (Walker, 1987). Αντίθετα, το όξινο περιβάλλον των βιομιγμάτων με βάση την τύρφη είχε σημαντική θετική επίδραση στους ρυθμούς αποδόμησης των azoxystrobin και terbuthylazine. Οι ρυθμοί αποδόμησης μάλιστα του terbuthylazine στην STD δόση εφαρμογής και του azoxystrobin στην STD:10 δόση ήταν οι υψηλότεροι μεταξύ των υποστρωμάτων και για τα δύο βιομίγματα της τύρφης (OBX). Όσο αφορά τη θετική επίδραση των χαμηλών τιμών pH στην αποδόμηση του azoxystrobin τα αποτελέσματα της δοκιμής βρίσκονται σε συμφωνία με ευρήματα προηγούμενης έρευνας, όπου η διαπιστώθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ pH και DT_{25} (Bending et al., 2006). Για το terbuthylazine τα αποτελέσματα που προέκυψαν επιβεβαιώνουν προηγούμενα αποτελέσματα όπου η προέκυψε θετική συσχέτιση μεταξύ αποδόμησης του terbuthylazine και περιεκτικότητας των βιομιγμάτων σε τύρφη (Castillo and Torstensson, 2007). Επίσης, η απουσία τύρφης στα βιομίγματα των συστημάτων απορρύπανσης Phytobac/biobac θεωρείται η κυριότερη αιτία για τη μικρή ικανότητα αποδόμησης του terbuthylazine που εμφανίζουν (Fournier, 2004). Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να αποδοθούν στην ταχεία χημική υδρόλυση των τριαζινικών ζιζανιοκτόνων που έχει παρατηρηθεί σε όξινες συνθήκες εδάφους (Blumhorst and Weber, 1994)

15.4.2. Αποδόμηση στα βιομίγματα κομπόστας

Γενικά τα βιομίγματα με βάση την κομπόστα (BX) εμφάνισαν υψηλή ικανότητα αποδόμησης του μίγματος των φ.ο. Σε όλα σχεδόν τα BX βιομίγματα, ανεξάρτητα από την προέλευση και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της κομπόστας που περιέχουν, παρατηρήθηκαν υψηλότεροι ρυθμοί αποδόμησης σε σχέση με το έδαφος ή τα OBX βιομίγματα. Εξαιρέση αποτελεί ο μικρός ρυθμός αποδόμησης του terbutylazine στο βιομίγμα που περιείχε κομπόστα ελαιόφυλλων (BX2) και η αδυναμία του βιομίγματος που περιέχει κομπόστα βαμβακόπιπας (BX5) να αποδομήσει τέσσερις φ.ο. (metribuzin, iprodione, indoxacarb, metalaxyl-M). Η μικρή αποδομητική ικανότητα του υποστρώματος BX5 είναι ιδιαίτερα έντονη για τις ουσίες iprodione και metalaxyl-M στην υψηλή δόση εφαρμογής όπου μάλιστα δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική μείωση του επιπέδου των υπολειμμάτων στο χρόνο παρακολούθησης. Η αργή αποδόμηση έρχεται σε αντίθεση με την υψηλή υδρολυτική δραστηριότητα και την περιεκτικότητα σε εργοστερόλη στο υπόστρωμα αυτό. Το υπόστρωμα BX5 εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή ολικού N και τη μικρότερη αναλογία C/N μεταξύ των βιομιγμάτων. Αυτά τα χαρακτηριστικά πιθανόν να ευνοούν την ανάπτυξη ετερότροφων μικροβιακών πληθυσμών ικανών να αποδομήσουν απλές οργανικές ουσίες που περιέχουν N και επομένως να κυριαρχούν στον ανταγωνισμό με τους πληθυσμούς που μεταβολίζουν πιο σύνθετες δομές, όπως οι φ.ο. Η πορεία ανοργανοποίησης της ουσίας atrazine στο έδαφος έχει βρεθεί να αναστέλλεται μετά από προσθήκη κάποιων πηγών N και μάλιστα η μείωση της αποδομητικής πορείας είναι ανάλογη της βιοδιαθεσιμότητας του N στους μικροβιακούς αποδομητές (Abdelhafid et al., 2000).

Κανένα από τα βιομίγματα της δοκιμής δεν εμφάνισε υψηλή ικανότητα αποδόμησης για όλες τις ουσίες της δοκιμής και στις δύο δόσεις εφαρμογής. Η απόδοση κάθε βιομίγματος διαφοροποιούνταν ανά περίπτωση. Για παράδειγμα το terbutylazine αποδομήθηκε ταχύτατα στο υπόστρωμα BX5 με χρόνο ημιζωής τουλάχιστο 10 φορές χαμηλότερο σε σχέση με τα υπόλοιπα BX υποστρώματα στην STD δόση εφαρμογής. Το ίδιο όμως υπόστρωμα έδωσε τις μικρότερες τιμές αποδόμησης του iprodione, metalaxyl-M και indoxacarb μεταξύ των βιομιγμάτων με βάση της κομπόστα. Επίσης το dimethoate υπολογίστηκε ότι αποδομείται πιο γρήγορα στο BX2 βιομίγμα ανεξάρτητα από τη δόση εφαρμογής όπως και το metalaxyl-M στο βιομίγμα με κομπόστα εμπορίου (BX3). Στο υπόστρωμα BX2 παρατηρήθηκαν σχετικά μικροί ρυθμοί αποδόμησης του burprofazin και ιδιαίτερα του terbutylazine και οι χρόνοι $t_{1/2}$ των ουσιών ήταν παραπλήσιοι αυτών που υπολογίστηκαν στο έδαφος και μικρότεροι από τους αντίστοιχους χρόνους σε άλλα βιομίγματα. Σε προηγούμενη έρευνα βιομίγμα με βάση κομπόστα από υπολείμματα καλλιεργειών (*garden compost*) αποδείχθηκε πιο αποτελεσματικό στην αποδόμηση του chlorpyrifos αλλά και του κυριότερου μεταβολίτη του 3,5,6-trichloropyridinyl σε σχέση με βιομίγμα με βάση κομπόστα, που ήταν προϊόν βιοσταθεροποίησης αστικών λυμάτων (*urban compost*) (Corrola et al., 2007). Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι η ενσωμάτωση κομποστών με διαφορετική προέλευση και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά σε έδαφος οδήγησε σε διαφορετικούς ρυθμούς αποδόμησης των chlorfenvinfos, chlorpyrifos και isoproturon (Rouchaud et al., 1992; Rouchaud et al., 1991; Vieuble-Gonod et al., 2009).

15.4.3. Σχέση αποδόμησης- βιοδοκιμών

Γενικά καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ κάποιων από τις βιολογικές παραμέτρους (μικροβιακή βιομάζα άνθρακα, μικροβιακή αναπνοή ή περιεχόμενη εργοστερόλη) και των παραμέτρων της

αποδόμησης των ουσιών δεν ήταν εμφανής. Για παράδειγμα το βιομίγμα τύρφης OBX1 εμφάνισε σημαντικά υψηλότερη τιμή υδρολυτικής ενζυμικής δραστηριότητας και περιεκτικότητα σε εργοστερόλη σε σχέση με το βιομίγμα BX4. Όμως η ικανότητα αποδόμησης στο βιομίγμα BX4 ήταν υψηλότερη σε σχέση με το σουηδικό βιομίγμα (OBX). Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με τα ευρήματα προηγούμενης έρευνας όπου παρατηρήθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της μικροβιακής αναπνοής και αποδόμησης πολλών ζιζανιοκτόνων σε βιομίγματα με βάση την τύρφη. Στα υποστρώματα τύρφης, όμως, η αποδόμηση των ουσιών στηρίζεται κυρίως σε συμμεταβολικές διεργασίες (Castillo and Torstensson, 2007). Αντίθετα, στα βιομίγματα με βάση την κομπόστα, που η αποδομητική ικανότητα στηρίζεται στην μεταβολική αποδόμηση, δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ αναπνοής και αποδόμησης (Corrola et al., 2007). Επομένως οποιαδήποτε ασυμφωνία μεταξύ των τιμών των παραμέτρων της αποδόμησης και των μικροβιολογικών δοκιμών που εμφανίζεται στις δοκιμές της εργασίας αυτής μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι η μεταβολική πορεία αποδόμησης των ουσιών στηρίζεται στην αύξηση του αριθμού και της δραστηριότητας ενός μικρού τμήματος της συνολικής μικροβιακής κοινότητας που δεν αποτυπώνεται στις μετρήσεις της συνολικής μικροβιακής δραστηριότητας.

15.4.4. Σύγκριση υποστρωμάτων κομπόστας και τύρφης

Η συνολικά υψηλότερη αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων κομπόστας σε σύγκριση με τα βιομίγματα τύρφης ήταν εμφανής. Εξαίρεση στη συμπεριφορά αυτή παρατηρήθηκε για το terbutylazine και για το azoxystrobin που στις περισσότερες περιπτώσεις οι χρόνοι αποδόμησης που υπολογίστηκαν βρίσκονταν κοντά στις τιμές των BX βιομιγμάτων. Η υψηλότερη αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων κομπόστας δεν συνοδεύεται πάντα από αντίστοιχα υψηλή μικροβιακή δραστηριότητα. Τα βιομίγματα BX3 και BX4 με σημαντικά χαμηλότερες τιμές οργανικού άνθρακα, μικροβιακής αναπνοής και υδρολυτικής ενζυμικής δραστηριότητας από το OBX1 βιομίγμα αποδομούν τις ουσίες matalaxyl-M, metribuzin, iprodione, indoxacarb πιο αποτελεσματικά σε σχέση με το βιομίγμα τύρφης (OBX1). Σε προηγούμενη μελέτη αναφέρεται ότι βιομίγμα που περιείχε κομπόστα (*manure compost*) εμφάνισε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα σε σχέση με βιομίγμα με βάση την τύρφη (Pigeon et al., 2006). Επίσης σε άλλη εργασία η αντικατάσταση της τύρφης με κομπόστα (*green compost*) στο ενεργό βιομίγμα οδήγησε σε μείωση του ρυθμού αποδόμησης (De Vleeschouwer et al., 2005)

15.5. Επίδραση της συγκέντρωσης στην αποδόμηση φ.ο. στο έδαφος και σε βιομίγματα με βάση την κομπόστα ή την τύρφη

Η αποδομητική ικανότητα του εδάφους και δύο οργανικών υποστρωμάτων που δέχτηκαν το ίδιο μίγμα ουσιών εκτιμήθηκε σε 4 αρχικά επίπεδα συγκέντρωσης (**πίνακες 15.1 έως 15.4**). Η μεταφορά των τιμών $t_{1/2}$ για κάθε συγκέντρωση εφαρμογής σε διάγραμμα παρουσιάζεται στο **διάγραμμα 15.2**. Η χρήση της τιμής $t_{1/2}$ ως αριθμητικής έκφρασης της αποδομητικής ικανότητας επιλέχθηκε έναντι της τιμής του ρυθμού αποδόμησης k καθώς σε πολλές περιπτώσεις για την περιγραφή της πορείας αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε κάποιο σύνθετο κινητικό μοντέλο δύο φάσεων (που περιλαμβάνουν τη χρήση δύο παραμέτρων k) (**διάγραμμα 15.3**). Παρά την ικανοποιητική προσαρμογή κάθε μοντέλου στα αποτελέσματα οι τιμές r^2 στην μεγαλύτερη συγκέντρωση εφαρμογής εμφάνισαν μη αποδεκτές τιμές εξαιτίας του πολύ μικρού ρυθμού αποδόμησης. Η τιμή όμως του σφάλματος της δοκιμής χ^2 ήταν σε κάθε περίπτωση μικρότερη της κρίσιμης τιμής 15% (σε επίπεδο σημαντικότητας 95%).

Πίνακας 15.1. Κινητικά χαρακτηριστικά της αποδόμησης μίγματος οκτώ φ.ο. που εφαρμόστηκαν σε οκτώ υποστρώματα σε δόση STD:10

| | | C_0 (%) | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | t_b (d) | r^2 | $t_{1/2}$ (d) | | | C_0 (%) | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | t_b (d) | r^2 | $t_{1/2}$ (d) |
|-------------|-------------|----------------|--------------------------|--------------------------|-----------|-------|---------------|------------|---------------|----------------|--------------------------|--------------------------|-----------|-------|---------------|
| TRB | S1 | 91,5 | 0,017 ± 0,001 | | | 0,943 | 40,8 | BUP | S1 | 98,2 | 0,015 ± 0,001 | | | 0,878 | 46,2 |
| | BX1 | 87,4 | 0,030 ± 0,002 | | | 0,879 | 23,1 | | BX1 | 99,2 | 0,033 ± 0,002 | | | 0,949 | 21,0 |
| | BX2 | 95,2 | 0,021 ± 0,002 | | | 0,845 | 33,0 | | BX2 | 93,4 | 0,023 ± 0,002 | | | 0,873 | 30,1 |
| | BX3 | 96,8 | 0,046 ± 0,003 | | | 0,920 | 15,1 | | BX3 | 95,2 | 0,036 ± 0,001 | | | 0,964 | 19,3 |
| | BX4 | 81,6 | 0,037 ± 0,002 | | | 0,937 | 18,7 | | BX4 | 95,8 | 0,036 ± 0,002 | | | 0,944 | 19,3 |
| | BX5 | 92,1 | 0,049 ± 0,003 | | | 0,900 | 14,1 | | BX5 | 80,8 | 0,029 ± 0,002 | | | 0,883 | 23,9 |
| | OBX1 | 87,0 | 0,027 ± 0,001 | | | 0,977 | 25,7 | | OBX1 | 97,0 | 0,007 ± 0,001 | | | 0,828 | 99,0 |
| OBX2 | 92,6 | 0,015 ± 0,001 | | | 0,873 | 46,2 | OBX2 | 101,5 | 0,023 ± 0,010 | 0,001 ± 0,001 | 14,0 | 0,713 | 385,1 | | |
| DIM | S1 | 90,7 | 0,405 ± 0,028 | | | 0,968 | 1,7 | IPR | S1 | 89,7 | 0,014 ± 0,001 | | | 0,833 | 49,5 |
| | BX1 | 98,0 | 0,671 ± 0,053 | | | 0,976 | 1,0 | | BX1 | 99,4 | 0,134 ± 0,011 | 0,029 ± 0,028 | 18,4 | 0,970 | 5,2 |
| | BX2 | 99,4 | 1,483 ± 0,094 | | | 0,988 | 0,5 | | BX2 | 99,7 | 0,102 ± 0,019 | 0,038 ± 0,012 | 7,0 | 0,901 | 6,8 |
| | BX3 | 99,9 | 0,286 ± 0,035 | | | 0,957 | 2,4 | | BX3 | 91,8 | 0,068 ± 0,022 | 0,031 ± 0,017 | 14,0 | 0,838 | 10,2 |
| | BX4 | - | - | | | - | - | | BX4 | 92,0 | 0,057 ± 0,017 | 0,029 ± 0,007 | 7,6 | 0,874 | 16,5 |
| | BX5 | 90,5 | 0,246 ± 0,019 | | | 0,942 | 2,8 | | BX5 | 84,3 | 0,032 ± 0,003 | | | 0,768 | 21,7 |
| | OBX1 | 101,0 | 0,229 ± 0,012 | | | 0,973 | 3,0 | | OBX1 | 120,7 | 0,007 ± 0,002 | | | 0,444 | 99,0 |
| OBX2 | 100,0 | 0,016 ± | 0,230 ± 0,069 | 2,8 | 0,993 | 5,7 | OBX2 | 93,4 | 0,002 ± 0,001 | | | 0,082 | 346,6 | | |
| MTX | S1 | 97,4 | 0,016 ± 0,002 | 0,057 ± 0,004 | 26,7 | 0,989 | 31,4 | IND | S1 | 99,7 | 0,103 ± 0,005 | 0,020 ± 0,002 | 7,5 | 0,991 | 6,7 |
| | BX1 | 96,3 | 0,040 ± 0,002 | | | 0,927 | 17,3 | | BX1 | 99,0 | 0,078 ± 0,006 | 0,010 ± 0,004 | 16,4 | 0,974 | 8,9 |
| | BX2 | 108,2 | 0,043 ± 0,002 | | | 0,930 | 16,1 | | BX2 | 100,0 | 0,169 ± 0,024 | 0,015 ± 0,002 | 4,3 | 0,939 | 4,1 |
| | BX3 | 111,2 | 0,121 ± 0,007 | | | 0,960 | 5,7 | | BX3 | 97,8 | 0,084 ± 0,006 | 0,013 ± 0,002 | 10,1 | 0,982 | 8,3 |
| | BX4 | 91,1 | 0,033 ± 0,002 | | | 0,946 | 21,0 | | BX4 | 100,0 | 0,172 ± 0,053 | 0,013 ± 0,005 | 3,7 | 0,734 | 7,4 |
| | BX5 | 101,4 | 0,011 ± 0,007 | 0,026 ± 0,006 | 24,2 | 0,868 | 40,7 | | BX5 | 94,3 | 0,148 ± 0,022 | 0,003 ± 0,004 | 7,2 | 0,832 | 4,7 |
| | OBX1 | 94,8 | 0,004 ± 0,001 | | | 0,555 | 173,3 | | OBX1 | 98,9 | 0,027 ± 0,003 | 0,003 ± 0,017 | 42,0 | 0,904 | 25,7 |
| OBX2 | 99,3 | -0,002 ± 0,002 | | | 0,103 | +∞ | OBX2 | 101,0 | 0,028 ± 0,002 | -0,003 ± 0,003 | 32,9 | 0,958 | 24,8 | | |
| MTR | S1 | 82,0 | 0,040 ± 0,001 | | | 0,967 | 17,3 | AZX | S1 | 89,8 | 0,018 ± 0,001 | | | 0,943 | 38,5 |
| | BX1 | 96,9 | 0,067 ± 0,017 | 0,216 ± 0,526 | 7,0 | 0,939 | 8,0 | | BX1 | 98,6 | 0,097 ± 0,015 | 0,046 ± 0,125 | 25,3 | 0,896 | 7,1 |
| | BX2 | 100,0 | 0,031 ± 0,025 | 0,100 ± 0,014 | 3,8 | 0,963 | 9,6 | | BX2 | 97,5 | 0,098 ± 0,006 | 0,012 ± 0,012 | 21,0 | 0,975 | 7,1 |
| | BX3 | 99,5 | 0,082 ± 0,004 | 0,000 ± 0,028 | 36,8 | 0,984 | 8,5 | | BX3 | 93,2 | 0,052 ± 0,018 | 0,018 ± 0,005 | 11,2 | 0,836 | 17,3 |
| | BX4 | 99,5 | 0,109 ± 0,007 | 0,003 ± 0,019 | 25,9 | 0,975 | 6,4 | | BX4 | 92,1 | 0,059 ± 0,018 | 0,017 ± 0,005 | 12,3 | 0,845 | 11,7 |
| | BX5 | 85,1 | 0,039 ± 0,003 | | | 0,901 | 17,8 | | BX5 | 100,0 | 0,113 ± 0,033 | 0,030 ± 0,005 | 4,0 | 0,905 | 11,9 |
| | OBX1 | 97,4 | 0,030 ± 0,001 | | | 0,981 | 23,1 | | OBX1 | 100,0 | 0,441 ± 0,010 | 0,025 ± 0,002 | 4,3 | 0,998 | 1,6 |
| OBX2 | 100,8 | 0,017 ± 0,001 | | | 0,837 | 40,8 | OBX2 | 99,6 | 0,110 ± 0,013 | 0,002 ± 0,003 | 10,4 | 0,926 | 6,3 | | |

Πίνακας 15.2. Κινητικά χαρακτηριστικά της αποδόμησης μίγματος οκτώ φ.ο. που εφαρμόστηκαν σε οκτώ υποστρώματα σε δόση STD

| | | C_0 (%) | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | t_b (d) | r^2 | $t_{1/2}$ (d) | | | C_0 (%) | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | t_b (d) | r^2 | $t_{1/2}$ (d) |
|-------------|-------------|----------------|--------------------------|--------------------------|-----------|-------|---------------|------------|---------------|-----------|--------------------------|--------------------------|-----------|-------|---------------|
| TRB | S1 | 90,6 | 0,007 ± 0,001 | | | 0,800 | 99,0 | BUP | S1 | 84,5 | 0,008 ± 0,001 | | | 0,728 | 86,6 |
| | BX1 | 84,8 | 0,012 ± 0,001 | | | 0,882 | 57,8 | | BX1 | 90,9 | 0,024 ± 0,001 | | | 0,975 | 28,9 |
| | BX2 | 60,0 | 0,005 ± 0,002 | | | 0,201 | 138,6 | | BX2 | 79,3 | 0,013 ± 0,002 | | | 0,708 | 53,3 |
| | BX3 | 95,7 | 0,009 ± 0,001 | | | 0,912 | 77,0 | | BX3 | 102,6 | 0,016 ± 0,001 | | | 0,977 | 43,3 |
| | BX4 | 90,9 | 0,015 ± 0,001 | | | 0,886 | 46,2 | | BX4 | 89,3 | 0,017 ± 0,001 | | | 0,906 | 40,8 |
| | BX5 | 100,0 | 0,236 ± 0,024 | 0,036 ± 0,005 | 3,4 | 0,970 | 2,9 | | BX5 | 98,6 | 0,099 ± 0,008 | 0,013 ± 0,002 | 8,1 | 0,970 | 7,0 |
| | OBX1 | 92,0 | 0,018 ± 0,001 | | | 0,970 | 38,5 | | OBX1 | 85,7 | 0,008 ± 0,001 | | | 0,833 | 86,6 |
| OBX2 | 95,0 | 0,022 ± 0,001 | | | 0,958 | 31,5 | OBX2 | 95,9 | 0,011 ± 0,001 | | | 0,920 | 63,0 | | |
| DIM | S1 | 115,5 | 0,118 ± 0,005 | | | 0,972 | 5,9 | IPR | S1 | 85,9 | 0,008 ± 0,001 | | | 0,745 | 86,6 |
| | BX1 | 108,5 | 0,140 ± 0,026 | | | 0,833 | 5,0 | | BX1 | 99,3 | 0,071 ± 0,010 | 0,011 ± 0,006 | 16,2 | 0,904 | 9,8 |
| | BX2 | 142,7 | 0,445 ± 0,028 | | | 0,962 | 1,6 | | BX2 | 100,0 | 0,202 ± 0,008 | 0,094 ± 0,007 | 4,6 | 0,996 | 3,4 |
| | BX3 | 175,8 | 0,267 ± 0,016 | | | 0,958 | 2,6 | | BX3 | 101,1 | 0,066 ± 0,002 | | | 0,991 | 10,5 |
| | BX4 | 127,9 | 0,278 ± 0,017 | | | 0,966 | 2,5 | | BX4 | 101,0 | 0,081 ± 0,020 | 0,047 ± 0,015 | 7,0 | 0,891 | 9,7 |
| | BX5 | 94,6 | 0,067 ± 0,005 | | | 0,942 | 10,3 | | BX5 | 70,0 | 0,000 ± 0,002 | | | 0,005 | +∞ |
| | OBX1 | 149,6 | 0,123 ± 0,004 | | | 0,981 | 5,6 | | OBX1 | 99,2 | 0,001 ± 0,001 | | | 0,198 | 693,1 |
| OBX2 | 100,0 | -0,006 ± 0,012 | 0,182 ± 0,018 | 4,8 | 0,991 | 8,8 | OBX2 | 102,6 | 0,005 ± 0,001 | | | 0,288 | 138,6 | | |
| MTX | S1 | 88,9 | 0,004 ± 0,001 | | | 0,697 | 173,3 | IND | S1 | 128,1 | 0,090 ± 0,028 | 0,017 ± 0,009 | 16,9 | 0,621 | 7,7 |
| | BX1 | 114,2 | 0,020 ± 0,002 | | | 0,865 | 34,7 | | BX1 | 104,0 | 0,098 ± 0,017 | 0,008 ± 0,018 | 12,9 | 0,914 | 7,1 |
| | BX2 | 92,9 | 0,054 ± 0,004 | | | 0,884 | 12,8 | | BX2 | 100,8 | 0,106 ± 0,006 | 0,019 ± 0,002 | 7,6 | 0,986 | 6,5 |
| | BX3 | 119,7 | 0,081 ± 0,006 | | | 0,910 | 8,6 | | BX3 | 108,8 | 0,047 ± 0,007 | 0,007 ± 0,004 | 18,2 | 0,924 | 14,7 |
| | BX4 | 90,8 | 0,009 ± 0,004 | 0,061 ± 0,011 | 27,3 | 0,927 | 34,7 | | BX4 | 100,9 | 0,061 ± 0,012 | 0,021 ± 0,003 | 7,0 | 0,918 | 19,7 |
| | BX5 | 80,6 | 0,002 ± 0,001 | | | 0,061 | 346,6 | | BX5 | 75,5 | 0,000 ± 0,002 | | | 0,001 | +∞ |
| | OBX1 | 99,2 | 0,001 ± 0,001 | | | 0,161 | 693,1 | | OBX1 | 98,7 | 0,006 ± 0,001 | | | 0,708 | 115,5 |
| OBX2 | 113,0 | 0,003 ± 0,001 | | | 0,168 | 198,0 | OBX2 | 89,4 | 0,007 ± 0,001 | | | 0,901 | 105,0 | | |
| MTR | S1 | 96,8 | 0,059 ± 0,009 | 0,016 ± 0,002 | 11,8 | 0,964 | 11,7 | AZX | S1 | 79,6 | 0,010 ± 0,001 | | | 0,730 | 69,3 |
| | BX1 | 110,7 | 0,033 ± 0,001 | | | 0,979 | 21,0 | | BX1 | 96,6 | 0,089 ± 0,014 | 0,017 ± 0,006 | 10,1 | 0,922 | 7,8 |
| | BX2 | 100,0 | 0,126 ± 0,007 | 0,031 ± 0,005 | 7,5 | 0,989 | 5,5 | | BX2 | 100,0 | 0,248 ± 0,010 | 0,039 ± 0,003 | 4,4 | 0,995 | 2,8 |
| | BX3 | 101,2 | 0,044 ± 0,001 | | | 0,979 | 15,8 | | BX3 | 101,1 | 0,072 ± 0,013 | 0,002 ± 0,002 | 9,8 | 0,876 | 9,6 |
| | BX4 | 99,8 | 0,039 ± 0,002 | | | 0,935 | 17,8 | | BX4 | 85,1 | 0,013 ± 0,002 | | | 0,714 | 53,3 |
| | BX5 | 88,8 | 0,011 ± 0,001 | | | 0,745 | 63,0 | | BX5 | 100,0 | 0,255 ± 0,037 | 0,017 ± 0,004 | 3,7 | 0,918 | 2,7 |
| | OBX1 | 100,0 | 0,025 ± 0,001 | | | 0,978 | 27,7 | | OBX1 | 106,9 | 0,053 ± 0,005 | 0,029 ± 0,030 | 29,9 | 0,935 | 13,1 |
| OBX2 | 102,3 | 0,025 ± 0,001 | | | 0,957 | 27,7 | OBX2 | 98,6 | 0,021 ± 0,002 | | | 0,876 | 33,0 | | |

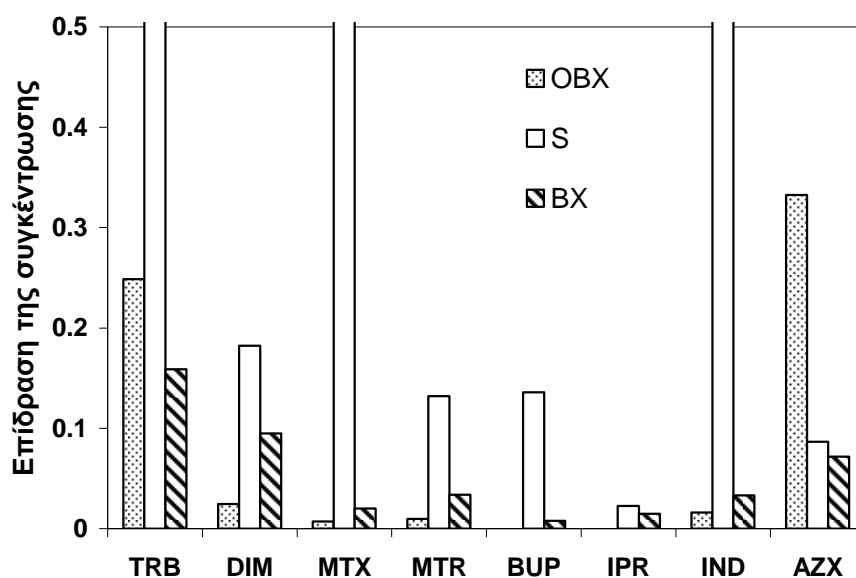
Πίνακας 15.3. Κινητικά χαρακτηριστικά της αποδόμησης μίγματος οκτώ φ.ο. που εφαρμόστηκαν σε οκτώ υποστρώματα σε δόση STDx4

| | | C_0 (%) | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | t_b (d) | r^2 | $t_{1/2}$ (d) | | | C_0 (%) | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | t_b (d) | r^2 | $t_{1/2}$ (d) |
|-----|------|-----------|--------------------------|--------------------------|-----------|-------|---------------|-----|------|-----------|--------------------------|--------------------------|-----------|-------|---------------|
| TRB | S1 | 97,8 | 0,002 ± 0,001 | | | 0,771 | 444,3 | BUP | S1 | 93,1 | 0,006 ± 0,001 | | | 0,957 | 109,6 |
| | OBX1 | 87,2 | 0,018 ± 0,001 | | | 0,975 | 38,9 | | OBX1 | 87,0 | 0,007 ± 0,001 | | | 0,941 | 100,3 |
| | BX2 | 106,7 | 0,005 ± 0,001 | | | 0,925 | 138,6 | | BX2 | 88,7 | 0,008 ± 0,001 | | | 0,911 | 86,6 |
| DIM | S1 | 87,0 | 0,037 ± 0,003 | | | 0,970 | 18,7 | IPR | S1 | 88,7 | 0,006 ± 0,002 | | | 0,664 | 113,7 |
| | OBX1 | 134,5 | 0,101 ± 0,008 | | | 0,979 | 6,8 | | OBX1 | 100,0 | 0,028 ± 0,006 | 0,006 ± 0,001 | 9,2 | 0,989 | 81,5 |
| | BX2 | 123,5 | 0,288 ± 0,052 | | | 0,968 | 2,4 | | BX2 | 111,7 | 0,077 ± 0,006 | | | 0,988 | 9,0 |
| MTX | S1 | 93,9 | 0,002 ± 0,000 | | | 0,801 | 418,5 | IND | S1 | 104,6 | 0,038 ± 0,015 | 0,001 ± 0,004 | 25,9 | 0,876 | 18,4 |
| | OBX1 | 113,1 | 0,006 ± 0,001 | | | 0,847 | 119,6 | | OBX1 | 100,0 | 0,056 ± 0,024 | 0,001 ± 0,002 | 11,0 | 0,834 | 72,0 |
| | BX2 | 99,1 | -0,005 ± 0,008 | 0,052 ± 0,009 | 23,1 | 0,982 | 38,7 | | BX2 | 100,0 | 0,108 ± 0,025 | 0,003 ± 0,002 | 10,6 | 0,929 | 6,4 |
| MTR | S1 | 93,8 | 0,015 ± 0,001 | | | | 46,2 | AZX | S1 | 92,1 | 0,008 ± 0,002 | | | | 84,4 |
| | OBX1 | 99,9 | 0,015 ± 0,001 | | | 0,962 | 47,1 | | OBX1 | 99,2 | 0,026 ± 0,007 | 0,008 ± 0,002 | 25,3 | 0,973 | 29,5 |
| | BX2 | 100,0 | -0,010 ± 0,005 | 0,039 ± 0,002 | 11,1 | 0,998 | 31,8 | | BX2 | 100,0 | 0,041 ± 0,035 | 0,017 ± 0,002 | 6,9 | 0,967 | 30,9 |

Πίνακας 15.4. Κινητικά χαρακτηριστικά της αποδόμησης μίγματος οκτώ φ.ο. που εφαρμόστηκαν σε οκτώ υποστρώματα σε δόση STDx10

| | | C_0 (%) | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | t_b (d) | r^2 | $t_{1/2}$ (d) | | | C_0 (%) | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | t_b (d) | r^2 | $t_{1/2}$ (d) |
|-----|------|-----------|--------------------------|--------------------------|-----------|-------|---------------|-----|------|-----------|--------------------------|--------------------------|-----------|-------|---------------|
| TRB | S1 | 102,7 | 0,000 ± 0,000 | | | 0,072 | 6601,4 | BUP | S1 | 99,8 | 0,001 ± 0,000 | | | 0,760 | 650,2 |
| | OBX1 | 94,3 | 0,001 ± 0,000 | | | 0,514 | 627,8 | | OBX1 | 101,7 | 0,008 ± 0,001 | | | 0,936 | 89,2 |
| | BX2 | 101,4 | 0,001 ± 0,001 | | | 0,387 | 563,9 | | BX2 | 88,2 | 0,010 ± 0,001 | | | 0,970 | 66,0 |
| DIM | S1 | 108,8 | 0,021 ± 0,001 | | | 0,990 | 33,3 | IPR | S1 | 104,8 | 0,004 ± 0,001 | | | 0,965 | 173,2 |
| | OBX1 | 130,0 | 0,062 ± 0,009 | | | 0,926 | 11,2 | | OBX1 | 96,0 | 0,009 ± 0,001 | | | 0,961 | 74,0 |
| | BX2 | 139,7 | 0,126 ± 0,022 | | | 0,944 | 5,5 | | BX2 | 80,8 | 0,046 ± 0,004 | | | 0,970 | 15,0 |
| MTX | S1 | 103,8 | 0,000 ± 0,000 | | | 0,196 | 1781,8 | IND | S1 | 100,0 | 0,033 ± 0,008 | 0,000 ± 0,001 | 7,2 | 0,879 | 1510,6 |
| | OBX1 | 98,5 | 0,002 ± 0,001 | | | 0,487 | 290,7 | | OBX1 | 100,0 | 0,038 ± 0,017 | 0,003 ± 0,002 | 12,7 | 0,928 | 76,3 |
| | BX2 | 95,1 | 0,000 ± 0,000 | 0,046 ± 0,011 | 32,8 | 0,974 | 47,8 | | BX2 | 100,0 | 0,077 ± 0,015 | 0,012 ± 0,002 | 7,4 | 0,972 | 17,8 |
| MTR | S1 | 109,7 | 0,003 ± 0,000 | | | 0,856 | 232,2 | AZX | S1 | 102,1 | 0,002 ± 0,001 | | | 0,671 | 365,2 |
| | OBX1 | 128,3 | 0,014 ± 0,001 | | | 0,937 | 48,4 | | OBX1 | 109,7 | 0,012 ± 0,002 | | | 0,873 | 57,9 |
| | BX2 | 129,5 | 0,017 ± 0,001 | | | 0,949 | 41,5 | | BX2 | 108,4 | 0,012 ± 0,002 | | | 0,872 | 57,1 |

Γενικά η συγκέντρωση εφαρμογής είχε σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα της αποδόμησης. Η απόκριση των μικροβιακών αποδομητών στις μεταβολές της συγκέντρωσης διαφοροποιούνταν τόσο με το επιλεγθέν υπόστρωμα όσο και με την ουσία που εξετάζεται. Στο εύρος των συγκεντρώσεων της δοκιμής η ικανότητα αποδόμησης εκφρασμένη ως τιμή $t_{1/2}$ συσχετίστηκε με την αρχική συγκέντρωση σε 15 από τις συνολικά 24 περιπτώσεις υποστρωμάτων-ουσίας. Αυτή η επίδραση εμφανίστηκε πιο έντονη στο έδαφος καθώς οι μετρούμενοι συντελεστές προσαρμογής ήταν σε κάθε περίπτωση υψηλότεροι από 0,924 ($p < 0,05$). Η αύξηση του χρόνου παραμονής των φ.ο. στο έδαφος με αύξηση της συγκέντρωσης εφαρμογής έχει αποδοθεί στην τοξική δράση των φ.ο. (Felsot and Dzantor, 1995; Mueller et al., 1992; Cink and Coats, 1993). Πράγματι οι ουσίες chlorpyrifos (Poza et al., 1995), iprodione (Helweg, 1983), azoxystrobin (Bending et al., 2007), metalaxyl (Sukul, 2006) όπως και ορισμένοι από τους μεταβολίτες τους έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν εφήμερες ή μακροχρόνιες μεταβολές στη σύνθεση και την ενζυμική δραστηριότητα της μικροχλωρίδας του εδάφους. Η τοξική δράση των φ.ο. στους μικροβιακούς αποδομητές του εδάφους εντείνεται όταν οι ουσίες εφαρμόζονται ως μίγμα παρά μεμονωμένα (Fogg et al., 2003; Schoen and Winterlin, 1987). Επίσης, οι υψηλές τιμές συγκέντρωσης των φ.ο. μπορεί να επηρεάσουν μη βιολογικά ελεγχόμενες διεργασίες αποδόμησης (π.χ. χημική υδρόλυση) καθώς προκαλούν περιορισμό των διαθεσίμων ενεργών θέσεων για αποδόμηση (Racke et al., 1996).



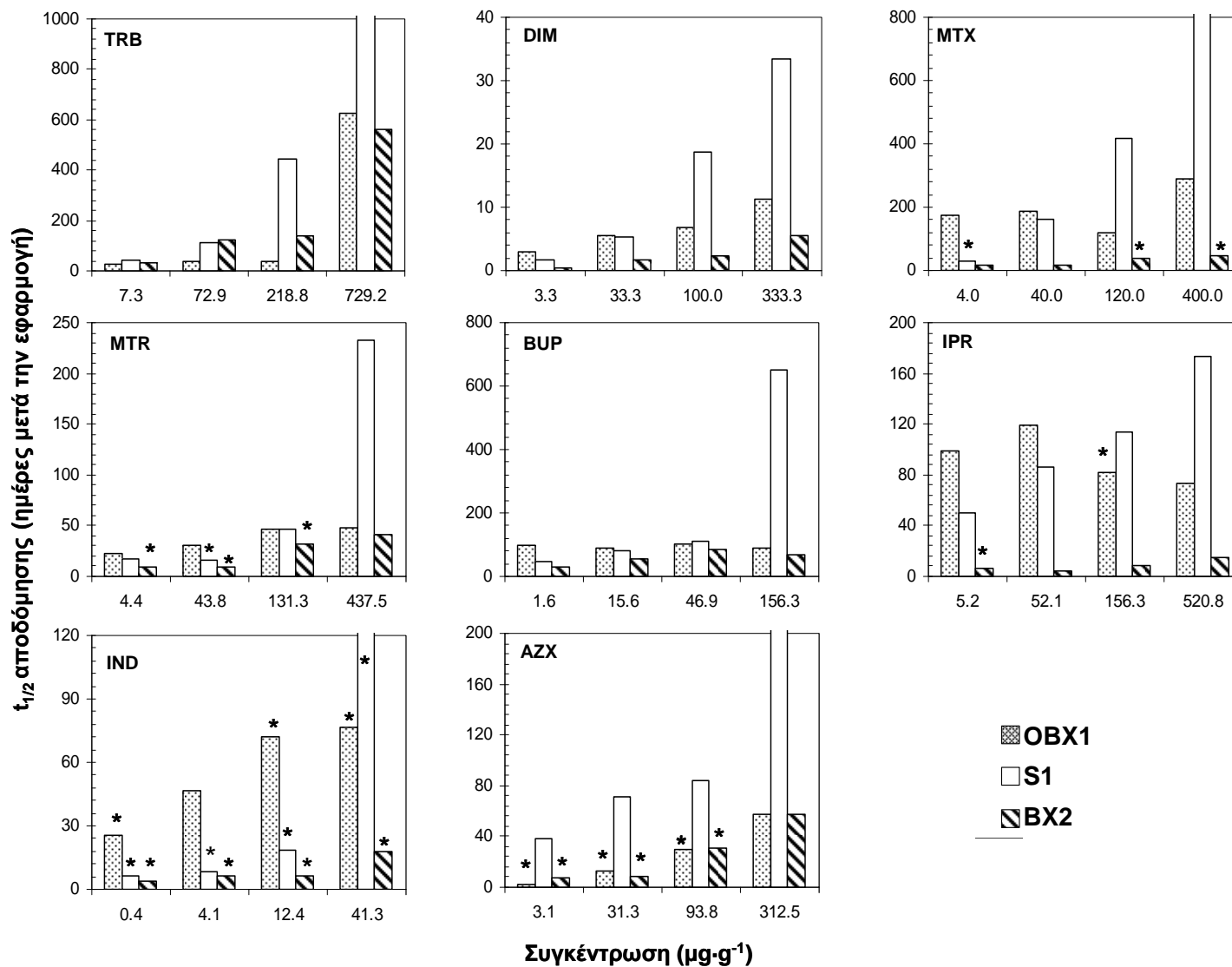
Διάγραμμα 15.2. Η επίδραση της συγκέντρωσης στο χρόνο $t_{1/2}$ οκτώ φ.ο. στο έδαφος, σε βιομίγμα κομπόστας ελαιόφυλλων (BX2) και τύρφης (OBX1). Η επίδραση της συγκέντρωσης υπολογίστηκε ως η κλίση της ευθείας σε διάγραμμα χρόνου αποδόμησης-συγκέντρωσης εφαρμογής. Τα αποτελέσματα εξομαλύνθηκαν ως προς τις τιμές της χαμηλότερης συγκέντρωσης κάθε υποστρώματος

Το έδαφος παρουσίασε αδυναμία διατήρησης της αποδομητικής του ικανότητας σε υψηλές συγκεντρώσεις. Στο πιο ακραίο σενάριο τα σχεδόν $3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ των συνολικής συγκέντρωσης των ουσιών που εφαρμόστηκαν ως μίγμα οδήγησαν στην απότομη μείωση ή σε πλήρη αναστολή της πορείας αποδόμησης, με αποτέλεσμα οι εκτιμώμενες τιμές $t_{1/2}$ να υπερβαίνουν σημαντικά το χρόνο παρακολούθησης των 120 ημερών. Ο συντελεστής επίδρασης της συγκέντρωσης, εκφρασμένος ως κλίση της ευθείας σε διάγραμμα $t_{1/2}$ -συγκέντρωσης εφαρμογής, ήταν ο υψηλότερος μεταξύ των υποστρωμάτων της δοκιμής. Σε τέτοιες ασυνήθιστα υψηλές συγκεντρώσεις φ.ο. η πιθανότητα

επιβίωσης συγκεκριμένων αποδομητών στο έδαφος είναι πολύ μικρότερη σε σύγκριση με τα πλούσια σε χούμο υποστρώματα. Αντίστοιχες διαφορές στην επίδραση της συγκέντρωσης στο ρυθμό αποδόμησης μεταξύ εδάφους εμπλουτισμένου με οργανική ουσία και εδάφους μάρτυρα έχει διαπιστωθεί και για το acetochlor (Cai et al., 2007).

Στο τυπικό σουηδικό βιομίγμα τύρφης έχει παρατηρηθεί ότι οποιαδήποτε αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης δεν οδηγεί πάντα σε μικρότερες τιμές ρυθμού αποδόμησης. Η απουσία τοξικής επίδρασης της συγκέντρωσης ήταν εμφανής στις περιπτώσεις του buprofezin και του iprodione και σε μικρότερο βαθμό για το indoxacarb. Αντίθετα για τις ουσίες terbuthylazine, dimethoate και azoxystrobin εμφανίστηκε ισχυρή συσχέτιση με το επίπεδο συγκέντρωσης. Για το BX2 βιομίγμα παρατηρήθηκε μια θετική συσχέτιση μεταξύ δόσης εφαρμογής και χρόνου $t_{1/2}$ ($r^2 > 0,877$, $p < 0,05$) με εξαίρεση την ουσία buprofezin ($r^2 = 0,453$, $p > 0,05$). Όμως, η επίδραση της συγκέντρωσης στην αποδομητική ικανότητα του υποστρώματος ήταν πολύ μικρότερη από αυτή του εδάφους. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με προηγούμενα δημοσιευμένα στοιχεία σύμφωνα με τα οποία παρατηρήθηκε μείωση του ρυθμού αποδόμησης με αύξηση της συγκέντρωσης εφαρμογής σε βιομίγματα με βάση την κομπόστα (Fogg et al., 2003; Vischetti et al., 2008). Εκτός από το ρυθμό αποδόμησης οι αλλαγές της συγκέντρωσης στο BX2 υπόστρωμα οδήγησαν και σε μεταβολή της κινητικής της αποδόμησης πολλών ουσιών, με τυπική επίδραση την μεταβολή της διφασικής πορείας αποδόμησης σε σταθερού ρυθμού στις υψηλές συγκεντρώσεις π.χ. για το metribuzin και το iprodione και το azoxystrobin. Στο metalaxyl-M η αύξηση της δόσης εφαρμογής στα επίπεδα x4 και x10 οδήγησε σε εμφάνιση φάσης υστέρησης διάρκειας 23-32 ημερών.

Η επίδραση της συγκέντρωσης έδωσε διαφοροποιημένα αποτελέσματα και μεταξύ διαφορετικών ουσιών. Για παράδειγμα στα οργανικά υποστρώματα οι ρυθμοί αποδόμησης του terbuthylazine και του azoxystrobin επηρεάστηκαν ιδιαίτερα από μεταβολές στο επίπεδο συγκέντρωσης, ενώ στο έδαφος οι ουσίες terbuthylazine, metalaxyl-M και indoxacarb εμφάνισαν μεγάλες τιμές συντελεστή επίδρασης. Αντίθετα η ικανότητα αποδόμησης των iprodione και buprofezin επηρεάστηκε λιγότερο από τις μεταβολές της συγκέντρωσης των ουσιών, ανεξάρτητα από το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε. Τέτοιες διαφοροποιήσεις μεταξύ ουσιών πιθανόν να αντικατοπτρίζουν τη σχετική ικανότητα συγκεκριμένων μικροβιακών αποδομητών να ανθίσταται στη τοξική δράση των φ.ο. της δοκιμής.



Διάγραμμα 15.3. Ο χρόνος $t_{1/2}$ οκτώ φ.ο. μετά από εφαρμογή τους στο έδαφος και σε δύο βιομίγματα (BX2, OBX1) σε τέσσερις διαφορετικές συγκεντρώσεις (STD:10, STD, STDx4 και STDx10). Με αστερίσκο σημειώνονται οι περιπτώσεις όπου η πορεία αποδόμησης περιγράφηκε με σύνθετο κινητικό μοντέλο

Δοκιμές προσρόφησης-εκρόφησης σε υποστρώματα με βάση την κομπόστα και τη τύρφη

16.1. Εισαγωγή

Η προσρόφηση έχει αναγνωριστεί ως μια από τις σημαντικότερες μορφές αλληλεπίδρασης υποστρώματος και φ.ο. στις βιοκλίνες. Στην παρούσα δοκιμή εξετάστηκε η ικανότητα των βιομίγματος κομπόστας (BX1, BX2, BX3, BX4, BX5), τύρφης (OBX1) και του εδάφους (S1) που αναφέρθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο για συγκράτηση επιλεγμένων φ.ο. (terbuthylazine, metalaxyl-M, metribuzin, indoxacarb) μέσω δυνάμεων προσρόφησης. Η εργαστηριακή δοκιμή της συμπεριφοράς προσρόφησης-εκρόφησης αποσκοπεί:

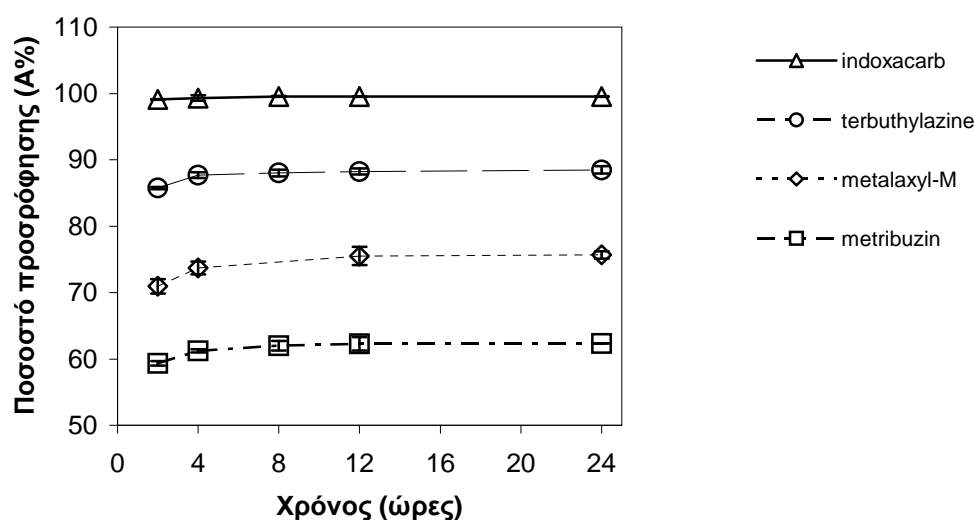
- στη σύγκριση μεταξύ βιομιγμάτων με βάση την κομπόστα και τυπικού Σουηδικού βιομίγματος ως προς τη συγκράτηση ουσιών με διαφορετικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά
- στη διαφοροποίηση των παραμέτρων της προσρόφησης και εκρόφησης σε βιομίγματα που περιέχουν διαφορετικής προέλευσης κομπόστα και στον έλεγχο του το κατά ποσό συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των κομποστών μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως κριτήρια για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας τους
- στη σύγκριση των υποστρωμάτων ως προς το βαθμό ανιστρεψιμότητας της διεργασίας προσρόφησης
- στον έλεγχο της επίδρασης της προσρόφησης στις παραμέτρους της αποδόμησης
- στην επίδραση της ταυτόχρονης εφαρμογής μίγματος ουσιών στη συμπεριφορά προσρόφησης
- στην επίδραση της παρουσίας των βοηθητικών ουσιών των εμπορικών σκευασμάτων στην τιμή των συντελεστών προσρόφησης

16.2. Χρόνος ισορροπίας

Η ποσοστιαία προσρόφηση κάθε ουσίας σε παράθεση με το χρόνο συνεχούς ανακίνησης των δειγμάτων εμφανίζεται στο **διάγραμμα 16.1**. Η προσροφητική ικανότητα των ουσιών της δοκιμής σε

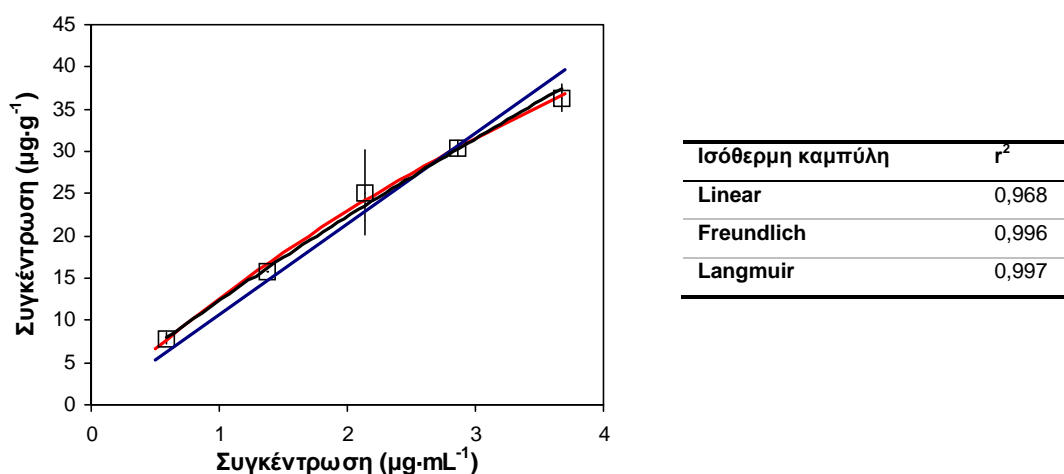
όλους τους χρόνους αξιολόγησης ακολούθησε τη σειρά metribuzin < metalaxyl-M < terbuthylazine < indoxacarb. Η κατάσταση ισορροπίας για όλες τις ουσίες της δοκιμής επιτεύχθηκε σε λιγότερο από 4 ώρες συνεχούς ανακίνησης, καθώς η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στο ποσοστό προσρόφησης της ουσίας στο χρονικό αυτό σημείο σε σχέση με μεταγενέστερους χρόνους. Προηγούμενες αναφορές στην κινητική της προσρόφησης των ίδιων ουσιών στο έδαφος και σε οργανικά υποστρώματα επιβεβαίωσαν την επίτευξη ισορροπίας εντός μερικών ωρών για τις ουσίες της δοκιμής (Majoumdar and Singh, 2007; Singh, 2002; Dolaptsoglou et al., 2007). Για το σύνολο των δοκιμών προσρόφησης επιλέχθηκε ως χρόνος συνεχούς ανακίνησης οι 14 ώρες προκειμένου να διευκολυνθεί η διεξαγωγή του πειράματος. Στο χρονικό διάστημα των 14 ωρών δεν παρατηρείται καμιά σημαντική μεταβολή στη συγκέντρωση των ουσιών στο υδατικό διάλυμα.

Διάγραμμα 16.1. Ποσοστιαία προσρόφηση τεσσάρων ουσιών σε βιομίγμα με βάση την κομπόστα ελαιόφυλλων (BX2) σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα ανακίνησης των δειγμάτων. Κάθε σημείο στο διάγραμμα αντιστοιχεί στο μέσο όρο τριών επαναλήψεων



Η κατανομή κάθε ουσίας στις δύο φάσεις (στερεό υπόστρωμα και υδατικό διάλυμα CaCl_2) μετά την επίτευξη ισορροπίας περιγράφηκε με το γραμμικό μοντέλο καθώς και με τις ισόθερμες Freundlich και Langmuir. Ένα παράδειγμα γραφικής αποτίμησης των αποτελεσμάτων από τα τρία μοντέλα εμφανίζεται στο **διάγραμμα 16.2**. Ο συντελεστής παλινδρόμησης (r^2) που προκύπτει από την εφαρμογή των ισόθερμων στα αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκε ως κριτήριο καταλληλότητας κάθε μοντέλου. Στο σύνολο των περιπτώσεων το μοντέλο Freundlich παρουσίασε ισχυρή εφαρμογή στα αποτελέσματα, στο εύρος των συγκεντρώσεων της δοκιμής, εμφανίζοντας ένα συντελεστή r^2 μεγαλύτερο από 0,96. Το γραμμικό μοντέλο περιγραφής της ισόθερμης προσρόφησης έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα ($r^2 > 0,95$) σε 11 από τις 25 συνολικά περιπτώσεις. Στις περιπτώσεις που η προσρόφηση μειώνεται με αύξηση της συγκέντρωσης εφαρμογής (ισόθερμη τύπου L κατά Gills) το μοντέλο Langmuir μπορεί να εφαρμοστεί με επιτυχία στα αποτελέσματα δίνοντας μάλιστα τιμές συντελεστή παραλλακτικότητας ίσες ή υψηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές που δίνει η εφαρμογή της ισόθερμης Freundlich. Εντούτοις το μοντέλο Langmuir αποτυγχάνει να αποδώσει ικανοποιητικά την κατανομή των ουσιών στην στερεή και υδατική φάση στις περιπτώσεις που η προσροφητική ικανότητα του υποστρώματος αυξάνει με αύξηση στη συγκέντρωση εφαρμογής (ισόθερμες τύπου S). Επομένως

για την μαθηματική έκφραση και διαγραμματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων στις δοκιμές προσρόφησης και εκρόφησης επιλέχθηκε η εξίσωση Freundlich. Η καλύτερη εφαρμογή της εξίσωσης Freundlich στα αποτελέσματα σε σχέση με το γραμμικό μοντέλο είναι ενδεικτική των αλλαγών στην συνάφεια μεταξύ φ.ο. και στερεής φάσης που προκύπτει με την αύξηση της συγκέντρωσης εφαρμογής της ουσίας. Οι περισσότερες από τις ισόθερμες του πειράματος ήταν τύπου L, σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Gills, ενώ κάποιες αντιστοιχούσαν στο τύπο C ($1/n$ κοντά στο 1) με την ισόθερμη στην περίπτωση αυτή να προσεγγίζει τη γραμμική εξίσωση. Σε μια μόνο περίπτωση (για το ζιζανιοκτόνο terbutylazine στο υπόστρωμα BX2) η παράμετρος $1/n$ της εξίσωσης Freundlich εμφανίζει τιμή αρκετά μεγαλύτερη της μονάδας (S τύπος ισόθερμης). Γενικά οι ισόθερμες τύπου L αντιπροσωπεύουν τη μείωση του αριθμού των διαθέσιμων θέσεων προσρόφησης με την αύξηση της συγκέντρωσης των φ.ο., που υποδηλώνει μηδενικό ή ελάχιστο ανταγωνισμό μεταξύ της ουσίας και των μορίων του διαλύτη, ενώ οι καμπύλες τύπου C είναι ενδεικτικές σταθερής κατανομής της ουσίας μεταξύ προσροφητικού μέσου και υδατικού διαλύματος. Στις δοκιμές εκρόφησης ο αριθμός των S-τύπου καμπύλων εμφανίζεται αυξημένος και ιδιαίτερα στα αποτελέσματα των δοκιμών για το ζιζανιοκτόνο metribuzin.



Διάγραμμα 16.2. Διαγραμματική απεικόνιση αποτελεσμάτων προσρόφησης του metolaxyl-M σε βιομίγμα κομπόστας ελαιόφυλλων (BX2) και μαθηματική αποτίμηση των αποτελεσμάτων με γραμμική ισόθερμη καμπύλη (—), ισόθερμη Freundlich (—) και ισόθερμη Langmuir (—)

16.3. Προσρόφηση-εκρόφηση τεσσάρων φ.ο. σε έδαφος, βιομίγμα τύρφης και σε οργανικά υποστρώματα με βάση διαφορετικής προέλευσης κομπόστα

16.3.1. Terbutylazine

Η μικρότερη τιμή συντελεστή προσρόφησης του terbutylazine ($K_f=4,4 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$) υπολογίστηκε για το έδαφος, ενώ για τα οργανικά υποστρώματα η ίδια παράμετρος έλαβε τιμές από 16,5 έως 51,1 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ (πίνακας 16.1, διάγραμμα 16.3). Παραπλήσια ικανότητα προσρόφησης του terbutylazine σε οργανικά υποστρώματα παρατηρήθηκε και σε προηγούμενη έρευνα με τη χρήση βιομίγματος με βάση την κομπόστα από υπολείμματα βαμβακιού (Kranvariti et al., 2010). Η τιμή K_{oc} ίση με $244 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ που προσδιορίστηκε στο έδαφος βρίσκεται στο μέσο του εύρους τιμών K_{oc} 151-333 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, που έχει αναφερθεί για τη συγκεκριμένη ουσία (Footprint, 2010). Η χρήση του συντελεστή K_{oc} για την

μαθηματική έκφραση της προσρόφησης αντί του συντελεστή K_f οδήγησε σε σημαντική μείωση της παραλλακτικότητας των τιμών μεταξύ των υποστρωμάτων. Το γεγονός αυτό τονίζει τη σημαντική συνεισφορά του οργανικού άνθρακα στις παραμέτρους προσρόφησης του ζιζανιοκτόνου, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τη στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ οργανικού άνθρακα και της αντίστοιχης τιμής K_f ($r^2=0,832$, $p<0,01$). Επομένως το terbutylazine, λόγω της σημαντικής συνάφειας του προς την οργανική ουσία, μπορεί να συγκρατηθεί επαρκώς στα οργανικά συστατικά των βιομιγμάτων με συνέπεια τη μείωση του κίνδυνου κάθετης μετακίνησης και ανίχνευσης του στα υπόγεια υδροφόρα συστήματα.

Πίνακας 16.1. Παράμετροι προσρόφησης και εκρόφησης του ζιζανιοκτόνου terbutylazine σε έδαφος (S1), τυπικό Σουηδικό βιομίγμα (OBX1) και σε πέντε οργανικά υποστρώματα με βάση την κομπόστα (BX1-BX5)

| | Προσρόφηση | | | | Εκρόφηση | | | | | |
|-------------|------------|-------|-------|----------|----------------|------------|-------------|-------|----------|-----------|
| | K_f | $1/n$ | r^2 | K_{oc} | $A(\%)^1$ | K_{fdes} | $1/n_{des}$ | r^2 | HI_2^2 | HI_{10} |
| S1 | 4,39 | 0,99 | 0,99 | 244 | 41,3 | 6,03 | 1,18 | 0,96 | 0,40 | 0,91 |
| OBX1 | 51,05 | 0,80 | 0,97 | 419 | 2,7 | 108,93 | 0,88 | 0,96 | 0,74 | 1,06 |
| BX1 | 33,74 | 0,83 | 0,98 | 319 | — ³ | — | — | — | — | — |
| BX2 | 35,73 | 1,85 | 0,94 | 345 | 7,7 | 47,06 | 1,26 | 0,97 | 0,59 | 0,18 |
| BX3 | 16,53 | 0,94 | 0,96 | 254 | 18,1 | 28,87 | 1,00 | 0,96 | 2,32 | 3,23 |
| BX4 | 29,25 | 1,13 | 0,95 | 333 | 8,7 | 40,77 | 1,09 | 0,94 | 0,49 | 0,34 |
| BX5 | 32,93 | 0,79 | 0,88 | 283 | 3,9 | 74,77 | 1,14 | 0,94 | 1,72 | 2,37 |

¹ Ποσοστό της προσροφημένης ουσίας που επιστρέφει στο υδατικό διάλυμα (επίπεδο συγκέντρωσης 6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

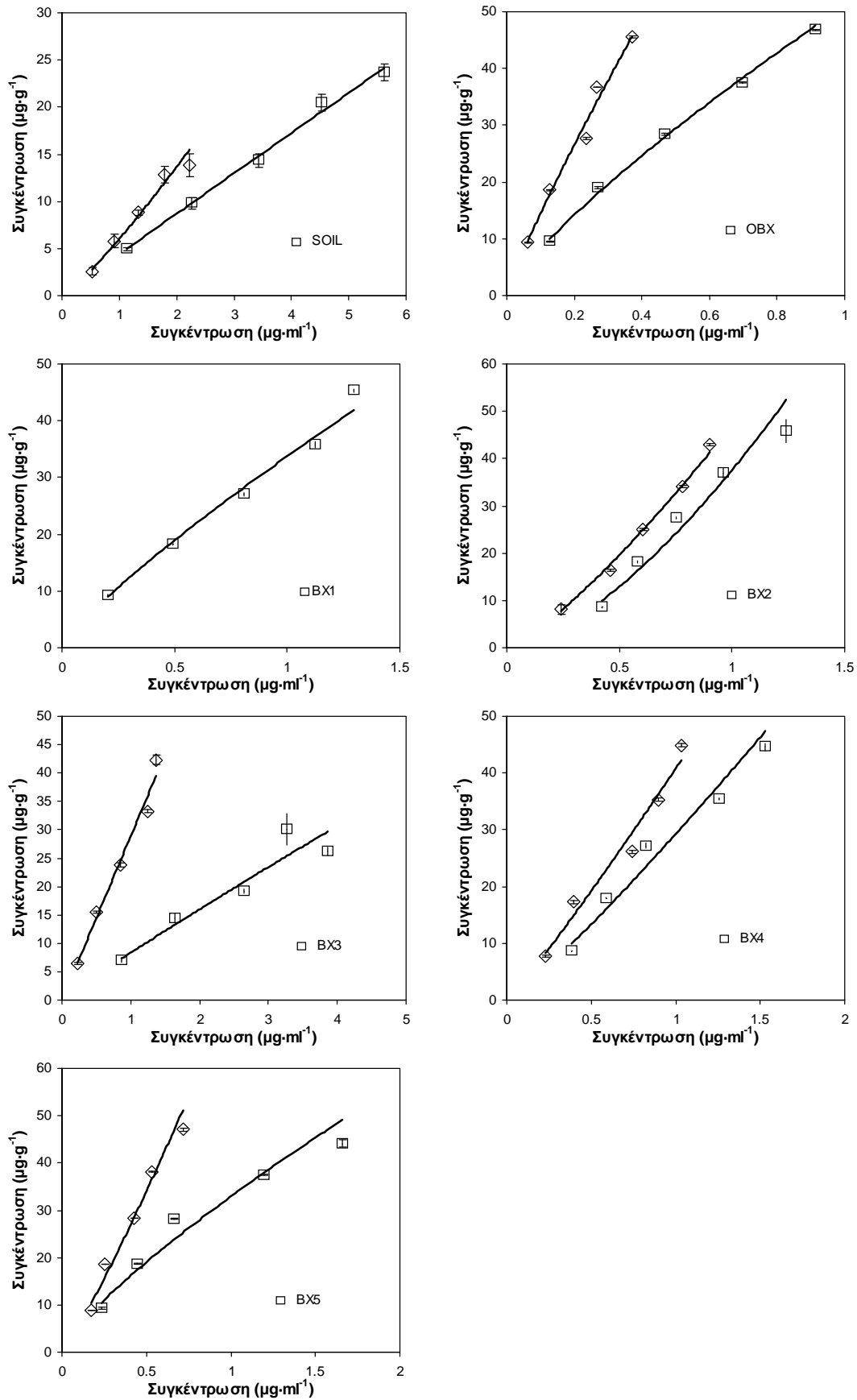
² Δείκτης υστέρησης υπολογισμένος σε επίπεδα συγκέντρωσης 2 και 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

³ Δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα εκρόφησης σε αυτό το υπόστρωμα

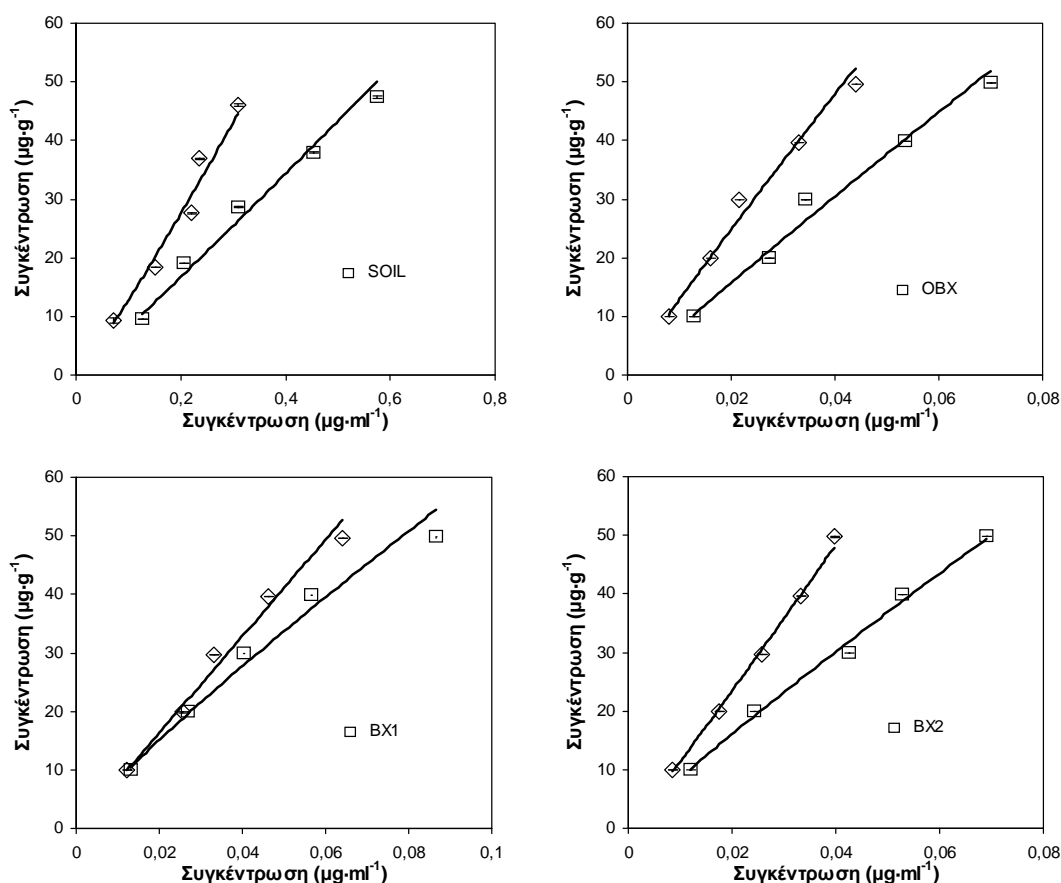
Ταυτόχρονα με την ασθενή προσρόφηση του στα κολλοειδή του εδάφους το terbutylazine εμφάνισε και έντονη τάση για επαναδιάλυση μέρους των προσροφημένων υπολειμμάτων. Περίπου το 40% της προσροφηθείσας ποσότητας στο έδαφος επιστρέφει στην υδατική φάση, ενώ η σταθερά της εκρόφησης ($K_{fdes}=6,03 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$) είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με τα υπόλοιπα υποστρώματα της δοκιμής. Η προσρόφηση του terbutylazine στο υπόστρωμα τύρφης και στο υπόστρωμα από κομποστοποιημένο βαμβακόσπορο (BX5) παρουσίασε τη μικρότερη αντιστρεψιμότητα (ποσοστό εκρόφησης μικρότερο από 4%). Τον υψηλότερο δείκτη υστέρησης εμφάνισαν τα υποστρώματα BX3 και BX5, ενώ σημαντικά μικρότερη υστέρηση υπολογίστηκε στην περίπτωση του BX2 υποστρώματος.

16.3.2. Indoxacarb

Από τις φ.ο. που συμπεριελήφθησαν στη δοκιμή το indoxacarb εμφάνισε τις μεγαλύτερες τιμές συντελεστών προσρόφησης και εκρόφησης ανεξάρτητα από το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε (**πίνακας 16.2, διάγραμμα 16.4**). Γενικά το indoxacarb προσροφάται ισχυρά στα συστατικά της οργανικής ουσίας του εδάφους και των οργανικών υποστρωμάτων δίνοντας ένα συντελεστή K_{oc} περίπου $4000\text{-}5000 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ που βρίσκεται σε συμφωνία με τις τιμές της ίδιας παραμέτρου που έχουν υπολογιστεί αλλού (Bruggger, 1997). Όπως και στην περίπτωση του terbutylazine η εξομάλυνση του συντελεστή προσρόφησης ως προς την περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα οδηγεί σε μείωση της παραλλακτικότητας των συντελεστών προσρόφησης μεταξύ των υποστρωμάτων. Έτσι στο εύρος τιμών που προκύπτει από την εφαρμογή του μοντέλου Freundlich στα αποτελέσματα ($89,1 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ για το έδαφος έως $656 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ για το βιομίγμα τύρφης) αντιστοιχεί ένα πολύ μικρότερο εύρος τιμών K_{oc} ($4767 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ για το BX1 υπόστρωμα έως $4995 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ για το BX2).



Διάγραμμα 16.3. Ισόθερμες προσρόφησης (\square) και εκρόφησης (\diamond) του terbutylazine στο έδαφος και σε οργανικά υποστρώματα (βιομίγματα) με βάση την κομπόστα (BX1 – BX5) και σε τυπικό βιομίγμα με βάση την τύρφη (OBX1)



Διάγραμμα 16.4. Ισόθερμες προσρόφησης (□) και εκρόφησης (◇) του indoxacarb στο έδαφος και σε οργανικά υποστρώματα με βάση την κομπόστα (BX1, BX2) ή την τύρφη (OBX1)

Χαρακτηριστική είναι και η θετική συσχέτιση μεταξύ της τιμής οργανικού άνθρακα κάθε υποστρώματος και της μετρηθείσας τιμής K_f ($r^2=0,975$, $p<0,05$). Τέτοιοι υψηλοί συντελεστές K_{oc} κατατάσσουν το indoxacarb στις ουσίες που πρακτικά δεν εκπλύνονται. Άλλο χαρακτηριστικό της συμπεριφοράς του indoxacarb τόσο στο έδαφος όσο και στα οργανικά υποστρώματα είναι η μικρή αντιστρεψιμότητα της διεργασίας προσρόφησης. Το ποσοστό της ουσίας που επιστρέφει στο υδατικό διάλυμα στο υπόστρωμα τύρφης είναι λίγο μικρότερο από το αντίστοιχο ποσοστό των υποστρωμάτων κομπόστας. Ακόμη όμως και στο έδαφος η ποσοστιαία εκρόφηση δεν ξεπέρασε το 4%. Άλλο χαρακτηριστικό γνώρισμα της συμπεριφοράς εκρόφησης του indoxacarb είναι και ο μικρός συντελεστής υστέρησης ($HI<0,7$) που δεν διαφοροποιούνταν σημαντικά μεταξύ των υποστρωμάτων.

Πίνακας 16.2. Παράμετροι προσρόφησης και εκρόφησης του indoxacarb σε έδαφος (S1), τυπικό Σουηδικό βιομίγμα (OBX1) και σε 5 οργανικά υποστρώματα με βάση την κομπόστα (BX1-BX2)

| | Προσρόφηση | | | | Εκρόφηση | | | | | |
|-------------|------------|-------|-------|----------|-----------|------------|-------------|-------|----------|-----------|
| | K_f | $1/n$ | r^2 | K_{oc} | $A(\%)^1$ | K_{fdes} | $1/n_{des}$ | r^2 | HI_2^2 | HI_{10} |
| S1 | 89,12 | 1,04 | 0,97 | 4767 | 3,5 | 163,53 | 1,10 | 0,95 | 0,56 | 0,72 |
| OBX1 | 655,96 | 0,95 | 0,95 | 4995 | 0,2 | 1012,70 | 0,95 | 0,96 | 0,56 | 0,54 |
| BX1 | 462,23 | 0,87 | 0,98 | 4300 | 0,4 | 835,99 | 1,01 | 0,98 | 0,03 | 0,30 |
| BX2 | 557,73 | 0,91 | 0,99 | 5048 | 0,3 | 1386,6 | 1,04 | 0,95 | 0,34 | 0,50 |

¹ Ποσοστό της προσροφημένης ουσίας που επιστρέφει στο υδατικό διάλυμα (επίπεδο συγκέντρωσης 6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

² Δείκτης υστέρησης υπολογισμένος σε επίπεδα συγκέντρωσης 2 και 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

16.3.3. Metalaxyl-M

Η σχετικά μικρή ικανότητα συγκράτησης του metalaxyl-M στα κολλοειδή του εδάφους επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα της δοκιμής αυτής (**πίνακας 16.3, διάγραμμα 16.5**). Συγκεκριμένα η τιμή K_f 3,85 mL·g⁻¹ στο έδαφος βρίσκεται κοντά σε αναφερθείσες τιμές άλλων πηγών (European Commission, 2002). Η εξομάλυνση της τιμής K_f ως προς τον περιεχόμενο οργανικό άνθρακα οδηγεί σε τιμή K_{oc} 213 mL·g⁻¹. Η μελέτη της συμπεριφοράς προσρόφησης του metalaxyl-M σε προηγούμενες έρευνες έδωσε ένα εύρος τιμών K_{oc} μεταξύ 20-1299 mL·g⁻¹ μεταξύ εδαφών με διαφορετικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (Footprint, 2010).

Γενικά οι τιμές K_{oc} στα υποστρώματα της μελέτης κυμαίνονταν από 46 έως 213 mL·g⁻¹. Το μεγάλο αυτό εύρος τιμών K_{oc} οφείλεται στη μικρή συνάφεια του μορίου με τα συστατικά της οργανικής ουσίας και με την υψηλή τιμή υδατοδιαλυτότητας της. Αντίστοιχα μεγάλο εύρος τιμών στις τιμές K_{oc} για το metalaxyl-M (6-23 φορές) έχουν υπολογιστεί πρόσφατα από άλλη ερευνητική ομάδα σε 6 διαφορετικά οργανικά υποστρώματα (De Wilde et al., 2009). Για παράδειγμα το υπόστρωμα BX1 με πενταπλάσια περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα σε σχέση με το έδαφος παρουσιάζει τιμή K_f 4,81 mL·g⁻¹, που είναι ελαφρώς υψηλότερη από την τιμή 3,84 mL·g⁻¹ που υπολογίστηκε στο έδαφος. Ακόμη τα βιομίγματα BX1 και BX2 με την ίδια περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα εμφανίζουν μεγάλη απόκλιση στις τιμές των παραμέτρων προσρόφησης και εκρόφησης (**πίνακας 16.3**). Τέτοιες διαφοροποιήσεις υποδηλώνουν ότι συγκεκριμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά της οργανικής ουσίας επηρεάζουν το τελικό αποτέλεσμα πιο έντονα από ότι η ποσοτική αναλογία της οργανικής ύλης στο ενεργό βιομίγμα Σε ορισμένες περιπτώσεις οι ισόθερμες καμπύλες έδωσαν τιμές συντελεστή $1/n$ αρκετά μικρότερες της μονάδας ιδιαίτερα στο υπόστρωμα BX3 όπου η τιμή 0,76 ήταν η μικρότερη μεταξύ όλων των τιμών της παραμέτρου αυτής (**διάγραμμα 16.5**).

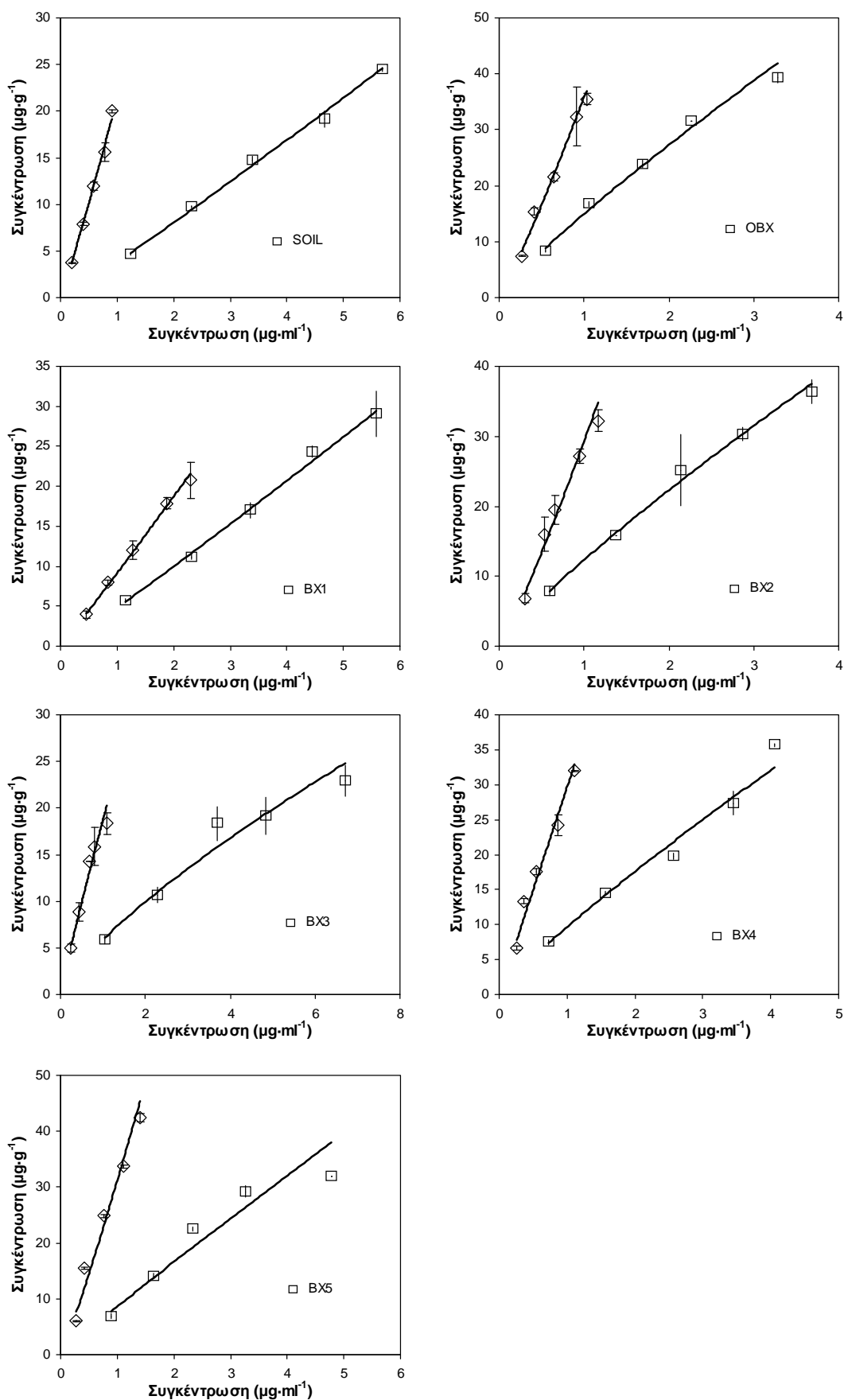
Πίνακας 16.3. Παράμετροι προσρόφησης και εκρόφησης του metalaxyl-M σε έδαφος (S1), τυπικό Σουηδικό βιομίγμα (OBX1) και σε 5 οργανικά υποστρώματα με βάση την κομπόστα (BX1-BX5)

| | Προσρόφηση | | | | Εκρόφηση | | | | | |
|-------------|------------|-------|-------|----------|-----------|------------|-------------|-------|----------|-----------|
| | K_f | $1/n$ | r^2 | K_{oc} | $A(\%)^1$ | K_{fdes} | $1/n_{des}$ | r^2 | HI_2^2 | HI_{10} |
| S1 | 3,84 | 1,07 | 0,99 | 213 | 18,8 | 21,28 | 1,07 | 0,98 | 0,60 | 0,90 |
| OBX1 | 14,96 | 0,87 | 0,96 | 127 | 9,5 | 35,77 | 1,11 | 0,93 | 1,04 | 1,98 |
| BX1 | 4,81 | 1,05 | 0,99 | 46 | 29,1 | 9,13 | 1,03 | 0,98 | 0,89 | 0,82 |
| BX2 | 12,35 | 0,85 | 0,94 | 118 | 9,3 | 29,27 | 1,13 | 0,95 | 0,94 | 2,30 |
| BX3 | 5,88 | 0,76 | 0,94 | 91 | 13,3 | 18,71 | 0,92 | 0,95 | 2,10 | 3,20 |
| BX4 | 9,64 | 0,87 | 0,98 | 112 | 10,8 | 29,62 | 0,99 | 0,93 | 1,91 | 2,60 |
| BX5 | 8,60 | 0,95 | 0,94 | 73 | 10,5 | 31,17 | 1,11 | 0,89 | 2,61 | 2,82 |

¹ Ποσοστό της προσροφημένης ουσίας που επιστρέφει στο υδατικό διάλυμα (επίπεδο συγκέντρωσης 6 μg·mL⁻¹)

² Δείκτης υστέρησης υπολογισμένος σε επίπεδα συγκέντρωσης 2 και 10 μg·mL⁻¹

Η ποσοστιαία εκρόφηση του metalaxyl-M στο έδαφος είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή που υπολογίστηκε στα οργανικά υποστρώματα με εξαίρεση το βιομίγμα BX1. Το φαινόμενο της υστέρησης παρουσιάστηκε σε όλα τα υποστρώματα και κυρίως στα BX3 και BX5, που οι τιμές του συντελεστή υστέρησης ήταν μεγαλύτερες του 2 και στα δύο επίπεδα συγκέντρωσης.



Διάγραμμα 16.5. Ισόθερμες προσρόφησης (□) και εκρόφησης (◇) του metalaxyl-M στο έδαφος και σε οργανικά υποστρώματα (βιομίγματα) με βάση την κομπόστα (BX1 – BX5) και σε τυπικό βιομίγμα με βάση την τύρφη (OBX1)

16.3.4. Metribuzin

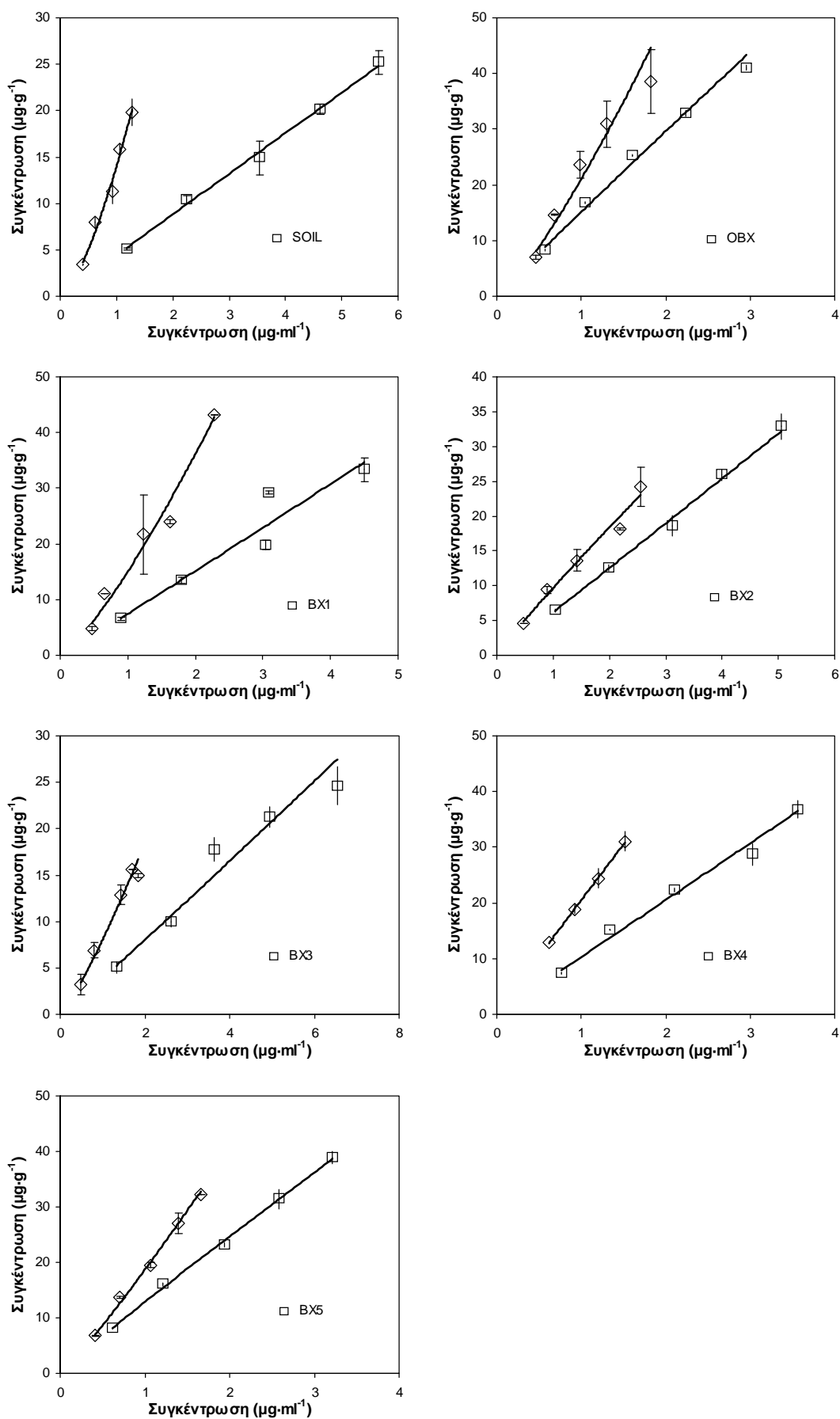
Η συμπεριφορά προσρόφησης του metribuzin στο έδαφος εμφανίζει παρόμοια χαρακτηριστικά με το έτερο τριαζινικό ζιζανιοκτόνο terbuthylazine. Η ισόθερμη προσρόφησης είναι τύπου C ($1/n= 0,99$) ενώ ο συντελεστής προσρόφησης K_f $4,42 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ βρίσκεται κοντά στην αντίστοιχη τιμή για το terbuthylazine. Η μικρότερη τιμή συντελεστή K_f μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν εμφανίζεται στο έδαφος αλλά στο βιομίγμα που περιέχει κομπόστα εμπορίου (BX3), παρά τη πολλαπλάσια περιεκτικότητα του δεύτερου σε οργανικό άνθρακα (7,3 έναντι 1,5 του εδάφους). Η μικρή συνεισφορά του περιεχόμενου οργανικού άνθρακα στα αποτελέσματα της δοκιμής αντικατοπτρίζεται στις τιμές K_{oc} . Στο έδαφος η τιμή αυτή είναι υψηλότερη σε σχέση με τα υπόλοιπα υποστρώματα, ενώ τη χαμηλότερη τιμή K_{oc} εμφανίζουν οι μεταχειρίσεις BX1, BX2 και BX3 (πίνακας 16.4). Σε προηγούμενη εργασία η προσθήκη κομπόστας στο έδαφος οδήγησε σε μεγάλη παραλλακτικότητα στις εκτιμώμενες τιμές K_{oc} για το metribuzin (Majumdar and Singh, 2007). Στην έρευνα μας ο συντελεστής $1/n$ βρίσκεται πολύ κοντά στη μονάδα σε όλα τα υποστρώματα, που δηλώνει ότι η συγκράτηση της ουσίας στα συστατικά των υποστρωμάτων δεν διαφοροποιείται σημαντικά με την τιμή της συγκέντρωσης εφαρμογής. Επίσης, όπως και στην περίπτωση του metolaxyl-M, καμία συσχέτιση μεταξύ τιμών K_f και οργανικής ουσίας δεν παρατηρήθηκε. Ικανοποιητική συνάφεια μεταξύ metribuzin και οργανικής ύλης, άρα αυξημένες τιμές K_f παρατηρήθηκαν στο υπόστρωμα τύρφης και δευτερευόντως στα υποστρώματα κομπόστας προερχόμενης από υπολείμματα καλλιέργειας βάμβακος (BX4 και BX5). Η σημαντική παραλλακτικότητα στις τιμές K_{oc} μεταξύ των μεταχειρίσεων είναι ενδεικτικές αλληλεπιδράσεων μεταξύ βιομίγματος και φ.ο.. Το τελικό αποτέλεσμα αυτών των αλληλεπιδράσεων έχει αναφερθεί ότι εξαρτάται από τα διαφορετικά χαρακτηριστικά (σχετική αναλογία σε χημικές ουσίες, αρωματικός χαρακτήρας, βαθμός χουμποποίησης της οργανικής ουσίας, αναλογία διαλυτού οργανικού άνθρακα-DOC, τιμή pH) των συστατικών του υποστρώματος (Iglesias-Jimenez et al., 1997). Στη δοκιμή αυτή όμως καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ DOC και K_f τιμών δεν ήταν εμφανής. Άλλος παράγοντας επηρεασμού της συμπεριφοράς προσρόφησης θεωρείται η τιμή του pH, καθώς το metribuzin εμφανίζει συχνά τιμές K_d ευαίσθητες σε μεταβολές του pH (Ladlie et al., 1976). Στο πείραμα μας δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ pH και συμπεριφοράς προσρόφησης στο εύρος των μετρούμενων τιμών pH (5,03-7,88). Επομένως στην περίπτωση των υποστρωμάτων και των συνθηκών της μελέτης μας, η επίδραση του pH του υποστρώματος στην προσρόφηση είναι αμελητέα ή η όποια συνεισφορά του pH επισκιάζεται από την συνεισφορά άλλων παραμέτρων.

Πίνακας 16.4. Παράμετροι προσρόφησης και εκρόφησης του ζιζανιοκτόνου metribuzin σε έδαφος (S1), τυπικό Σουηδικό βιομίγμα (OBX1) και σε 5 οργανικά υποστρώματα με βάση την κομπόστα (BX1-BX5)

| | Προσρόφηση | | | | Εκρόφηση | | | | | |
|-------------|------------|-------|-------|----------|-----------|------------|--------------|-------|----------|-----------|
| | K_f | $1/n$ | r^2 | K_{oc} | $A(\%)^1$ | K_{ides} | $1/n_{ides}$ | r^2 | HI_2^2 | HI_{10} |
| S1 | 4,42 | 0,99 | 0,97 | 250 | 24,5 | 14,01 | 1,48 | 0,96 | 2,37 | 5,96 |
| OBX1 | 15,14 | 0,97 | 0,99 | 126 | 11,4 | 21,05 | 1,25 | 0,90 | 0,26 | 0,75 |
| BX1 | 7,45 | 1,02 | 0,95 | 71 | 17,7 | 15,01 | 1,26 | 0,93 | 0,90 | 1,88 |
| BX2 | 6,18 | 1,02 | 0,96 | 59 | 26,62 | 9,67 | 0,92 | 0,96 | 0,46 | 0,46 |
| BX3 | 3,91 | 1,04 | 0,92 | 62 | 27,4 | 8,02 | 1,20 | 0,91 | 1,10 | 1,74 |
| BX4 | 10,28 | 0,99 | 0,95 | 123 | 15,78 | 20,50 | 0,98 | 0,99 | 0,92 | 0,97 |
| BX5 | 12,85 | 0,94 | 0,99 | 111 | 13,37 | 18,68 | 1,11 | 0,98 | 0,33 | 0,79 |

¹ Ποσοστό της προσροφημένης ουσίας που επιστρέφει στο υδατικό διάλυμα (επίπεδο συγκέντρωσης $6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

² Δείκτης υστέρησης υπολογισμένος σε επίπεδα συγκέντρωσης 2 και $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$



Διάγραμμα 16.6. Ισόθερμες προσρόφησης (\square) και εκρόφησης (\diamond) του metribuzin στο έδαφος και σε οργανικά υποστρώματα (βιομίγματα) με βάση την κομπόστα (BX1 – BX5) και σε τυπικό βιομίγμα με βάση την τύρφη (OBX1)

Στα χαρακτηριστικά σημεία της συμπεριφοράς εκρόφησης του metribuzin είναι η υψηλή τιμή συντελεστή $1/n_{des}$ στο έδαφος σε σχέση με τις τιμές στα βιομίγματα. Γενικά παρατηρήθηκε απόκλιση των ισόθερμων εκρόφησης από τη γραμμική σχέση με τις τιμές $1/n_{des}$ να είναι γενικά υψηλότερες της μονάδας σε αντίθεση με τα αποτελέσματα προσρόφησης που οι αντίστοιχες τιμές της παραμέτρου ήταν πολύ κοντά στη μονάδα (**διάγραμμα 16.6**). Το ποσοστό εκρόφησης της ουσίας στο υδατικό διάλυμα εμφανίζει μέγιστες τιμές στα υποστρώματα BX2 και BX3, ακολουθούμενα από το έδαφος. Αντιθέτως στο βιομίγμα με βάση την τύρφη (OBX1) η ποσοστιαία εκρόφηση είναι μικρότερη σε σχέση με τα υπόλοιπα υποστρώματα. Στο έδαφος οι τιμές υστέρησης (2,37-5,96) είναι υπερδιπλάσιες σε σχέση με όλα τα οργανικά υποστρώματα (**πίνακας 16.4**).

16.3.5. Σύγκριση μεταξύ υποστρωμάτων

Οι διεργασίες της προσρόφησης και της εκρόφησης επηρεαστήκαν σημαντικά από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των ουσιών και τη σύσταση του υποστρώματος που χρησιμοποιήθηκε. Η τιμή της παραμέτρου K_f στα βιομίγματα και στο έδαφος ακολούθησε τη σειρά $indoxacarb > terbutylazine > metalaxyl-M = metribuzin$ που βρίσκεται σε συμφωνία με προηγούμενα δημοσιευμένα στοιχεία (Fernandes et al., 2003; Cambell et al., 2005; Dolapsoglou et al., 2007; Majumdar and Singh, 2007). Όλα τα βιομίγματα ήταν ικανά να προσροφήσουν ισχυρά τις φ.ο. της δοκιμής σε σχέση με το έδαφος αν και μεγάλες διαφοροποιήσεις ανά περίπτωση ήταν εμφανείς. Η πιο αξιοσημείωτη επίπτωση της προσθήκης εξωγενούς οργανικής ύλης με τη μορφή άχυρου και κομπόστας στους συντελεστές προσρόφησης παρατηρήθηκε για το terbutylazine (7,2 φορές υψηλότερη τιμή K_f κατά μέσο όρο) ακολουθούμενη από το indoxacarb (μέση τιμή 6,2), το metalaxyl-M (2,5) και το metribuzin (2,1). Η τιμή K_f μειώθηκε με τη σειρά $OBX > BX > S$ για κάθε ουσία που συμπεριλήφθηκε, εύρημα που υποστηρίζεται από προηγούμενες μελέτες όπου οι φ.ο. προσροφήθηκαν στην τύρφη πιο ισχυρά από ότι στην κομπόστα (De Wilde et al., 2009; Iglesias-Jimenez et al., 1997). Η υψηλότερη ικανότητα προσρόφησης στα βιομίγματα με βάση την τύρφη δεν μπορεί να εξηγηθεί αποκλειστικά με βάση την υψηλότερη περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα. Για παράδειγμα το BX5 (βιομίγμα με βάση κομπόστα βαμβακόπιπας) έχοντας την ίδια περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα όπως το τυπικό Σουηδικό βιομίγμα (OBX1) εμφάνισε σημαντικά χαμηλότερη ικανότητα προσρόφησης για κάθε ουσία που δοκιμάστηκε. Αυτό υποδηλώνει ότι ο οργανικός άνθρακας στο OBX βιομίγμα είναι πιο αποτελεσματικός στη προσρόφηση των πλέον ευδιάλυτων ουσιών της δοκιμής (metalaxyl-M και metribuzin) συγκριτικά με τον οργανικό άνθρακα των BX βιομιγμάτων.

Ακόμη τα βιομίγματα με βάση την κομπόστα (BX βιομίγματα) εμφάνισαν μεγάλη διαφοροποίηση στην αποτελεσματικότητα προσρόφησης. Η υψηλότερη ικανότητα προσρόφησης παρατηρήθηκε στο βιομίγμα BX2 ενώ τα υπόλοιπα τέσσερα βιομίγματα κομπόστας εμφάνισαν σημαντικές διαφορές ανά περίπτωση. Για παράδειγμα το BX1 βιομίγμα αύξησε σημαντικά την προσρόφηση του terbutylazine (7,6 φορές) σε σχέση με το έδαφος αλλά είχε τη χαμηλότερη επίδραση στην προσρόφηση του metalaxyl-M (1,25 φορές). Το υπόστρωμα BX3, που εμφανίζει την μικρότερη τιμή οργανικού άνθρακα μεταξύ των βιομιγμάτων, δεν κατάφερε να προσροφήσει ικανοποιητικά τις τρεις φ.ο. της δοκιμής και ειδικότερα τα τριαζινικά ζιζανιοκτόνα terbutylazine και metribuzin.

Οι ισόθερμες εκρόφησης (*single-point desorption isotherms*) εμφάνισαν μια τάση υψηλότερης τιμής συντελεστή $1/n$ σε σχέση με τις αντίστοιχες ισόθερμες προσρόφησης. Η μέση τιμή του εκθέτη $1/n$ στην

προσρόφηση ήταν 0,95, ενώ στην εκρόφηση ήταν μεγαλύτερη της μονάδας (1,08). Οι υψηλότερες τιμές συντελεστή εκρόφησης (K_{fdes}) παρατηρήθηκαν για το βιομίγμα τύρφης ακολουθούμενο από το βιομίγμα ΒΧ5. Σημαντική συσχέτιση μεταξύ K_f και K_{fdes} ήταν εμφανής για όλες τις ουσίες της δοκιμής που σημαίνει ότι οι μεταχειρίσεις με εκτεταμένη προσροφητική ικανότητα (υψηλές τιμές K_f) εμφανίζουν και υψηλότερη προσροφητική δύναμη (*sorption strength*) καθώς λιγότερες ποσότητες των ήδη προσροφημένων ουσιών επιστρέφουν στην υδατική φάση. Η υστέρηση εκτιμήθηκε με τη χρήση του δείκτη υστέρησης (εξίσωση 6.8), όπως προτάθηκε από Huang et al., (1998). Φαινόμενα υστέρησης ήταν εμφανή σε σχεδόν όλα τα συστήματα βιομίγματος-φ.ο. με τις υπολογισθείσες τιμές να κυμαίνονται από 0,19 έως 5,96 υποδηλώνοντας την μικρή αντιστρεψιμότητα της διεργασίας της προσρόφησης. Εμφανίστηκε επίσης η τάση για αύξηση της τιμής του δείκτη υστέρησης στα υψηλότερα επίπεδα συγκεντρώσεων.

Σε σημαντικό αριθμό εργασιών έχει αναφερθεί η αρνητική επίδραση της προσρόφησης στις παραμέτρους αποδόμησης, που οφείλεται στη μειωμένη διαθεσιμότητα των ουσιών στους μικροβιακούς αποδομητές με αύξηση της προσρόφησης (Scow et al., 1995; Gamerdinger et al., 1997; Guo et al., 2000). Εντούτοις στα αποτελέσματα των δοκιμών τα βιομίγματα που εμφάνισαν υψηλούς ρυθμούς αποδόμησης είχαν ταυτόχρονα και υψηλές τιμές K_f . Για παράδειγμα το βιομίγμα με βάση την κομπόστα από ελαιόφυλλα (ΒΧ2), με τους υψηλότερους υπολογισθέντες ρυθμούς αποδόμησης μεταξύ των υποστρωμάτων, μπορούσε να προσροφήσει ισχυρά τις ουσίες terbutylazine, metalaxyl-M και indoxacarb. Η εξήγηση για τη συμπεριφορά αυτή είναι ότι η είσοδος εξωγενούς προέλευσης οργανικού άνθρακα είχε θετική επίδραση ταυτόχρονα και στην προσροφητική και στην αποδομητική ικανότητα (Beulke et al., 2005)

16.4. Αλλαγή της συμπεριφοράς προσρόφηση παρουσία περισσοτέρων του ενός φ.π.

Η συμπεριφορά προσρόφησης μιας φ.ο. στο έδαφος μπορεί να επηρεαστεί από την ταυτόχρονη ύπαρξη μιας ή περισσοτέρων φ.ο. στο ίδιο σύστημα (*competitive sorption*). Οι ουσίες ανταγωνίζονται για τις ίδιες θέσεις προσρόφησης με συνέπεια η ταυτόχρονη παρουσία πολλών ουσιών να οδηγεί σε μείωση του συντελεστή προσρόφησης κάθε μιας από τις ουσίες που συνυπάρχουν στο σύστημα. Μια τέτοια μείωση του συντελεστή προσρόφησης μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας του μορίου, αλλά και σε αύξηση του κινδύνου έκπλυσης του σε βαθύτερα εδαφικά στρώματα (De Wilde et al., 2009). Στο **διάγραμμα 16.7** αποτυπώνονται τα αποτελέσματα των δοκιμών προσρόφησης και εκρόφησης που προέκυψαν τόσο από την εφαρμογή καθενός από τις ουσίες ξεχωριστά όσο και με την εφαρμογή τους ως μίγμα. Η εξίσωση Freundlich εμφάνισε σχετική ικανότητα περιγραφής της πορείας κατανομής των τριών ουσιών metribuzin, metalaxyl-M και terbutylazine στις δύο φάσεις αφού ο συντελεστής παραλλακτικότητας σε κάθε περίπτωση ήταν μεγαλύτερος από 0,96 (**πίνακας 16.5**). Από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι στις συνθήκες της δοκιμής η συνύπαρξη των 3 ουσιών στο ίδιο υπόστρωμα δεν επηρεάζει σημαντικά την προσρόφηση.

Πίνακας 16.5. Οι συντελεστές Freundlich (K_f) και συντελεστής $1/n$ υπολογισμένοι στο ίδιο βιομίγμα (βιομίγμα από κομπόστα ελαιόφυλλων, ΒΧ2), για τις ουσίες terbutylazine, metalaxyl-M, metribuzin όταν εφαρμόζονται μεμονωμένα ως πρότυπη ουσία, ως μίγμα των τριών ουσιών (mix) και ως σκευάσμα (Axion Puro, Ridomil, Sencor αντίστοιχα)

| | r^2 | Συντελεστής προσρόφησης (K_f) | | | | Συντελεστής $1/n$ | | | |
|--------------------------|-------|-----------------------------------|--------------|-------|------|-------------------|------|--------------|------|
| | | K_f | Όρια | | sig. | $1/n$ | Όρια | | sig. |
| | | | εμπιστοσύνης | min | | | max | εμπιστοσύνης | |
| Terbutylazine mix | 0,963 | 39,37 ± 3,33 | 32,83 | 45,91 | a | 0,98 ± 0,11 | 0,76 | 1,19 | a |
| Terbutylazine | 0,994 | 37,63 ± 1,22 | 35,22 | 40,03 | a | 1,19 ± 0,05 | 1,09 | 1,29 | a |
| Axion Puro | 0,992 | 36,25 ± 1,36 | 33,58 | 38,92 | a | 1,45 ± 0,07 | 1,31 | 1,59 | b |
| Metalaxyl-M mix | 0,966 | 12,62 ± 0,99 | 10,67 | 14,57 | a | 0,86 ± 0,09 | 0,68 | 1,05 | ab |
| Metalaxyl-M | 0,996 | 12,34 ± 0,32 | 11,72 | 12,97 | a | 0,85 ± 0,03 | 0,79 | 0,91 | a |
| Ridomil | 0,999 | 12,31 ± 0,18 | 11,94 | 12,68 | a | 1,01 ± 0,02 | 0,97 | 1,05 | b |
| Metribuzin mix | 0,988 | 5,17 ± 0,36 | 4,45 | 5,88 | a | 0,78 ± 0,05 | 0,68 | 0,87 | a |
| Metribuzin | 0,997 | 6,18 ± 0,22 | 5,75 | 6,61 | a | 1,01 ± 0,03 | 0,95 | 1,08 | b |
| Sencor | 0,984 | 6,64 ± 0,55 | 5,56 | 7,73 | a | 1,08 ± 0,08 | 0,93 | 1,28 | b |

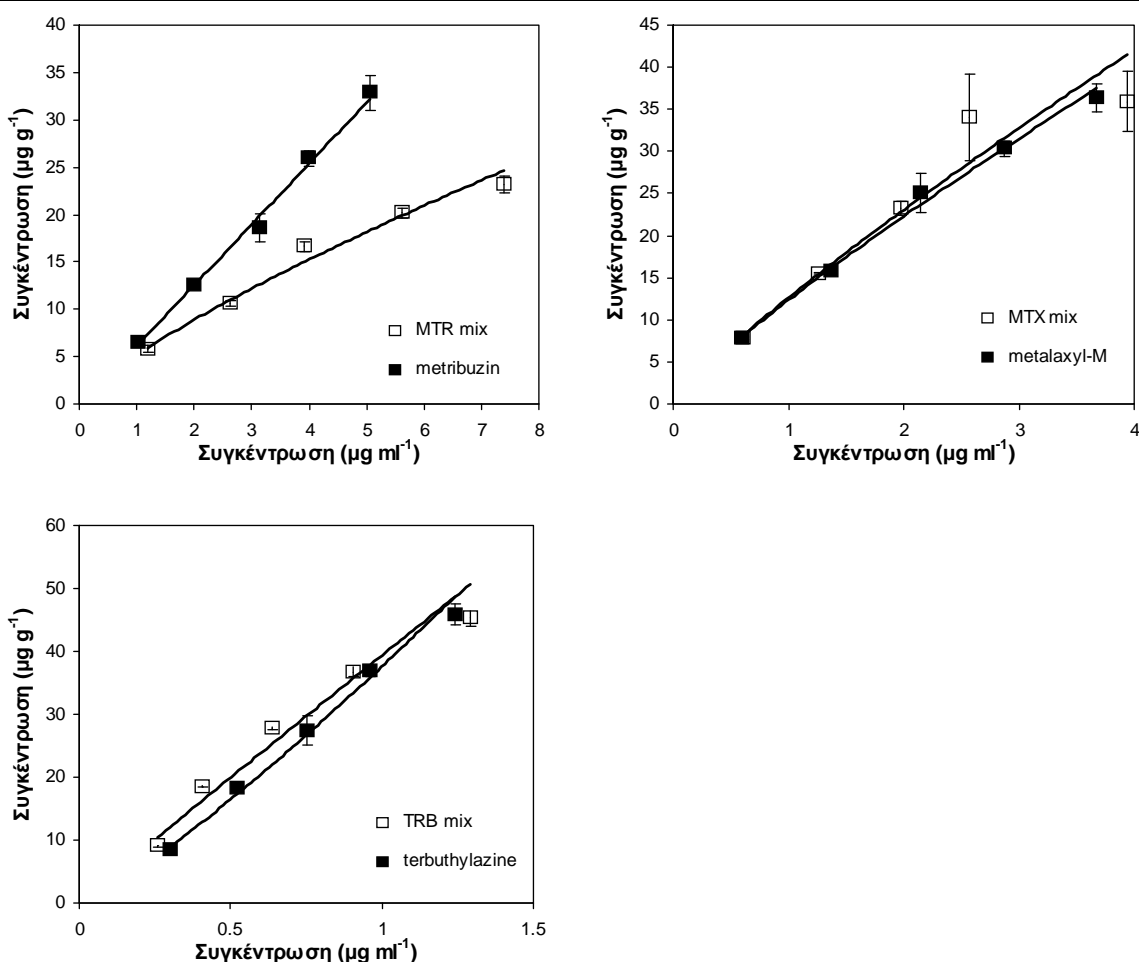
Η ουσία που εμφάνισε την μεγαλύτερη διαφοροποίηση στις παραμέτρους προσρόφησης ήταν το metribuzin όπου η ταυτόχρονη εφαρμογή του με τις ουσίες metalaxyl-M και terbutylazine οδήγησε σε μείωση της τιμής K_f από 6,18 σε 5,17. Στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση παρουσιάζεται επίσης στο συντελεστή $1/n$ της ίδιας ουσίας. Η τυπικά L μορφής ισόθερμη που εμφανίζεται όταν η ουσία εφαρμόζεται μεμονωμένα ($1/n = 0,78$) μεταπίπτει σε γραμμική (C τύπου) με τιμή $1/n$ ίση με 1,02.

Η τιμή του συντελεστή προσρόφησης του terbutylazine δεν διαφοροποιείται όταν η ουσία εφαρμόζεται μεμονωμένα ή ως συστατικό μίγματος ουσιών. Καμία επίσης διαφοροποίηση δεν παρατηρήθηκε για το συντελεστή $1/n$ της ισόθερμης καμπύλης. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και για την ουσία metalaxyl-M (πίνακας 16.5).

Προηγούμενη μελέτη της συμπεριφοράς προσρόφησης τεσσάρων φ.ο. σε σύστημα βιοκλίνης έδειξε ότι ο συντελεστής προσρόφησης του metalaxyl ήταν μικρότερος όταν η μέτρηση πραγματοποιήθηκε σε υπόστρωμα που περιείχε isoproturon, linuron και bentazone σε σχέση με το συντελεστή προσρόφησης που υπολογίστηκε για το ίδιο υπόστρωμα απουσία των υπολοίπων ουσιών. Η συμπεριφορά αυτή του metalaxyl αποδόθηκε στη μικρή τιμή συντελεστή προσρόφησης που εμφανίζει (De Wilde et al., 2009).

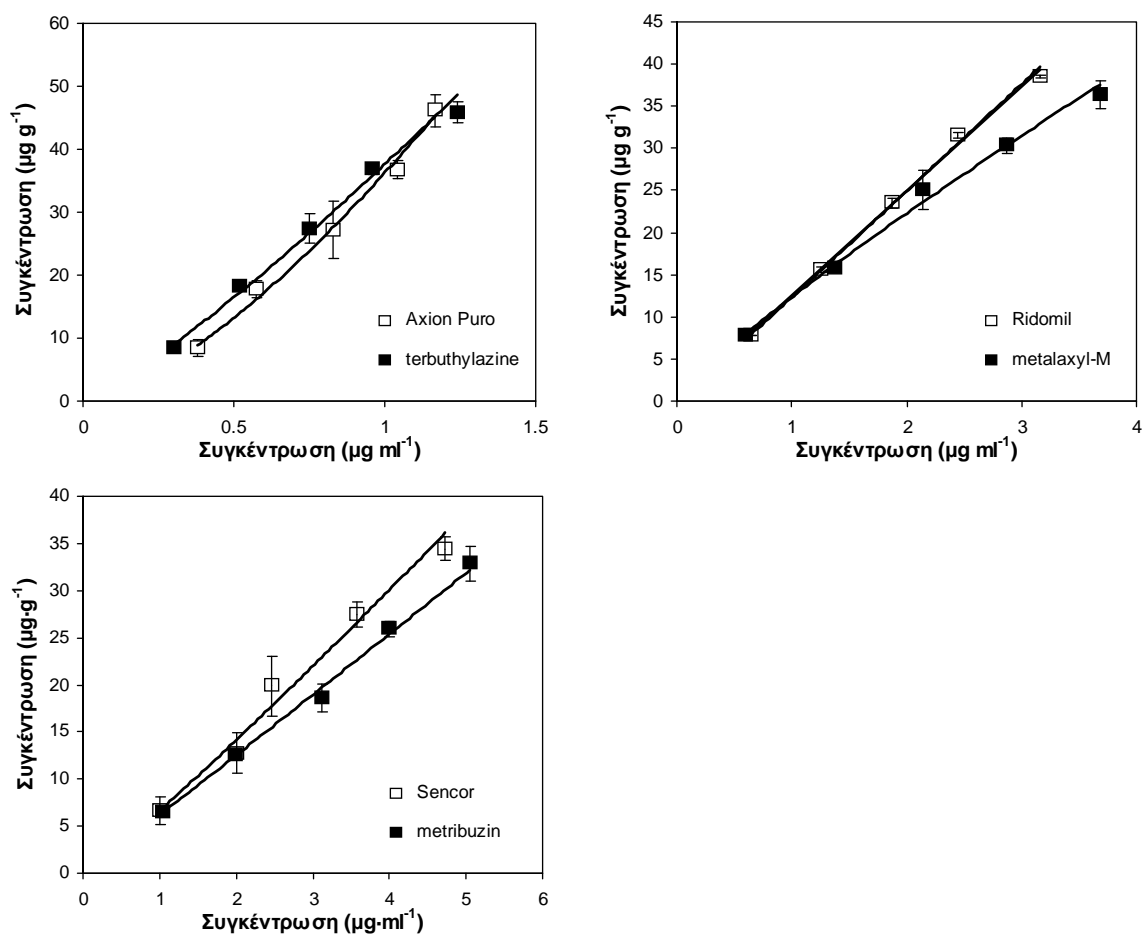
16.5. Επίδραση της τυποποίησης των φ.π. στη συμπεριφορά προσρόφησης

Τα τυποποιημένα σκευάσματα φ.π. περιέχουν πέραν της δραστικής ουσίας και βοηθητικές ουσίες όπως επιφανειοδραστικές ουσίες, πολυμερή, έλαια και διαλύτες που μπορούν να επηρεάσουν τη συμπεριφορά προσρόφησης των φ.ο.



Διάγραμμα 16.7. Ισόθερμες καμπύλες προσρόφησης των ουσιών terbuthylazine, metribuzin και metalaxyl-M σε βιομίγμα με βάση τη κομπόστα ελαιόφυλλων (BX2) όταν οι ουσίες εφαρμόστηκαν μεμονωμένα (■) ή ως συστατικό μίγματος (□) και των τριών ουσιών. Για την γραφική αποτίμηση των αποτελεσμάτων και τον προσδιορισμό των συντελεστών προσρόφησης χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση Freundlich

Για να διαπιστωθεί η συνεισφορά των συστατικών αυτών στην προσρόφηση των υπό εξέταση ουσιών η δοκιμή προσρόφησης επαναλήφθηκε με τη χρησιμοποίηση σκευάσματος αντί καθαρής δραστικής ουσίας λαμβάνοντας υπόψη την περιεκτικότητα κάθε σκευάσματος στο δραστικό συστατικό. Τα αποτελέσματα της δοκιμής εμφανίζονται στο **διάγραμμα 16.8**, όπου γίνεται σύγκριση των ισόθερμων προσρόφησης που προκύπτουν σε κάθε περίπτωση. Η αξιολόγηση της επίδρασης του σκευάσματος πραγματοποιήθηκε με σύγκριση των συντελεστών K_f καθώς και των συντελεστών $1/n$ ($p < 0,01$). Το terbuthylazine όταν εφαρμοστεί στο ίδιο υπόστρωμα ως σκεύασμα (Axion Puro) και κάτω από τις ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας εμφανίζει τιμή συντελεστή Freundlich πολύ κοντά στην τιμή που προκύπτει με τη χρήση πρότυπης ουσίας, αλλά ο συντελεστής $1/n$ (*curvature coefficient*) διαφοροποιείται σημαντικά, καθώς αυξάνει από 1,193 σε 1,454. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρήθηκε και για το metalaxyl-M. Αντιθέτως, για το metribuzin δεν εμφανίζεται αντίστοιχη διαφοροποίηση σε κανένα από τους συντελεστές που περιγράφουν στην ισόθερμη καμπύλη. Σε προηγούμενες βιβλιογραφικές αναφορές η προσρόφηση στην περίπτωση χρήσης σκευασμάτων ήταν μικρότερη σε σχέση με τη προσρόφηση όταν χρησιμοποιήθηκε καθαρή δραστική ουσία (Margoum et al., 2006). Αντιθέτως, οι De Wilde et al., (2009) δεν βρήκαν καμιά σημαντική διαφορά στο συντελεστή προσρόφησης των linuron και isoproturon σε δοκιμή με τη χρήση καθαρής δραστικής ουσίας και τυποποιημένων εμπορικών σκευασμάτων.



Διάγραμμα 16.8. Ισόθερμες καμπύλες προσρόφησης των ουσιών terbutylazine, metribuzin και metalaxyl-M σε βιομίγμα με βάση τη κομπόστα από ελαιόφυλλα (BX2) όταν οι ουσίες εφαρμόστηκαν με τη μορφή πρότυπων ουσιών (■) ή ως εμπορικό σκεύασμα (□). Για την γραφική αποτίμηση των αποτελεσμάτων και τον προσδιορισμό των συντελεστών προσρόφησης χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση Freundlich

Αποδόμηση και προσρόφηση φυτοπροστατευτικών ουσιών σε βιομίγματα με βάση λιγνινοκυτταρινούχα υλικά

17.1. Εισαγωγή

Παρά την αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα των βιομιγμάτων με βάση το άχυρο σε πολλές περιπτώσεις έχει δοκιμαστεί η αξιοποίηση εναλλακτικών λιγνινοκυτταρινούχων υλικών, παραπροϊόντων της γεωργίας, ως υποκατάστατων του άχυρου σε βιομίγματα. Στην παρούσα δοκιμή επιλέχθηκαν λιγνινοκυτταρινούχα υλικά που χαρακτηρίζονται από χαμηλό ή μηδενικό κόστος και από υψηλή διαθεσιμότητα στη τοπική γεωργία και αγροβιομηχανία. Στα υλικά αυτά συμπεριλαμβάνονται σπάρδικες αραβόσιτου (CC), υπολείμματα καλιέργειας ηλίανθου (SFR), βόστρυχοι σταφυλιού (GS) και φύλλα ελιάς (OL). Για το σχηματισμό των βιομιγμάτων της δοκιμής χρησιμοποιήθηκε η τυπική ογκομετρική αναλογία των συστατικών στα σουηδικά βιομίγματα τύρφης, με αντικατάσταση όμως της τύρφης από κομπόστα. Η κομπόστα που επιλέχθηκε για ενσωμάτωση στα βιομίγματα ήταν προϊόν κομποστοποίησης ελαιόφυλλων (C2). Η επιλογή της συγκεκριμένης κομπόστας βασίστηκε στα μικροβιακά και ενζυμικά χαρακτηριστικά της, στην υψηλή αποδομητική ικανότητα της για πολλές από τις ουσίες της δοκιμής (**παράγραφος 15.3.2**) και την υψηλή ικανότητα της για προσρόφηση (**παράγραφος 16.3.5**). Η δυνατότητα αξιοποίησης καθενός από τα λιγνινοκυτταρινούχα αυτά υλικά σε βιομίγματα, ως υποκατάστατων του άχυρου, ελέγχθηκε μέσα από δοκιμές αποδόμησης και προσρόφησης. Για τις δοκιμές αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε ένα μίγμα 9 φ.ο. (terbuthylazine, dimethoate, metalaxyl-M, metribuzin, buprofezin, iprodione, indoxacarb, azoxystrobin και chlorpyrifos) που εφαρμόστηκε στα σχηματισθέντα βιομίγματα στην STD δόση εφαρμογής, ενώ για τις δοκιμές προσρόφησης επιλέχθηκαν οι ουσίες terbuthylazine, metalaxyl-M και metribuzin.

Βασικοί στόχοι της δοκιμής για υποκατάσταση του άχυρου από άλλα λιγνινοκυτταρινούχα υλικά ήταν:

- να διαπιστωθεί κατά πόσο η χρήση τυπικών λιγνινοκυτταρινούχων υλικών - παραπροϊόντων της εγχώριας αγροτικής βιομηχανίας μπορεί να επάγει συνθήκες βελτιωμένης αποδομητικής ικανότητας σε σχέση με το βιομίγμα άχυρου

- να εκτιμηθεί η πιθανή επίδραση βιολογικών και ενζυμικών παραμέτρων στην αποδομητική συμπεριφορά κάθε βιομίγματος
- να υπολογιστεί η προσροφητική ικανότητα των βιομιγμάτων αυτών με σύγκριση των συντελεστών προσρόφησης τους με αυτούς του τυπικού σουηδικού βιομίγματος

17.2. Αποδόμηση φ.ο. στα βιομίγματα

Η αποδόμηση των περισσότερων ουσιών στα βιομίγματα της δοκιμής ακολούθησε κινητική πρώτης τάξης. Όμως το κινητικό αυτό μοντέλο απέτυχε να περιγράψει ικανοποιητικά την αποδόμηση των metalaxyl-M, iprodione και indoxacarb, η πορεία αποδόμησης των οποίων ήταν καθαρά διφασική. Στις περιπτώσεις αυτές επιλέχθηκε το μοντέλο hockey stick που εμφάνισε καλύτερη προσαρμογή στα δεδομένα. Γενικά η αποδόμηση των φ.ο. στο έδαφος (S2) και οι υπολογισθείσες τιμές $t_{1/2}$ ήταν στο εύρος των τυπικών τιμών που εμφανίζεται στη βιβλιογραφία. Σε σύγκριση με το έδαφος της προηγούμενης δοκιμής (S1) οι παρατηρούμενοι ρυθμοί αποδόμησης στο S2 έδαφος ήταν διαφοροποιημένοι. Για τις ουσίες terbutylazine, metalaxyl-M και metribuzin οι χρόνοι $t_{1/2}$ στο S2 έδαφος ήταν τουλάχιστο διπλάσιοι των εκτιμώμενων στο S1. Όμως το έδαφος S2 εμφάνισε ιδιαίτερα έντονη ικανότητα αποδόμησης του chlorpyrifos και του iprodione. Ο χρόνος $t_{1/2}$ για την τελευταία ουσία στο S2 υπόστρωμα ήταν μικρότερος της εβδομάδας σε αντίθεση με το έδαφος S1 που η αντίστοιχη τιμή ήταν σχεδόν 20 φορές υψηλότερη. Η ταχεία αποδόμηση των δύο αυτών ουσιών στο έδαφος S2 μπορεί να αποδοθεί στην αλκαλικότητα του εδαφικού pH που ευνοεί την αβιοτική υδρόλυση των ουσιών αυτών (Racke et al., 1996; Singh et al, 2003; Walker, 1987). Στην περίπτωση του iprodione η ενσωμάτωση εξωγενούς προέλευσης οργανικής ουσίας στο έδαφος δεν διαφοροποιεί σημαντικά την υψηλή ικανότητα διάσπασης του μορίου. Αντιθέτως στο chlorpyrifos τα οργανικά υποστρώματα εμφάνισαν αδυναμία να ακολουθήσουν τους έντονους ρυθμούς αποδόμησης που εμφάνισε το έδαφος και σε ορισμένα βιομίγματα οι χρόνοι ημιζωής ήταν 10-πλάσιοι αυτών του εδάφους. Η αποδόμηση του metalaxyl-M εμφάνισε μια παρατεταμένη αρχική φάση υστέρησης διάρκειας 19,4 και 36,4 ημερών από την εφαρμογή σε όλα τα βιομίγματα. Την αρχική αυτή περίοδο προσαρμογής ακολούθησε μια πορεία έντονης αποδόμησης. Αντίθετα στο έδαφος η περίοδος αυτή σχεδόν μηδενικής αποδόμησης ήταν εμφανής σε όλη τη χρονική περίοδο επώασης (παρακολούθησης). Η αποδόμηση του dimethoate σε όλα τα βιομίγματα ήταν ταχύτατη με αποτέλεσμα ο χρόνος ημιζωής σε κάθε υπόστρωμα να μην ξεπερνά τις 3 ημέρες

17.3. Σύγκριση μεταξύ βιομιγμάτων με βάση διαφορετικά λιγνινοκυτταρινούχα υλικά

Ο εκτιμώμενος χρόνος $t_{1/2}$ των ουσιών στα διάφορα βιομίγματα διαφοροποιούνταν σημαντικά. Σημαντικά υψηλότερες τιμές $t_{1/2}$ υπολογίστηκαν στο βιομίγμα που περιείχε φλούδες εσπεριδοειδών (OPBX) σε σύγκριση με το βιομίγμα άχυρου (STRBX). Ομοίως αργοί ρυθμοί αποδόμησης παρατηρήθηκαν στο βιομίγμα ελαιόφυλλων (OLBX) για ορισμένες από τις ουσίες της δοκιμής όπως chlorpyrifos, indoxacarb και iprodione. Οι υπολογισθείσες τιμές $t_{1/2}$ για τις ουσίες αυτές στα βιομίγματα OPBX, OLBX ήταν 2 έως 18 φορές υψηλότεροι σε σχέση με τις τιμές που υπολογίστηκαν στα υπόλοιπα βιομίγματα (**πίνακας 17.1**). Η αργή πορεία αποδόμησης στα βιομίγματα που περιέχουν φλούδες εσπεριδοειδών οδήγησε σε χρόνους $t_{1/2}$ μεγαλύτερους των 100 ημερών για τις ουσίες terbutylazine, buprofezin και chlorpyrifos. Επίσης και για τις υπόλοιπες ουσίες της δοκιμής

(metalaxyl-M, metribuzin, iprodione, azoxystrobin) οι ρυθμοί αποδόμησης στο υπόστρωμα OPBX είναι μικρότεροι αυτών που εκτιμήθηκαν στο βιομίγμα μάρτυρα (STRBX). Οι μικροί ρυθμοί αποδόμησης που παρατηρήθηκαν στα OPBX και OLBX βιομίγματα μπορεί να αποδοθούν στην υψηλή αναλογία ολικών φαινολικών. Πράγματι η περιεκτικότητα σε φαινολικές ουσίες στις φλούδες εσπεριδοειδών (OP) και στα ελαιόφυλλα (OL) είναι υψηλότερη κατά 6 έως 170 φορές σε σχέση με τα υπόλοιπα λιγνινοκυτταρινούχα υλικά. Μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ ολικών φαινολικών και τιμής $t_{1/2}$ σε αυτά τα βιομίγματα ήταν εμφανής για τις ουσίες chlorpyrifos ($r^2=0,915$, $p<0,01$) και iprodione ($r^2=0,775$, $p<0,05$). Σε προηγούμενη μελέτη οι φαινολικές ουσίες που εκχυλίστηκαν από φύλλα ελιάς εμφάνισαν μεγάλο εύρος αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή δράση (Pereira et al., 2007). Η ανασταλτική δράση των φλούδων εσπεριδοειδών στη μικροβιακή αποδόμηση των ουσιών μπορεί επίσης να αποδοθεί στην υψηλή περιεκτικότητά τους σε φλαβονοειδή και διάφορα παράγωγα των κουμαρινών με αποδεδειγμένα αντιμικροβιακή δράση (Mokbel and Suganuma, 2006; Johann et al., 2007). Η μικρή αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων που περιείχαν φλούδες εσπεριδοειδών σε σχέση με τα τυπικά βιομίγματα άχυρου έχει αναφερθεί στο παρελθόν (Corrola et al., 2007).

Οι ρυθμοί αποδόμησης των ουσιών στα βιομίγματα με βάση σπάδικες αραβόσιτου (CCBX) και υπολείμματα καλλιέργειας ηλίανθου (SFRBX) ήταν συγκρίσιμοι αυτών του τυπικού βιομιγματος με βάση το άχυρο. Τα CCBX και SFRBX έδωσαν παραπλήσιες τιμές χρόνου $t_{1/2}$ σε σχέση με το μάρτυρα στις περιπτώσεις των ουσιών metribuzin, buprofezin, iprodione και indoxacarb και ελαφρώς βελτιωμένες στις περιπτώσεις των terbutylazine, metalaxyl-M και chlorpyrifos (στο CCBX βιομίγμα). Αντιθέτως, στις ουσίες dimethoate και azoxystrobin ο μάρτυρας εμφάνισε ελαφρώς μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα αποδόμησης. Σε προηγούμενη δοκιμή που αφορούσε την αποδόμηση δύο χλωροακεταμιδίων (alachlor και acetochlor) στην επιφάνεια εργαστηριακής κλίμακας βιοκλίνης η αποδόμηση της πρώτης ουσίας εμφανίστηκε ταχύτερη σε βιομίγματα στα οποία το άχυρο είχε αντικατασταθεί από σπάδικες αραβόσιτου, ενώ καμία διαφοροποίηση στην ικανότητα διάσπασης του acetochlor δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των διαφορετικών βιομιγμάτων (Lamar, 2001)

Το βιομίγμα με βάση τους βόστρυχους αμπέλου (GSBX) αποδείχθηκε το πιο αποτελεσματικό υπόστρωμα στη βελτίωση των ρυθμών αποδόμησης σε σχέση με το βιομίγμα μάρτυρα και τα υπόλοιπα εναλλακτικά οργανικά υποστρώματα. Συγκεκριμένα οι εκτιμώμενοι χρόνοι $t_{1/2}$ στο GSBX βιομίγμα ήταν 3,6 , 5,7 , 2,2 , 1,4 , 1,7 και 3 φορές μικρότεροι από αυτούς στο υπόστρωμα STRBX για τις ουσίες terbutylazine, metribuzin, chlorpyrifos, buprofezin, iprodione και azoxystrobin, αντίστοιχα. Η αύξηση του ρυθμού αποδόμησης στις περιπτώσεις των ουσιών metribuzin και azoxystrobin συνοδεύτηκε και από μεταβολή της κινητικής εξίσωσης αποδόμησης από σταθερού σε μεταβαλλόμενου ρυθμού. Η αυξημένη αποδομητική ικανότητα του βιομιγματος αυτού δεν μπορεί να εξηγηθεί αποκλειστικά με βάση τα φυσικοχημικά και βιολογικά χαρακτηριστικά του. Πιθανότατα το υπόστρωμα GSBX δημιουργεί φιλικότερο περιβάλλον για την ανάπτυξη και δραστηριότητα των υπεύθυνων για τη μικροβιακή αποδόμηση μικροοργανισμών.

Πίνακας 17.1. Παράμετροι αποδόμησης φ.ο. που εφαρμόστηκαν ως μίγμα σε βιομίγματα με βάση διαφορετικά λιγνινοκυτταρινούχα υλικά

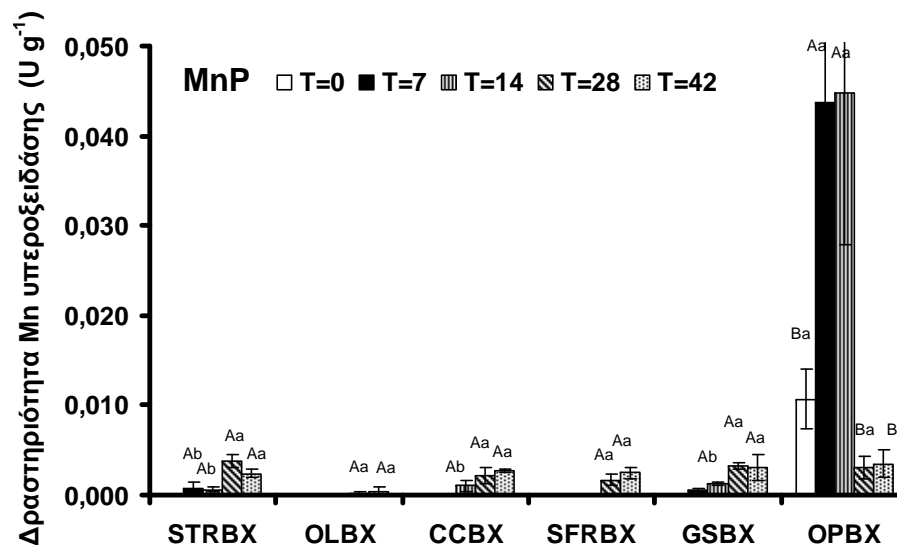
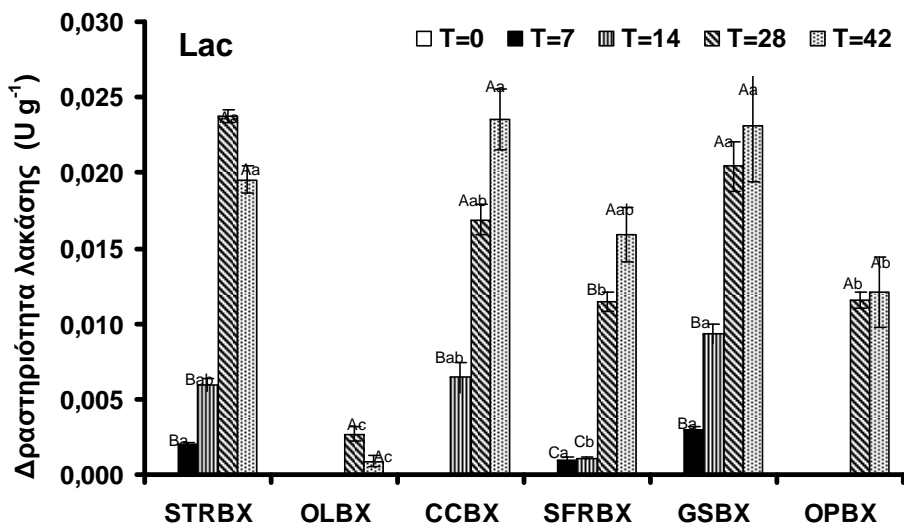
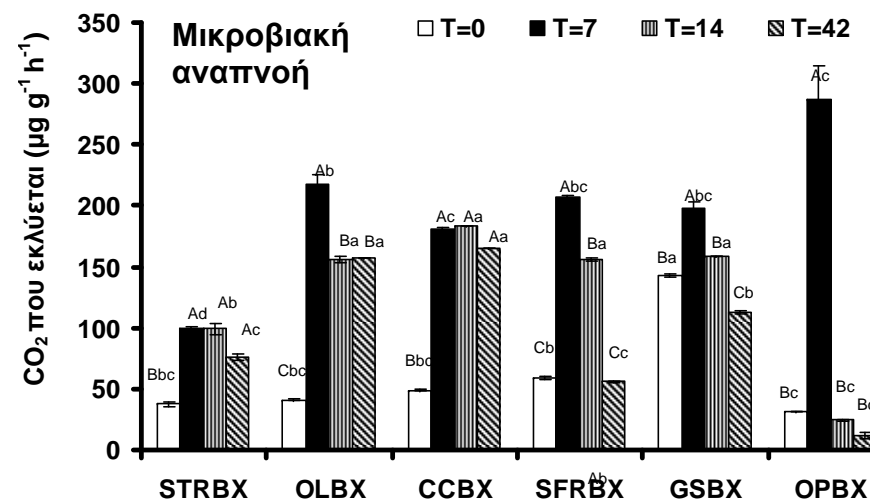
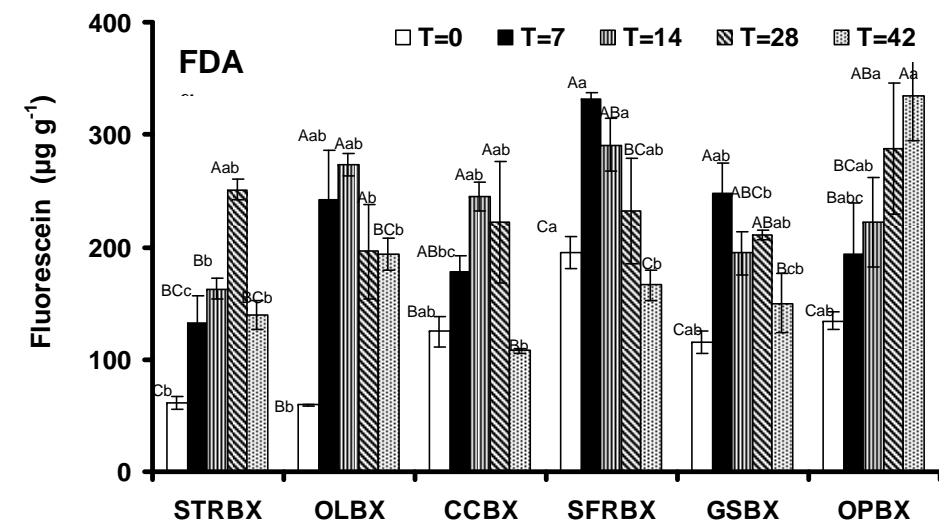
| | | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) | | | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) | | |
|----------------------|--------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|--|--|---------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|-------|-----|
| Terbutylazine | S2 | 100,8 | 0,003 ± 0,001 | | | 0,619 | 231,0 | | | SFRBX | 77,1 | 0,017 ± 0,001 | | 0,867 | 40,8 | | |
| | STRBX | 97,7 | 0,005 ± 0,001 | | | 0,370 | 138,6 | | | OPBX | 127,3 | 0,004 ± 0,002 | | 0,185 | 173,3 | | |
| | OLBX | 11,4 | 0,010 ± 0,001 | | | 0,644 | 69,3 | | | GSBX | 90,6 | 0,037 ± 0,002 | | 0,945 | 18,7 | | |
| | CCBX | 82,9 | 0,014 ± 0,000 | | | 0,899 | 49,5 | | | | | | | | | | |
| | SFRBX | 79,8 | 0,009 ± 0,001 | | | 0,732 | 77,0 | | | Buprofezin | S2 | 91,6 | 0,011 ± 0,001 | | 0,968 | 63,0 | |
| | OPBX | 79,5 | 0,002 ± 0,001 | | | 0,108 | 346,6 | | | STRBX | 82,7 | 0,014 ± 0,001 | | 0,852 | 49,5 | | |
| | GSBX | 81,7 | 0,018 ± 0,000 | | | 0,922 | 38,5 | | | OLBX | 106,3 | 0,018 ± 0,002 | | 0,792 | 38,5 | | |
| Dimethoate | S2 | 95,3 | 0,084 ± 0,002 | | | 0,994 | 8,3 | | | CCBX | 81,9 | 0,017 ± 0,001 | | 0,926 | 40,8 | | |
| | STRBX | 124,4 | 0,535 ± 0,044 | | | 0,954 | 1,3 | | | SFRBX | 81,8 | 0,014 ± 0,001 | | 0,890 | 49,5 | | |
| | OLBX | 119,2 | 0,285 ± 0,022 | | | 0,945 | 2,4 | | | OPBX | 82,2 | 0,005 ± 0,001 | | 0,473 | 138,6 | | |
| | CCBX | 112,7 | 0,329 ± 0,029 | | | 0,948 | 2,1 | | | GSBX | 90,4 | 0,020 ± 0,001 | | 0,973 | 34,7 | | |
| | SFRBX | 100,1 | 0,285 ± 0,017 | | | 0,975 | 2,4 | | | Iprodione | S2 | 100,0 | 0,158 ± 0,027 | 0,044 ± 0,006 | 4,3 | 0,969 | 4,4 |
| | OPBX | 102,5 | 0,304 ± 0,036 | | | 0,909 | 2,3 | | | STRBX | 98,1 | 0,131 ± 0,013 | 0,030 ± 0,007 | 8,2 | 0,963 | 5,3 | |
| | GSBX | 91,8 | 0,297 ± 0,027 | | | 0,946 | 2,3 | | | OLBX | 94,0 | 0,044 ± 0,001 | | 0,981 | 15,8 | | |
| Metalaxyl-M | S2 | 99,9 | 0,002 ± 0,001 | | | 0,489 | 346,6 | | | CCBX | 100,0 | 0,155 ± 0,015 | 0,055 ± 0,005 | 3,5 | 0,985 | 6,2 | |
| | STRBX | 103,6 | 0,004 ± 0,002 | 0,074 ± 0,016 | 36,4 | 0,943 | 43,8 | | | SFRBX | 100,0 | 0,265 ± 0,017 | 0,057 ± 0,007 | 3,7 | 0,988 | 2,6 | |
| | OLBX | 94,5 | 0,009 ± 0,004 | 0,051 ± 0,009 | 25,1 | 0,929 | 34,3 | | | OPBX | 95,1 | 0,052 ± 0,005 | | 0,822 | 13,3 | | |
| | CCBX | 98,0 | 0,011 ± 0,002 | 0,064 ± 0,007 | 26,0 | 0,983 | 32,4 | | | GSBX | 100,0 | 0,223 ± 0,021 | 0,030 ± 0,006 | 5,8 | 0,976 | 3,1 | |
| | SFRBX | 95,9 | -0,000 ± 0,005 | 0,039 ± 0,004 | 19,4 | 0,954 | 38,2 | | | Indoxacarb | S2 | 100,0 | 0,147 ± 0,019 | 0,013 ± 0,002 | 4,5 | 0,974 | 6,0 |
| | OPBX | 92,5 | 0,001 ± 0,003 | 0,063 ± 0,024 | 53,2 | 0,574 | 63,4 | | | STRBX | 98,3 | 0,095 ± 0,014 | 0,009 ± 0,003 | 7,2 | 0,894 | 7,6 | |
| | GSBX | 98,5 | 0,009 ± 0,002 | 0,070 ± 0,015 | 33,7 | 0,970 | 39,3 | | | OLBX | 106,4 | 0,007 ± 0,001 | | 0,784 | 99,0 | | |
| Metribuzin | S2 | 94,9 | 0,014 ± 0,001 | | | 0,965 | 49,5 | | | CCBX | 99,4 | 0,061 ± 0,016 | 0,009 ± 0,009 | 17,1 | 0,932 | 11,4 | |
| | STRBX | 112,1 | 0,038 ± 0,002 | | | 0,928 | 18,2 | | | SFRBX | 100,0 | 0,131 ± 0,055 | 0,018 ± 0,007 | 5,9 | 0,742 | 5,3 | |
| | OLBX | 92,5 | 0,042 ± 0,003 | | | 0,909 | 16,5 | | | OPBX | 102,4 | 0,013 ± 0,001 | | 0,833 | 53,3 | | |
| | CCBX | 100,6 | 0,047 ± 0,001 | | | 0,981 | 14,7 | | | GSBX | 98,2 | 0,094 ± 0,016 | 0,022 ± 0,007 | 11,0 | 0,919 | 7,4 | |
| | SFRBX | 108,2 | 0,029 ± 0,002 | | | 0,929 | 23,9 | | | Azoxystrobin | S2 | 92,0 | 0,007 ± 0,001 | | 0,92 | 99,0 | |
| | OPBX | 80,8 | 0,028 ± 0,003 | | | 0,792 | 24,8 | | | STRBX | 82,6 | 0,029 ± 0,002 | | 0,847 | 23,9 | | |
| | GSBX | 99,5 | 0,216 ± 0,018 | 0,057 ± 0,034 | 8,2 | 0,959 | 3,2 | | | OLBX | 83,5 | 0,037 ± 0,002 | | 0,922 | 18,7 | | |
| Chlorpyrifos | S2 | 100,0 | 0,141 ± 0,012 | 0,041 ± 0,003 | 4,5 | 0,993 | 5,9 | | | CCBX | 82,1 | 0,019 ± 0,002 | | 0,838 | 36,5 | | |
| | STRBX | 78,4 | 0,017 ± 0,002 | | | 0,827 | 40,8 | | | SFRBX | 62,2 | 0,023 ± 0,002 | | 0,797 | 30,1 | | |
| | OLBX | 108,7 | 0,006 ± 0,001 | | | 0,587 | 115,5 | | | OPBX | 65,7 | 0,031 ± 0,003 | | 0,797 | 22,4 | | |
| | CCBX | 82,9 | 0,024 ± 0,001 | | | 0,955 | 28,9 | | | GSBX | 100,0 | 0,125 ± 0,033 | 0,045 ± 0,009 | 4,1 | 0,926 | 8,0 | |

17.4. Μέτρηση μικροβιακής και ενζυμικής δραστηριότητας στα βιομίγματα

Ο τύπος του βιομίγματος, ο χρόνος δειγματοληψίας και οι μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις ($p < 0,001$) επηρέασαν την τιμή της **συνολικής υδρολυτικής δραστηριότητας** κατά τη διάρκεια της δοκιμής. Συνολικά η υψηλότερη τιμή υδρολυτικής δραστηριότητας μετρήθηκε στα βιομίγματα SFRBX και OPBX, ενώ η μικρότερη τιμή στο βιομίγμα με βάση το άχυρο (STRBX) (**διάγραμμα 17.1α**). Επίσης σε κάθε βιομίγμα της δοκιμής η μικρότερη τιμή της παραμέτρου υπολογίστηκε σε χρόνο $t=0$, ενώ οι τιμές στους επόμενους χρόνους δειγματοληψίας διαφέρουν σημαντικά από την αρχική αυτή τιμή. Η πορεία της υδρολυτικής ενζυμικής δραστηριότητας εμφάνισε σε όλες τις περιπτώσεις ένα συγκεκριμένο πρότυπο, δηλαδή μια προσωρινή σημαντική αύξηση ($p < 0,001$) σε χρόνο 7 έως 28 ημερών από την εφαρμογή που ακολουθείται από μια σταδιακή μείωση της τιμής μέχρι το χρόνο της τελευταίας δειγματοληψίας. Η μόνη εξαίρεση παρατηρήθηκε στο OPBX βιομίγμα, όπου η υδρολυτική δραστηριότητα εμφάνισε μια σταδιακή αύξηση με το χρόνο ($p < 0,05$). Παρόλα αυτά καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ τιμής υδρολυτικής δραστηριότητας εκφρασμένης ως αρχικής, μέγιστης ή μέσης τιμής και των τιμών $t_{1/2}$ στα βιομίγματα δεν παρατηρήθηκε.

Η **μικροβιακή αναπνοή** στα διάφορα βιομίγματα εμφάνισε μια πορεία απότομης αύξησης της τιμής στο χρόνο δειγματοληψίας $t=7$ ($p < 0,001$) ακολουθούμενη από σταδιακή μείωση στη συνέχεια (**διάγραμμα 17.1β**). Γενικά σημαντικά υψηλότερη τιμή μικροβιακής αναπνοής ($p < 0,001$) ήταν εμφανής στα GSBX, OLBX, CCBX, SFRBX βιομίγματα και συγκριτικά μικρότερη στα βιομίγματα STRBX και OPBX. Όμως για το τελευταίο παρατηρήθηκε μια υψηλή τιμή σε χρόνο 7 ημερών από την εφαρμογή ($p < 0,05$), που ακολουθείται από επιστροφή της τιμής της παραμέτρου στις αρχικές τιμές. Η συμπεριφορά αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με προηγούμενα δεδομένα, όπου η προσθήκη φλούδων εσπεριδοειδών (*citrus peels*) στο βιομίγμα επιτάχυνε σημαντικά τους ρυθμούς μικροβιακής αναπνοής (Corroia et al., 2007). Οι ρυθμοί αναπνοής έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς ως δείκτης της αποδομητικής ικανότητας σε βιομίγμα και οι ρυθμοί απομάκρυνσης 4 φ.ο., συμπεριλαμβανομένου του metribuzin, συσχετίστηκαν με τη τιμή της αναπνοής (Castillo and Torstensson, 2007). Στη δοκιμή μας καταγράφηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ ρυθμού παραγωγής CO_2 σε χρόνο $t=0$ και ρυθμών αποδόμησης των ουσιών metribuzin ($r^2=0,942$, $p < 0,01$), indoxacarb ($r^2=0,967$, $p < 0,01$), azoxystrobin ($r^2=0,883$, $p < 0,05$) and chlorpyrifos ($r^2=0,727$, $p < 0,05$).

Κατά τη διάρκεια της δοκιμής αποδόμησης μετρήθηκε επίσης η **ενζυμική δραστηριότητα των φαινολοξειδασών** (**διάγραμμα 17.1γ,δ**). Στα περισσότερα βιομίγματα η δραστηριότητα της Lac εμφάνισε μια σημαντική αύξηση ($p < 0,001$) στους τελευταίους χρόνους δειγματοληψίας (28 και 42 ημερών). Σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ($p < 0,001$) δραστηριότητας της Lac παρατηρήθηκε στα βιομίγματα STRBX, CCBX και GSBX σε σχέση με τα SFRBX, OPBX, ενώ ελάχιστη δραστηριότητα του ένζυμου καταγράφηκε στα βιομίγματα OLBX. Όσο αφορά το ένζυμο MnP, παρόμοια επίπεδα δραστηριότητας ($p < 0,001$) παρατηρήθηκαν στα περισσότερα βιομίγματα της δοκιμής με εξαίρεση το OPBX βιομίγμα, όπου μια σημαντική αύξηση στη δραστηριότητα της MnP ήταν εμφανής στους χρόνους $t=7$ και $t=14$ μετά την εφαρμογή ($p < 0,001$), αν και στη συνέχεια η δραστηριότητα επέστρεψε σε επίπεδα παρόμοια με αυτά άλλων βιομιγμάτων. Οι υψηλές τιμές της δραστηριότητας του ενζύμου στο OPBX δεν οδήγησαν σε υψηλές τιμές αποδόμησης για καμία από τις ουσίες της δοκιμής. Αντίθετα, οι παρατηρούμενες τιμές $t_{1/2}$ σε αυτό το βιομίγμα ήταν σημαντικά υψηλότερες σε σχέση με άλλα βιομίγματα.



Διάγραμμα 17.1. Υδρολυτική ενζυμική δραστηριότητα (FDA) και μικροβιακή αναπνοή σε βιομίγματα με βάση λιγνινοκυτταρινούχα υλικά σε διάφορα χρονικά διαστήματα επώασης (ημέρες). Η δραστηριότητα των ενζύμων Lac και MnP χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της συμμετοχής του λιγνινολυτικού ενζυμικού συστήματος των μυκήτων λευκής σήψης στην παρατηρούμενη αποδόμηση των φ.ο. Τα σύμβολα a,b,c δηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ βιομιγμάτων στον ίδιο χρόνο δειγματοληψίας, ενώ τα σύμβολα A,B,C δηλώνουν διαφορές μεταξύ διαφορετικών χρόνων δειγματοληψίας για το ίδιο βιομίγμα

Αυτό φανερώνει τη μικρή συνεισφορά των δύο φαινολοξειδασών στην πορεία αποδόμησης των φ.ο. της δοκιμής. Όπως και στην περίπτωση της δραστηριότητας της Lac, το βιομίγμα OLBX εμφάνισε πολύ μικρή τιμή δραστηριότητας της MnP. Επίσης σε κανένα από τα βιομίγματα της δοκιμής και σε κανένα χρόνο δειγματοληψίας δεν παρατηρήθηκε δραστηριότητα της LiP. Το γεγονός αυτό δηλώνει απουσία συγκεκριμένων πληθυσμών μυκήτων λευκής σήψης που παράγουν το συγκεκριμένο ένζυμο ή παρεμβολή άλλων υποστρωμάτων στη μέτρηση της δραστηριότητας του ένζυμου. Προηγουμένως σε αντίστοιχες δοκιμές παρατηρήθηκε πρόβλημα στη μέτρηση της δραστηριότητας της LiP σε βιομίγματα πλούσια σε λιγνινοκυτταρινούχα υλικά και αποδόθηκε στην παρεμβολή φαινολικών ουσιών που λειτουργούν σαν υποστρώματα για την οξειδωση της βερατρυλικής αλκοόλης (Castillo et al., 1997)

17.5. Προσρόφηση των ουσιών στα βιομίγματα

17.5.1. Ισόθερμες προσρόφησης

Η προσρόφηση των φ.ο. της δοκιμής στα διάφορα βιομίγματα περιγράφηκε πιο αποτελεσματικά με την ισόθερμη Freundlich καθώς οι τιμές του συντελεστή παλινδρόμησης r^2 που προέκυψαν ήταν σε κάθε περίπτωση υψηλότεροι από 0,97 (μέσο όρο περίπου 0,99) για την προσρόφηση και 0,92 (μέσος όρος 0,97) για τις δοκιμές εκρόφησης. Οι τιμές των παραμέτρων K_f και $1/n$ που προέκυψαν από την εφαρμογή της ισόθερμης αυτής στα αποτελέσματα προσρόφησης για τα terbutylazine, metribuzin και metalaxyl-M παρουσιάζονται στους **πίνακες 17.2, 17.3 και 17.4**. Οι περισσότερες ισόθερμες ήταν τύπου C- σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Gills ($1/n$ κοντά στη μονάδα), ενώ σε ορισμένες η τιμή της παραμέτρου $1/n$ ήταν αρκετά μικρότερη της μονάδας (L-τύπος). Σε μεμονωμένες περιπτώσεις που αφορούσαν στην προσρόφηση του terbutylazine στα βιομίγματα OLBX και STRBX ο συντελεστής $1/n$ εμφανίστηκε πολύ υψηλότερος της μονάδας (S- τύπος).

17.5.2. Terbutylazine

Γενικά το terbutylazine παρουσίασε σημαντική συνάφεια με την οργανική ουσία των βιομιγμάτων της δοκιμής καθώς οι τιμές K_f εμφάνισαν ένα εύρος τιμών 35,7 ως 140,3 mL·g⁻¹.

Πίνακας 17.2. Παράμετροι προσρόφησης και εκρόφησης του ζιζανιοκτόνου terbutylazine σε 6 οργανικά υποστρώματα που περιέχουν λιγνινοκυτταρινούχα υλικά

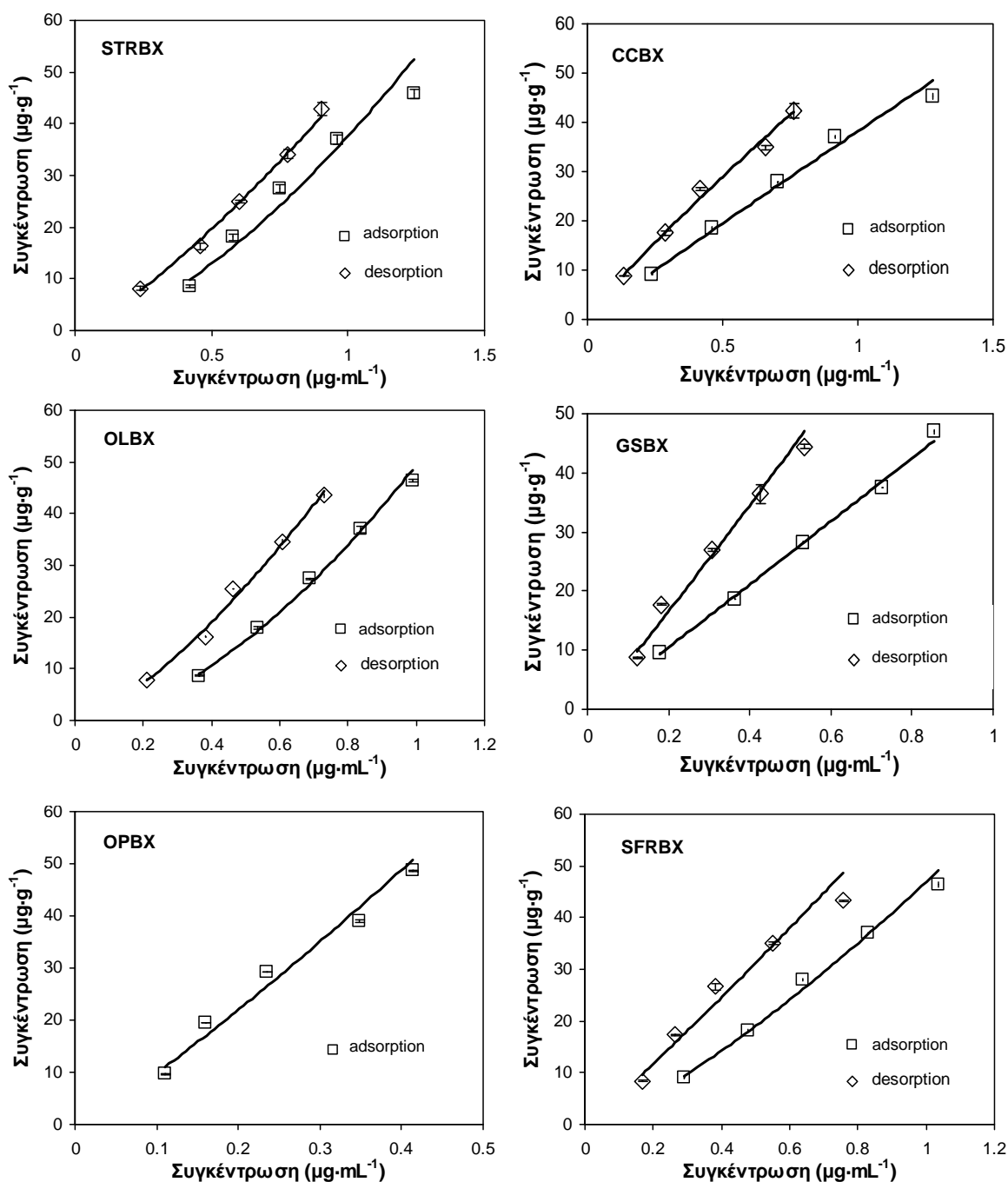
| | Προσρόφηση | | | | Εκρόφηση | | | | | |
|-------|------------|-------|-------|----------|----------------|------------|-------------|-------|-----------------|------------------|
| | K_f | $1/n$ | r^2 | K_{oc} | % ¹ | K_{fdes} | $1/n_{des}$ | r^2 | HI ₂ | HI ₁₀ |
| STRBX | 35,73 | 1,85 | 0,96 | 332 | 7,6 | 43,33 | 1,24 | 0,95 | 0,92 | 0,10 |
| GSBX | 53,20 | 1,01 | 1,00 | 460 | 3,7 | 91,22 | 1,06 | 0,97 | 0,60 | 0,61 |
| CCBX | 38,17 | 0,97 | 0,99 | 303 | 4,5 | 53,81 | 0,89 | 0,99 | 0,58 | 0,37 |
| SFRBX | 46,89 | 1,30 | 0,99 | 421 | 4,7 | 65,61 | 1,07 | 0,97 | 0,91 | 0,42 |
| OLBX | 49,41 | 1,68 | 1,00 | 358 | 6,8 | 68,95 | 1,41 | 0,99 | 0,85 | 0,38 |
| OPBX | 140,32 | 1,15 | 0,97 | 814 | — ² | — | — | — | — | — |

¹ Ποσοστιαία προσρόφηση όμως υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση 10.1 στο επίπεδο συγκέντρωσης 6 μg·mL⁻¹

² Δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα εκρόφησης σε αυτό το υπόστρωμα

Όλα τα βιομίγματα με τα υποκατάστατα του άχυρου έδωσαν υψηλότερη ικανότητα συγκράτησης του terbutylazine, με το υπόστρωμα OPBX να εμφανίζει τιμή πολύ υψηλότερη της αναμενόμενης με βάση την περιεκτικότητα του σε οργανικό άνθρακα (**διάγραμμα 17.2**). Επίσης η εκρόφηση του

terbuthylazine εμφανίστηκε να είναι μικρή καθώς η αναλογία του terbuthylazine που επιστρέφει στο υδατικό διάλυμα μετά από 12 ώρες ανακίνησης δεν υπερβαίνει το 8% σε καμία από τις περιπτώσεις.

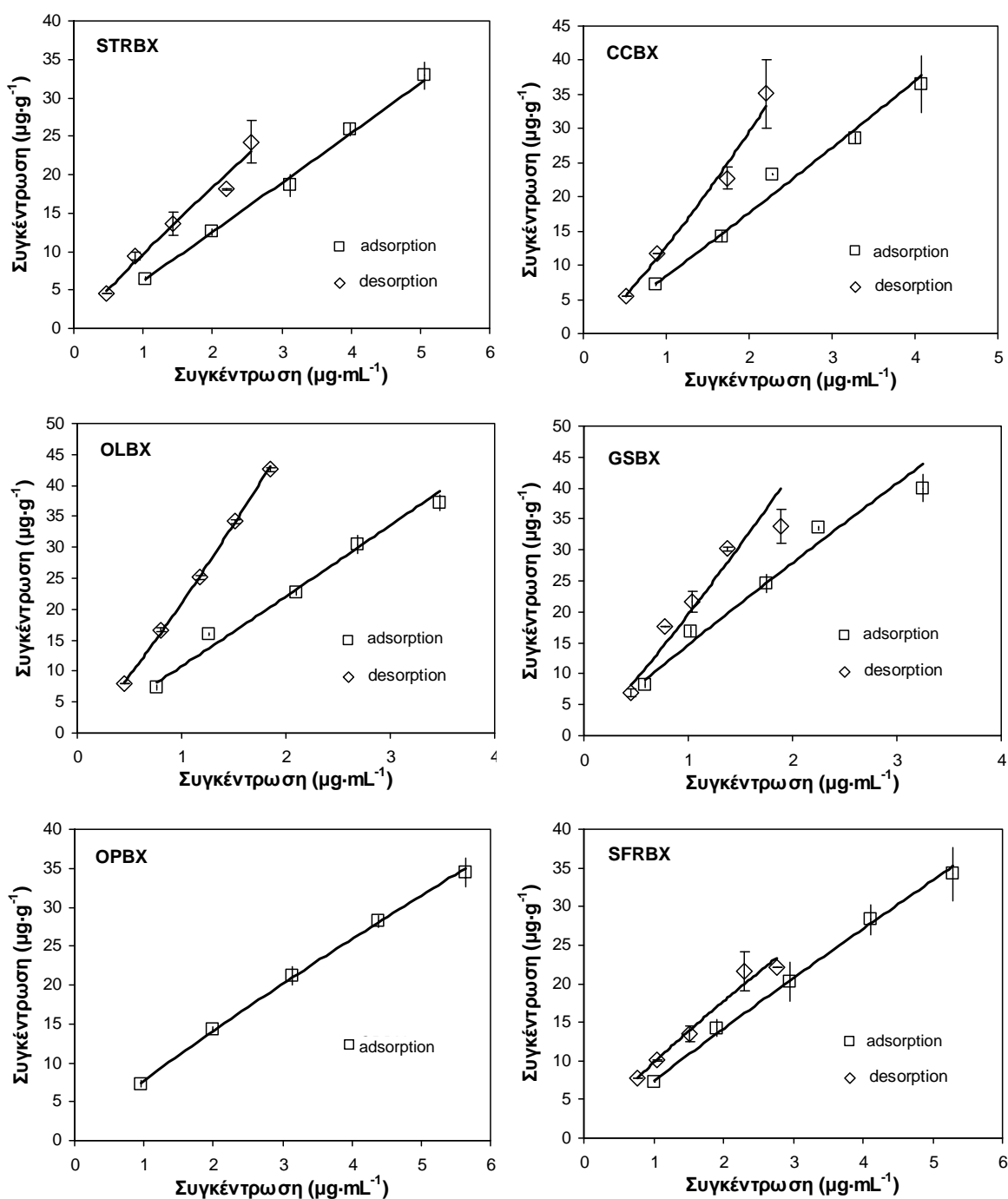


Διάγραμμα 17.2. Ισόθερμες προσρόφησης (□) και εκρόφησης (◇) του terbuthylazine σε βιομίγματα με βάση λιγνινοκυτταρινούχα υλικά

17.5.3. Metribuzin

Όπως και στην περίπτωση του terbuthylazine η μικρότερη τιμή του συντελεστή προσρόφησης στο metribuzin υπολογίστηκε στο τυπικό υπόστρωμα άχυρου (STRBX), ενώ η αντικατάσταση του άχυρου

με οποιοδήποτε άλλο υλικό βελτιώνει ελάχιστα (OPBX, SFRBX) έως σημαντικά (GSBX) την ικανότητα προσρόφησης (διάγραμμα 17.3)



Διάγραμμα 17.3. Ισόθερμες προσρόφησης (\square) και εκρόφησης (\diamond) του metribuzin σε βιομίγματα με βάση λιγνινοκυτταρινούχα υλικά

Ταυτόχρονα όλα τα εναλλακτικά λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα συγκρατούν ισχυρότερα το metribuzin σε σχέση με το βιομίγμα άχρου καθώς εμφανίζουν τιμές ποσοστιαίας εκρόφησης από 11,9 έως 18,4%, ποσοστό πολύ χαμηλότερο του 26,6% που δίνει το υπόστρωμα άχρου. Άλλο χαρακτηριστικό της ουσίας είναι οι μικρές τιμές του δείκτη υστέρησης σε όλα τα βιομίγματα της δοκιμής

Πίνακας 17.3. Παράμετροι προσρόφησης και εκρόφησης του ζιζανιοκτόνου metribuzin σε έξι βιομίγματα με βάση λιγνινοκυτταρινούχα υλικά

| | Προσρόφηση | | | | Εκρόφηση | | | | | |
|--------------|------------|-------|-------|----------|----------------|------------|-------------|-------|--------|-----------|
| | K_f | $1/n$ | r^2 | K_{oc} | % ¹ | K_{fdes} | $1/n_{des}$ | r^2 | HI_2 | HI_{10} |
| STRBX | 6,18 | 1,02 | 1,00 | 57 | 26,6 | 9,66 | 0,93 | 0,99 | 0,60 | 0,32 |
| GSBX | 14,67 | 0,93 | 0,98 | 127 | 11,9 | 19,58 | 1,12 | 0,94 | 0,20 | 0,62 |
| CCBX | 8,43 | 1,06 | 0,99 | 67 | 14,9 | 12,70 | 1,22 | 0,99 | 0,50 | 0,77 |
| SFRBX | 7,40 | 0,94 | 0,99 | 66 | 18,4 | 9,77 | 0,86 | 0,99 | 0,31 | 0,23 |
| OLBX | 10,77 | 1,03 | 0,98 | 78 | 13,5 | 20,96 | 1,17 | 1,00 | 0,90 | 1,28 |
| OPBX | 7,68 | 0,88 | 1,00 | 45 | — ² | — | — | — | — | — |

¹ Ποσοστιαία προσρόφηση όπως υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση 10.1 στο επίπεδο συγκέντρωσης 6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

² Δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα εκρόφησης σε αυτό το υπόστρωμα

17.5.4. Metalaxyl-M

Ένα σχετικά μεγάλο εύρος τιμών του συντελεστή Freundlich παρουσιάστηκαν στα 6 βιομίγματα της δοκιμής (K_f 9,16-16,94). Η εξομάλυνση του συντελεστή αυτού ως προς την οργανικό άνθρακα δεν μείωσε την παραλλακτικότητα των τιμών (K_{oc} 53 έως 124). Ανάλογη συμπεριφορά του metalaxyl-M παρατηρήθηκε και στα βιομίγματα κομπόστας της προηγούμενης δοκιμής (**παράγραφος 16.3.3**). Η ισχυρή προσαρμογή της ισόθερμης Freundlich στα αποτελεσμάτων εκρόφησης αποδεικνύεται από τις υψηλές τιμές του συντελεστή παραλλακτικότητας ($r^2 > 0,89$). Η εκρόφηση του metalaxyl-M στα βιομίγματα εμφάνισε ένα ποσοστό από 7,3 έως 17,8% επί της προσροφηθείσας ποσότητας. Το χαμηλότερο ποσοστό εκρόφησης και τη μεγαλύτερη τιμή K_{fdes} εμφάνισε το υπόστρωμα GSBX που έδωσε και την μεγαλύτερη τιμή συντελεστή K_f μεταξύ των βιομιγμάτων.

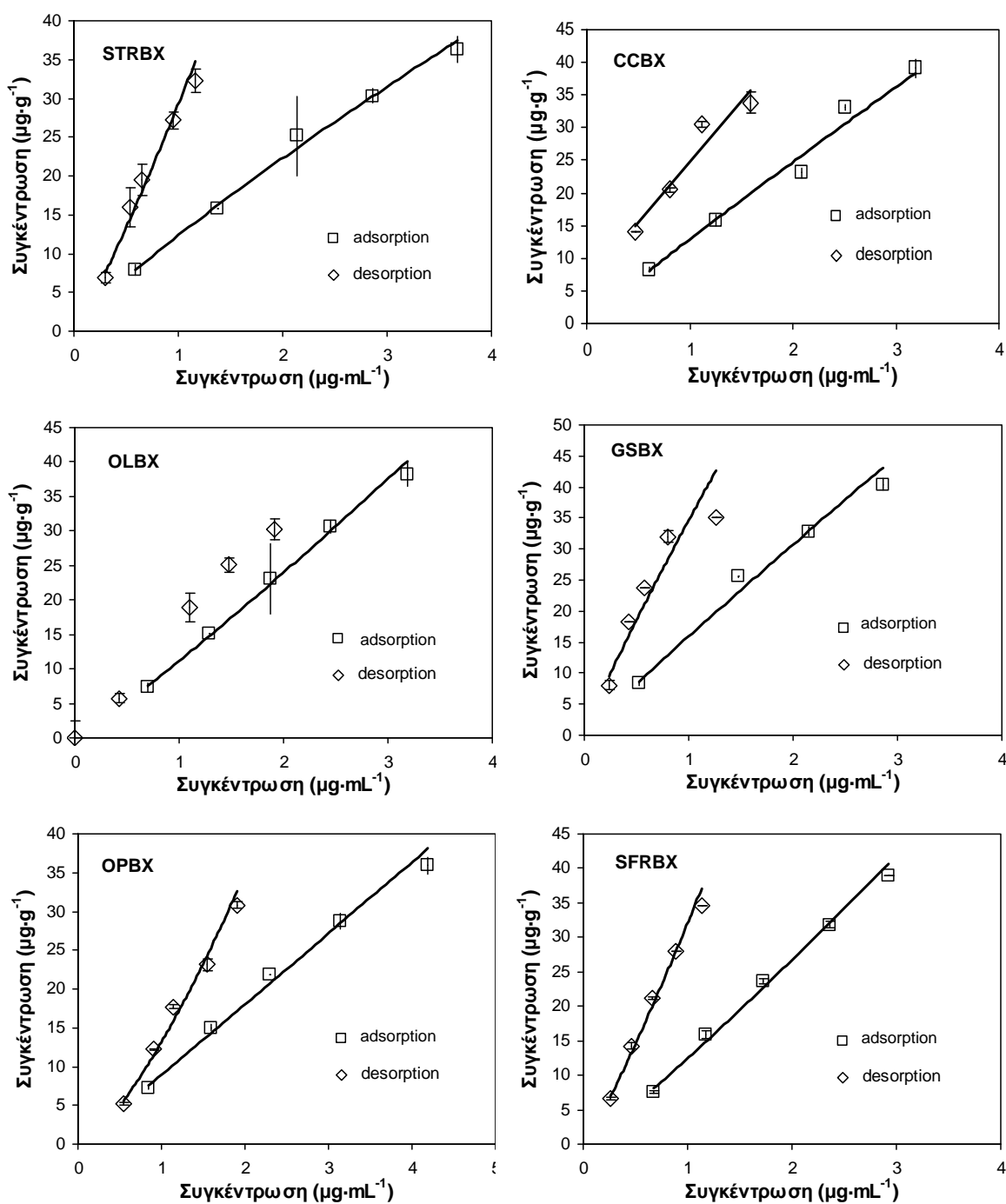
Πίνακας 17.4. Παράμετροι προσρόφησης και εκρόφησης του ζιζανιοκτόνου metalaxyl-M σε έξι βιομίγματα με βάση λιγνινοκυτταρινούχα υλικά

| | Προσρόφηση | | | | Εκρόφηση | | | | | |
|--------------|------------|-------|-------|----------|----------------|------------|-------------|-------|--------|-----------|
| | K_f | $1/n$ | r^2 | K_{oc} | % ¹ | K_{fdes} | $1/n_{des}$ | r^2 | HI_2 | HI_{10} |
| STRBX | 13,39 | 0,86 | 0,98 | 124 | 10,5 | 29,27 | 1,13 | 0,98 | 0,88 | 1,98 |
| GSBX | 15,94 | 0,95 | 0,99 | 138 | 7,3 | 34,65 | 0,90 | 0,92 | 1,24 | 1,32 |
| CCBX | 12,89 | 0,94 | 0,99 | 102 | 11,2 | 25,03 | 0,77 | 0,97 | 1,13 | 0,55 |
| SFRBX | 12,42 | 1,11 | 0,99 | 111 | 10,4 | 32,03 | 1,15 | 0,99 | 1,61 | 1,75 |
| OLBX | 11,14 | 1,11 | 0,99 | 81 | 17,8 | 15,68 | 1,13 | 0,99 | 0,42 | 0,40 |
| OPBX | 9,16 | 0,99 | 0,98 | 53 | 14,1 | 13,16 | 1,40 | 0,99 | 0,35 | 1,48 |

¹ Ποσοστιαία προσρόφηση όπως υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση 10.1 στο επίπεδο συγκέντρωσης 6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

17.6. Σύγκριση βιομιγμάτων ως προς τα χαρακτηριστικά της συμπεριφοράς προσρόφησης/εκρόφησης

Η προσρόφηση γενικά επηρεάστηκε σημαντικά τόσο από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των φ.ο. όσο και από τη σύνθεση του βιομιγματος που χρησιμοποιήθηκε. Το terbutylazine εμφάνισε την υψηλότερη προσρόφηση σε όλα τα βιομίγματα (K_f 35 -140 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$) σε σχέση με το metalaxyl-M και το metribuzin, όπου οι αντίστοιχες τιμές κυμαίνονταν από 9,2-15,9 και 6,2 -14,7 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ αντίστοιχα.



Διάγραμμα 17.4. Ισόθερμες προσρόφησης (\square) και εκρόφησης (\diamond) του metalaxyl-M στο έδαφος και σε βιομίγματα με βάση λιγνινοκυτταρινούχα υλικά

Η πιο εκτεταμένη προσρόφηση του terbutylazine εξηγείται από τον υδρόφοβο χαρακτήρα του μορίου του ($\log K_{ow}$ 3.21) σε σύγκριση με τα metalaxyl-M ($\log K_{ow}$ 1.65) και metribuzin ($\log K_{ow}$ 1.60). Η κανονικοποίηση του συντελεστή προσρόφησης ως προς το περιεχόμενο οργανικό άνθρακα μείωσε σημαντικά την παραλλακτικότητα μεταξύ των μεταχειρίσεων στην περίπτωση του terbutylazine. Επιπλέον παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ οργανικού άνθρακα και τιμών K_f ($r^2=0,805$, $p<0,05$). Αντίθετα η χρήση του συντελεστή K_{oc} για την εκτίμηση της συμπεριφοράς προσρόφησης των metalaxyl-M και metribuzin δεν οδήγησε σε μείωση της παραλλακτικότητας των τιμών των συντελεστών προσρόφησης.

Τα βιομίγματα που περιείχαν εναλλακτικά λιγνινοκυτταρινούχα υλικά εμφάνισαν υψηλότερη ικανότητα προσρόφησης για τις ουσίες terbutylazine και metribuzin σε σχέση με το βιομίγμα μάρτυρα, ενώ για το metalaxyl-M δεν παρατηρήθηκε ανάλογη διαφοροποίηση. Το βιομίγμα με βάση τους βόστρυχους σταφυλιού (GSBX) εμφάνισε την υψηλότερη ικανότητα προσρόφησης για το metalaxyl-M και το metribuzin. Το βιομίγμα με φλούδες πορτοκαλιών (OPBX) εμφανίστηκε αποτελεσματικό στην προσρόφηση του terbutylazine αλλά εμφάνισε τη μικρότερη προσρόφηση για τις άλλες δύο ουσίες. Τέτοιες διαφορές στη συμπεριφορά προσρόφησης των οργανικών υποστρωμάτων σε διαφορετικές φ.ο. οφείλονται στην ταυτόχρονη επίδραση ποικίλων μηχανισμών. Η επίδραση ποιοτικών παραμέτρων, όπως η ειδική ενεργή επιφάνεια και ο βαθμός ωριμότητας των διαφόρων οργανικών συστατικών του βιομίγματος, έχουν χρησιμοποιηθεί για την εξήγηση της συμπεριφοράς προσρόφησης των metalaxyl-M και chlorpyrifos (Vischetti et al., 2004). Τα βιομίγματα με σπάδικες αραβόσιπου (CCBX) και υπολείμματα ηλίανθου (SFRBX) εμφάνισαν τις μικρότερες διαφορές με το βιομίγμα άχυρου (STRBX) όσο αφορά την προσροφητική ικανότητα. Αντίστοιχα μικρές διαφορές εμφάνισαν τα ίδια βιομίγματα στα βιολογικά χαρακτηριστικά τους και στην ικανότητα αποδόμησης των φ.ο. Αυτό υποδεικνύει ότι τα υλικά αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποκατάστατα του άχυρου χωρίς να διαφοροποιούν τα βασικά χαρακτηριστικά του βιομίγματος. Οι υψηλότεροι συντελεστές εκρόφησης υπολογίστηκαν στο βιομίγμα GSBX ενώ τα υπόλοιπα βιομίγματα εμφάνισαν διαφορές ανά περίπτωση. Φαινόμενα υστέρησης παρατηρήθηκαν σε όλα τα βιομίγματα με τιμές από 0,10 έως 1,98, χωρίς όμως να εμφανίζεται καμιά συσχέτιση με την ουσία ή το ενεργό υπόστρωμα.

Η βελτίωση της αποδομητικής ικανότητας των βιομιγμάτων με τη προσθήκη εξαντλημένου υποστρώματος ανάπτυξης του μύκητα *Pleurotus ostreatus*

18.1. Εισαγωγή

Η δοκιμή επικεντρώθηκε στην ικανότητα του εξαντλημένου υποστρώματος ανάπτυξης (SMS) του μύκητα *P.ostreatus* για επιτάχυνση των ρυθμών αποδόμησης επιλεγμένων φ.ο. μετά από ενσωμάτωση του σε μίγμα εδάφους και άχυρου σε διάφορες ογκομετρικές αναλογίες (0%, 5%, 15% και 50%). Το βιομίγμα που περιέχει έδαφος και άχυρο (50:50 vol.%) χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας, όπως και έδαφος στο οποίο δεν έγινε καμία προσθήκη οργανικής ύλης (S1). Η ογκομετρική αναλογία του εδάφους σε όλα τα βιομίγματα που σχηματίστηκαν ήταν 50%, ενώ η ποσότητα του άχυρου που προστέθηκε στα βιομίγματα ήταν τέτοια ώστε η περιεκτικότητα των βιομιγμάτων σε SMS και άχυρο να είναι ίση με 50% σε κάθε περίπτωση. Η ενσωμάτωση του άχυρου στα υποστρώματα που περιέχουν SMS σε αναλογία μικρότερη από 50% κρίθηκε απαραίτητη προκειμένου να αυξηθούν οι πιθανότητες επιτυχούς αποικισμού του εδάφους από το μύκητα *P.ostreatus*. Η εισαγωγή φρέσκου άχυρου στο έδαφος ως συμπληρωματική πηγή άνθρακα έχει αποδειχθεί ότι έχει θετικό αντίκτυπο στον επιτυχή εμβολιασμό (*inoculation*) του εδάφους από μύκητες λευκής σήψης (Morgan et al., 1993). Ειδικά ο μύκητας *P. ostreatus* έχει διαπιστωθεί ότι εμφανίζει ικανοποιητική ικανότητα αποικισμού μίγματος εδάφους και άχυρου με ταυτόχρονη διατήρηση της λιγνινολυτικής του δραστηριότητας σε επίπεδα παρόμοια με αυτά που αναμένονται σε αποστειρωμένο άχυρο (Lang et al., 1997b; Novotny et al., 1999; Eichlerova et al., 2000). Σε αντίθεση με άλλα λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα, το SMS ενσωματώθηκε στο έδαφος χωρίς ταυτόχρονη παρουσία κομπόστας. Η απόκλιση από την αναλογία των συστατικών στο τυπικό βιομίγμα επιλέχθηκε γιατί ο ενδογενής μικροβιακός πληθυσμός της κομπόστας ενδέχεται να κυριαρχήσει στον ανταγωνισμό με το μύκητα λευκής σήψης. Επίσης, οι αυξημένες τιμές ολικού αζώτου παρουσία κομπόστας θεωρητικά μπορεί να οδηγήσουν σε περιορισμό της αποδομητικής ικανότητας των μυκήτων λευκής σήψης (Castillo et al., 2008), αν και σε

προηγούμενη έρευνα διαπιστώθηκε ότι η ανάπτυξη μυκήτων του γένους *Pleurotus* και η παραγωγή λιγνινολυτικών ένζυμων δεν αναστέλλεται ακόμη και παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων N (Martinez et al., 1994). Τα σχηματισθέντα βιομίγματα φορτίστηκαν με ένα μίγμα οκτώ φ.ο. (terbuthylazine, dimethoate, metalaxyl-M, metribuzin, buprofezin, iprodione, indoxacarb, azoxystrobin) σε δύο διαφορετικές δόσεις (STD και STD:10).

Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της δοκιμής αποδόμησης των επιλεχθέντων ουσιών φανερώνει:

- το κατά πόσο το εξαντλημένο υπόστρωμα μπορεί να επιταχύνει την μικροβιακή διάσπαση
- την ελάχιστη ποσότητα του υποστρώματος που απαιτείται για την επιτάχυνση της αποδόμησης των φ.ο.
- τη διαφοροποίηση του τελικού αποτελέσματος με την αύξηση της ογκομετρικής αναλογίας του SMS στο βιομίγμα
- την επίδραση της δόσης εφαρμογής των φ.ο. στην αποδομητική ικανότητα του SMS
- την επίδραση της εφαρμογής των φ.ο. στην ενζυμική δραστηριότητα του μύκητα

18.2. Ικανότητα του SMS να επάγει την αποδόμηση μίγματος φ.ο. μετά από ανάμιξη με το έδαφος σε διάφορες αναλογίες

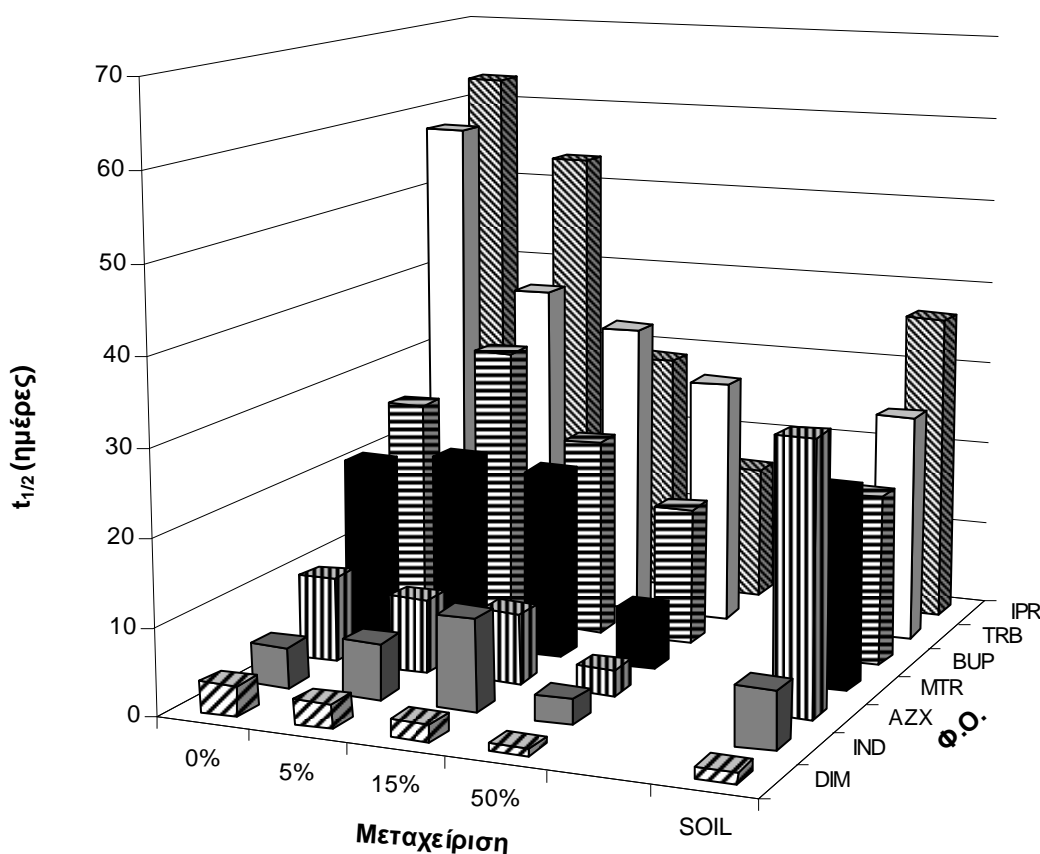
Μικρή δόση εφαρμογής

Το οργανικό υπόστρωμα που δεν περιέχει SMS (0%) βρέθηκε ότι αποδομεί το μίγμα των φ.ο. με ρυθμούς χαμηλότερους (terbuthylazine, dimethoate, iprodione) ή ίδιους (metribuzin, buprofezin) με το έδαφος μάρτυρα με εξαίρεση το indoxacarb και το azoxystrobin για τα οποία παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση στο χρόνο ημιζωής (**διάγραμμα 18.1**). Ιδιαίτερα για το azoxystrobin η κατά 3 φορές μείωση του χρόνου ημιζωής που μετρήθηκε με την προσθήκη άχυρου συνοδεύτηκε από ταυτόχρονη μεταβολή της κινητικής πορείας αποδόμησης από σταθερού σε μεταβαλλόμενου ρυθμού. Τον ταχύτερο ρυθμό αποδόμησης εμφάνισε το βιομίγμα που περιείχε SMS σε αναλογία 50% (**πίνακας 18.1**). Αυτό ανακλάται στη μικρότερη τιμή $t_{1/2}$ για το σύνολο των εξεταζόμενων φ.ο. σε σχέση με το έδαφος αλλά και σε σχέση με βιομίγματα που περιέχουν SMS σε μικρότερες ογκομετρικές αναλογίες. Η προσθήκη SMS σε ογκομετρική αναλογία 50% εκτός της σημαντικής βελτίωσης στο χρόνο αποδόμησης οδήγησε και σε διαφοροποίηση της κινητικής πορείας των metribuzin και iprodione από σταθερού σε μεταβαλλόμενου ρυθμού. Στις περιπτώσεις όμως του terbuthylazine και του buprofezin οι ρυθμοί αποδόμησης στο οργανικό υπόστρωμα 50% δεν διαφέρουν στατιστικά από τους ρυθμούς που υπολογίστηκαν στο έδαφος. Ακόμη και μικρά ποσοστά SMS (της τάξης του 5%) είναι σε θέση να προάγουν την αποδόμηση του terbuthylazine σε σύγκριση με το υπόστρωμα που περιέχει μόνο άχυρο (0%). Στις υπόλοιπες περιπτώσεις η αποδόμηση στα δύο αυτά υποστρώματα δεν διαφέρει σημαντικά (**πίνακας 18.1**, **διάγραμμα 18.1**).

Πίνακας 18.1. Κινητικές και στατιστικές παράμετροι που αφορούν την αποδόμηση επτά φ.ο. σε μίγματα εδάφους, άχυρου και εξαντλημένου υποστρώματος ανάπτυξης μανιταριών (ογκομετρική αναλογία SMS στο βιομίγμα 0-50 vol.%). Η εφαρμογή των φ.ο. πραγματοποιήθηκε στην STD:10 δόσης εφαρμογής. Για την περιγραφή της κινητικής πορείας αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε η κινητική πρώτης τάξης ή το μοντέλο hockey stick

| | C ₀ | k ₁ | k ₂ | t _b | r ² | t _{1/2} | Διάστημα εμπιστοσύνης 95% | | sig. | |
|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|---------------------------|-------|------|---|
| | | | | | | | κάτω | άνω | | |
| Terbuthylazine | 0% | 108,7 | 0,012 ± 0,001 | | 0,822 | 57,8 | 49,7 | 69,0 | c | |
| | 5% | 89,5 | 0,018 ± 0,002 | | 0,839 | 38,5 | 31,6 | 49,2 | b | |
| | 15% | 89,8 | 0,020 ± 0,001 | | 0,883 | 34,7 | 31,6 | 38,4 | b | |
| | 50% | 87,9 | 0,024 ± 0,001 | | 0,942 | 28,9 | 26,7 | 31,4 | a | |
| | S1 | 107,4 | 0,026 ± 0,001 | | 0,927 | 26,7 | 24,8 | 28,8 | a | |
| Dimethoate | 0% | 102,9 | 0,197 ± 0,05 | | 0,687 | 3,5 | 2,3 | 7,0 | d | |
| | 5% | 115,1 | 0,250 ± 0,027 | | 0,924 | 2,8 | 2,3 | 3,5 | d | |
| | 15% | 103,1 | 0,346 ± 0,019 | | 0,979 | 2,0 | 1,8 | 2,2 | c | |
| | 50% | 99,7 | 0,827 ± 0,015 | | 0,999 | 0,8 | 0,8 | 0,9 | a | |
| | S1 | 106,7 | 0,519 ± 0,049 | | 0,941 | 1,3 | 1,1 | 1,6 | b | |
| Metribuzin | 0% | 101,0 | 0,033 ± 0,002 | | 0,927 | 21,0 | 18,8 | 23,8 | b | |
| | 5% | 92,6 | 0,031 ± 0,002 | | 0,909 | 22,4 | 19,8 | 25,6 | b | |
| | 15% | 92,2 | 0,032 ± 0,002 | | 0,893 | 21,7 | 19,3 | 24,7 | b | |
| | 50% | 97,8 | 0,100 ± 0,010 | 0,033 ± 0,007 | 12,960 | 0,945 | 6,9 | 5,8 | 8,6 | a |
| | S1 | 75,5 | 0,030 ± 0,001 | | 0,927 | 23,1 | 21,7 | 24,7 | b | |
| Buprofezin | 0% | 103,0 | 0,027 ± 0,002 | | 0,931 | 25,7 | 22,4 | 30,0 | bc | |
| | 5% | 98,8 | 0,021 ± 0,002 | | 0,897 | 33,0 | 27,8 | 40,6 | c | |
| | 15% | 105,4 | 0,030 ± 0,002 | | 0,935 | 23,1 | 20,4 | 26,6 | b | |
| | 50% | 95,5 | 0,043 ± 0,002 | | 0,969 | 16,1 | 14,8 | 17,7 | a | |
| | S1 | 90,5 | 0,035 ± 0,003 | | 0,846 | 19,8 | 17,0 | 23,8 | ab | |
| Iprodione | 0% | 86,3 | 0,011 ± 0,001 | | 0,792 | 63,0 | 53,5 | 76,7 | c | |
| | 5% | 66,9 | 0,013 ± 0,004 | | 0,377 | 53,3 | 33,3 | 134,3 | bc | |
| | 15% | 94,0 | 0,024 ± 0,002 | | 0,829 | 28,9 | 24,8 | 34,5 | b | |
| | 50% | 100,0 | 0,130 ± 0,030 | 0,024 ± 0,002 | 2,912 | 0,88 | 5,3 | 3,7 | 9,7 | a |
| | S1 | 89,0 | 0,019 ± 0,001 | | 0,94 | 36,5 | 33,1 | 40,7 | b | |
| Indoxacarb | 0% | 100,0 | 0,225 ± | 0,011 ± 0,003 | 2,997 | 0,262 | 3,1 | 3,1 | 3,1 | a |
| | 5% | 100,6 | 0,107 ± 0,017 | 0,012 ± 0,005 | 9,606 | 0,455 | 6,5 | 4,9 | 9,4 | b |
| | 15% | 70,0 | 0,020 ± 0,002 | | 0,821 | 34,7 | 29,0 | 43,1 | c | |
| | 50% | 100,0 | 0,240 ± 0,020 | 0,016 ± 0,002 | 3,368 | 0,763 | 2,9 | 2,5 | 3,5 | a |
| | S1 | 99,7 | 0,103 ± 0,005 | 0,020 0,002 | 7,586 | 0,885 | 6,7 | 6,1 | 7,4 | b |
| Azoxystrobin | 0% | 92,3 | 0,071 ± 0,008 | 0,008 ± 0,006 | 20,393 | 0,748 | 9,8 | 8,0 | 12,5 | b |
| | 5% | 106,9 | 0,081 ± 0,010 | 0,012 ± 0,008 | 19,149 | 0,752 | 8,6 | 6,9 | 11,3 | b |
| | 15% | 100,3 | 0,092 ± 0,016 | 0,040 ± 0,010 | 7,000 | 0,889 | 7,5 | 5,6 | 11,4 | b |
| | 50% | 97,1 | 0,228 ± 0,019 | 0,032 ± 0,016 | 8,033 | 0,919 | 3,0 | 2,6 | 3,6 | a |
| | S1 | 91,3 | 0,022 ± 0,001 | | 0,968 | 31,5 | 28,9 | 34,6 | c | |

Γενικά παρατηρήθηκε αύξηση της ικανότητας αποδόμησης των φ.ο. ανάλογη της περιεκτικότητας κάθε βιομίγματος σε SMS. Πράγματι οι υπολογισθείσες τιμές $t_{1/2}$ συσχετίστηκαν αρνητικά με την ογκομετρική αναλογία του SMS στα βιομίγματα με το συντελεστή προσαρμογής (r^2) να λαμβάνει τιμές από 0,67 έως 0,98 για τις διάφορες φ.ο. της μελέτης. Μόνη εξαίρεση στη συμπεριφορά αυτή παρατηρήθηκε για το indoxacarb για το οποίο καμιά σημαντική συσχέτιση δεν ήταν εμφανής.

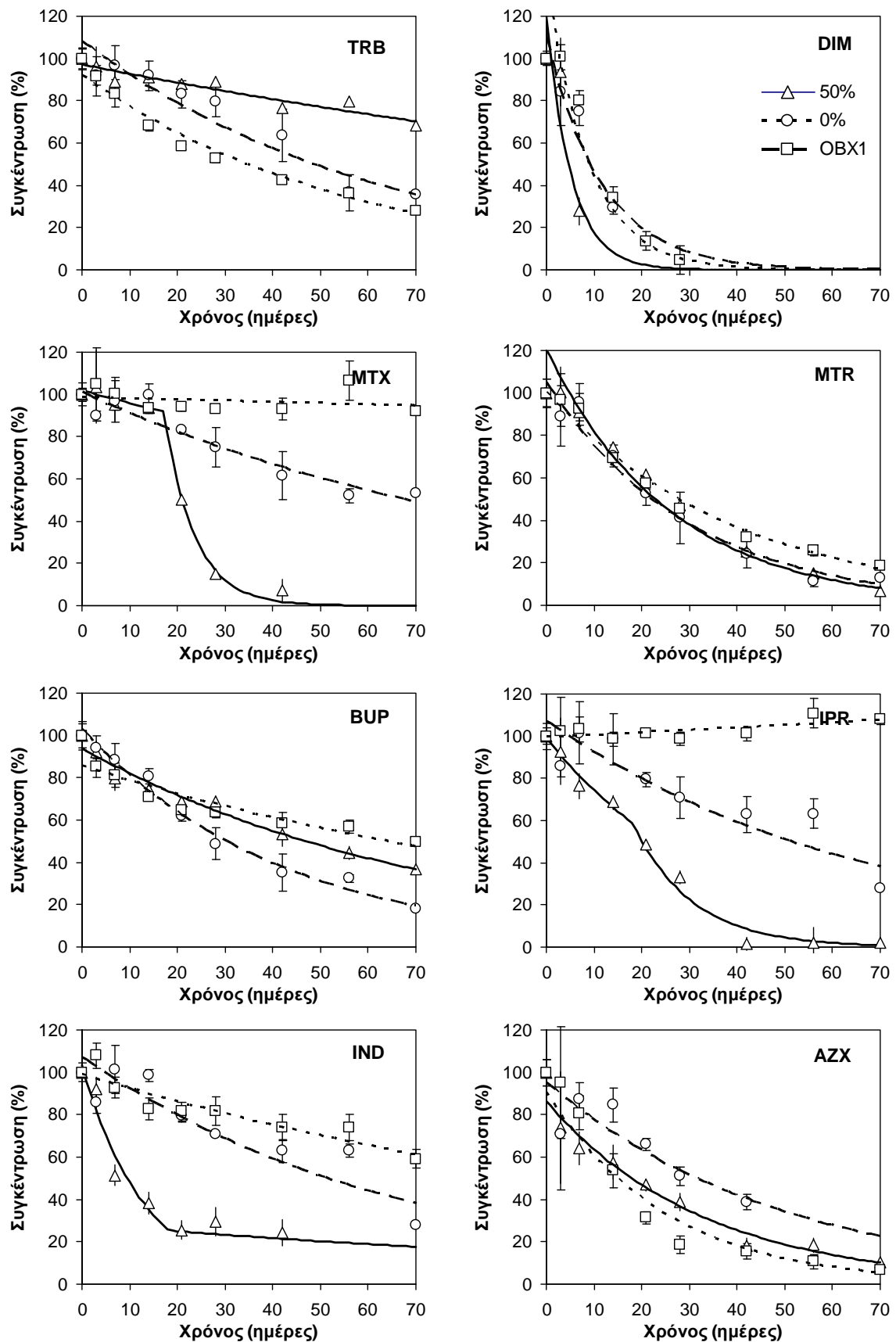


Διάγραμμα 18.1. Οι χρόνοι ημιζωής τεσσάρων διαφορετικής σύστασης βιομιγμάτων που περιέχουν έδαφος (50%), άχυρο (50, 45, 35, 0%) καθώς και εδάφους-μάρτυρα στα οποία έχει εφαρμοστεί μίγμα οκτώ φ.ο. στη δόση εφαρμογής STD:10. Για την ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε ο εκλεκτικός ανιχνευτής ECD

Μεγάλη δόση εφαρμογής

Η αποδόμηση των φ.ο. στο έδαφος (S1) και βιομίγμα 50% (μίγμα SMS και έδαφος, 50:50 vol.%) μελετήθηκε και μετά από δεκαπλάσιασμό της δόσης εφαρμογής των φ.ο. προκειμένου να διαπιστωθεί το κατά πόσο το πλέον αποτελεσματικό υπόστρωμα της προηγούμενης δοκιμής ήταν σε θέση να διατηρήσει την υψηλή αποδομητική ικανότητα του σε πιο έντονες από άποψη τοξικής δράσης συνθήκες. Για λόγους σύγκρισης των αποτελεσμάτων στη δοκιμή συμπεριλήφθηκε και το τυπικό σουηδικό βιομίγμα (OBX1) (πίνακας 18.2).

Στην υψηλή δόση εφαρμογής το υπόστρωμα SMS αποδίδει εξίσου ή καλύτερα σε σχέση με το μάρτυρα (0%) για τις 7 από τις 8 φ.ο. της δοκιμής. Μόνη εξαίρεση αποτέλεσε το terbuthylazine όπου η σχετικά μικρή ταχύτητα αποδόμησης οδήγησε σε τιμές $t_{1/2}$ υψηλότερες των 100 ημερών (πίνακας 18.2). Όσο αφορά τις ουσίες iprodione και metalaxyl-M εμφανίζεται έντονη διαφοροποίηση στην αποδόμηση στα υποστρώματα της δοκιμής και ο ρυθμός μείωσης των υπολειμμάτων ακολουθεί τη σειρά 50% > 0% > OBX. Η παρουσία SMS οδηγεί σε μια αρχική αποδόμηση με ρυθμούς 0,006 και 0,029 για το metalaxyl-M και το iprodione αντίστοιχα τις πρώτες 17-18 ημέρες μετά την εφαρμογή, ενώ μετά το χρόνο διαφοροποίησης η αποδόμηση επιταχύνεται ($k = 0,159$ και $0,080$, αντίστοιχα) οδηγώντας στην πλήρη αποδόμηση των μορίων στο τέλος του χρόνου επώασης. Η μικρότερη διαφοροποίηση στις τιμές $t_{1/2}$ μεταξύ των υποστρωμάτων παρουσιάστηκε για το dimethoate όπου ο αναμενόμενος χρόνος ημιζωής κυμάνθηκε μεταξύ 3 και 8 ημερών.



Διάγραμμα 18.2. Η πορεία αποδόμησης οκτώ φ.ο. σε τρία υποστρώματα: μίγμα SMS και εδάφους (1:1) (Δ), μίγμα άχρουν και εδάφους (ο) και ενός τυπικού σουηδικού βιομίγματος (\square). Η εφαρμογή των φ.ο. πραγματοποιήθηκε στην STD δόση. Για την περιγραφή της κινητικής πορείας αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε η κινητική πρώτης τάξης και το σύνθετο κινητικό μοντέλο hockey stick

Πίνακας 18.2. Κινητικές παράμετροι της αποδόμησης φ.ο. σε έδαφος (S1), σε τυπικό βιομίγμα τύρφης (OBX1) και σε μίγμα εδάφους και άχυρου ή εξαντλημένου υποστρώματος SMS (0%, 50%). Το μίγμα των φ.ο. εφαρμόστηκε στην STD δόση εφαρμογής

| | | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) | Διάστημα εμπιστοσύνης 95% | | sig. |
|----------------------|-------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|---------------------------|-------|------|
| | | | | | | | | κάτω | άνω | |
| | | | | | | | | | | |
| terbutylazine | 50% | 97,1 | 0,005 ± 0,001 | | | 0,750 | 138,6 | 99,6 | 228,0 | b |
| | OBX1 | 92,0 | 0,018 ± 0,001 | | | 0,970 | 38,5 | 34,7 | 43,2 | a |
| | 0% | 108,0 | 0,016 ± 0,002 | | | 0,825 | 43,3 | 34,8 | 57,4 | a |
| | S1 | 90,6 | 0,007 ± 0,001 | | | 0,800 | 108,2 | 82,3 | 157,5 | b |
| dimethoate | 50% | 120,1 | 0,190 ± 0,079 | | | 0,852 | 3,6 | 2,0 | 19,7 | a |
| | OBX1 | 149,6 | 0,123 ± 0,004 | | | 0,981 | 5,6 | 5,3 | 6,0 | a |
| | 0% | 110,6 | 0,087 ± 0,009 | | | 0,909 | 8,0 | 6,6 | 10,0 | a |
| | S1 | 115,5 | 0,118 ± 0,005 | | | 0,972 | 4,9 | 4,3 | 5,8 | a |
| metalaxyl-m | 50% | 101,8 | 0,006 ± 0,003 | 0,159 ± 0,025 | 17,2 | 0,989 | 20,9 | 19,6 | 23,5 | a |
| | OBX1 | 98,6 | 0,001 ± 0,001 | | | 0,027 | +∞ | — | — | d |
| | 0% | 101,5 | 0,011 ± 0,001 | | | 0,838 | 63,0 | 53,5 | 76,7 | b |
| | S1 | 88,9 | 0,004 ± 0,001 | | | 0,697 | 177,1 | 112,5 | 415,8 | c |
| metribuzin | 50% | 120,3 | 0,039 ± 0,001 | | | 0,973 | 17,8 | 16,9 | 18,7 | b |
| | OBX1 | 100,0 | 0,025 ± 0,001 | | | 0,978 | 27,7 | 25,7 | 30,1 | c |
| | 0% | 108,5 | 0,036 ± 0,002 | | | 0,928 | 19,3 | 17,4 | 21,6 | b |
| | S1 | 96,8 | 0,059 ± 0,009 | 0,016 ± 0,002 | 11,8 | 0,964 | 11,7 | 10,3 | 13,2 | a |
| buprofezin | 50% | 93,8 | 0,014 ± 0,001 | | | 0,935 | 49,5 | 43,4 | 57,6 | b |
| | OBX1 | 85,7 | 0,008 ± 0,001 | | | 0,833 | 86,6 | 69,6 | 114,8 | c |
| | 0% | 101,1 | 0,023 ± 0,001 | | | 0,935 | 30,1 | 27,8 | 32,9 | a |
| | S1 | 84,5 | 0,008 ± 0,001 | | | 0,728 | 86,6 | 69,6 | 114,7 | c |
| iprodione | 50% | 99,3 | 0,029 ± 0,008 | 0,080 ± 0,024 | 18,0 | 0,934 | 20,2 | 14,6 | 31,8 | a |
| | OBX1 | 99,2 | 0,001 ± 0,001 | | | 0,198 | +∞ | — | — | c |
| | 0% | 101,8 | 0,012 ± 0,002 | | | 0,696 | 57,8 | 43,5 | 85,8 | b |
| | S1 | 85,9 | 0,008 ± 0,001 | | | 0,745 | 86,6 | 69,6 | 114,7 | b |
| indoxacarb | 50% | 103,4 | 0,077 ± 0,007 | 0,007 ± 0,003 | 18,2 | 0,941 | 9,0 | 7,6 | 11,0 | a |
| | OBX1 | 98,7 | 0,006 ± 0,001 | | | 0,708 | 115,5 | 87,1 | 171,6 | c |
| | 0% | 102,0 | 0,023 ± 0,002 | | | 0,824 | 30,1 | 25,7 | 36,3 | b |
| | S1 | 128,1 | 0,090 ± 0,028 | 0,017 ± 0,009 | 16,9 | 0,621 | 7,7 | 7,2 | 8,7 | a |
| azoxystrobin | 50% | 87,3 | 0,032 ± 0,002 | | | 0,900 | 21,7 | 19,3 | 24,7 | b |
| | OBX1 | 106,9 | 0,053 ± 0,005 | 0,029 ± 0,030 | 29,8 | 0,935 | 13,1 | 11,0 | 16,0 | a |
| | 0% | 94,3 | 0,021 ± 0,003 | | | 0,737 | 33,0 | 25,8 | 45,8 | c |
| | S1 | 79,6 | 0,010 ± 0,001 | | | 0,730 | 69,3 | 57,9 | 86,2 | d |

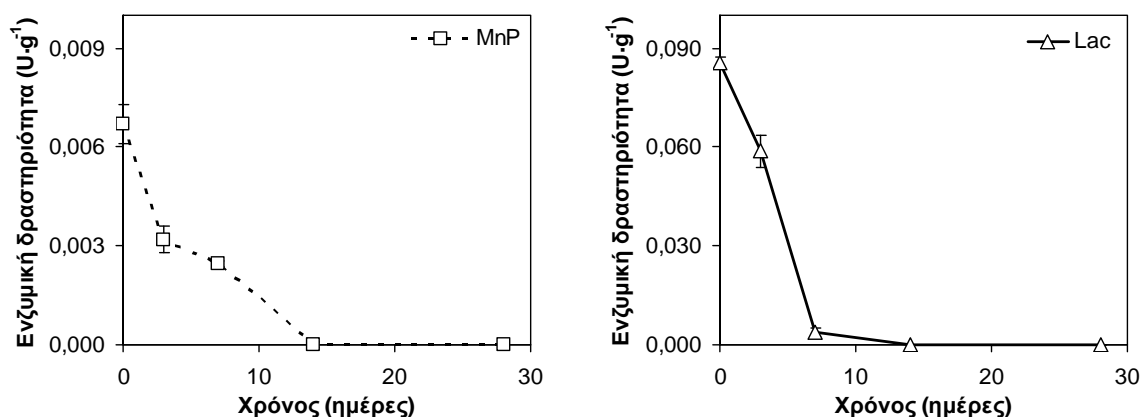
Οι παρατηρούμενοι ρυθμοί αποδόμησης στο βιομίγμα 50% ήταν μικρότεροι από αυτούς που υπολογίστηκαν στη μικρότερη δόση εφαρμογής. Οι χρόνοι ημιζωής διαφοροποιήθηκαν με ένα συντελεστή που κυμάνθηκε από 2,8 (metribuzin) έως 7,2 (azoxystrobin). Γενικά οι τιμές t_{1/2} που υπολογίστηκαν στο υπόστρωμα SMS (50%) και στις δύο δόσεις εφαρμογής είναι συγκρίσιμες με αυτές που υπολογίστηκαν στα βιομίγματα που περιέχουν κομπόστα (**κεφάλαιο 15**). Για παράδειγμα η σύγκριση μεταξύ ενεργού βιομίγματος SMS (50%) και του βιομίγματος κομπόστας από φύλλα ελιάς (BX2) έδειξε ότι οι χρόνοι ημιζωής όλων των ουσιών ήταν παραπλήσιοι και στις δύο περιπτώσεις με μικρές διαφοροποιήσεις ανά ουσία. Οι σχετικά υψηλοί ρυθμοί αποδόμησης που βρέθηκαν αποδεικνύουν ότι το υπόστρωμα SMS μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συστήματα απορρύπανσης

νερού, όπως οι βιοκλίνες, με την αποτελεσματικότητα του συστήματος να είναι ανάλογη της ογκομετρικής αναλογίας του SMS στο βιομίγμα.

18.3. Ενζυμική δραστηριότητα υποστρώματων παρουσία SMS

Η μέτρηση της δραστηριότητας των φαινολοξειδασών, που αντιπροσωπεύουν τον κύριο οξειδωτικό ενζυμικό εξοπλισμό του μύκητα, έδειξε μια ταχεία μείωση της δραστηριότητας σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά την εφαρμογή του μίγματος των φ.ο. Η δραστηριότητα της Lac εμφανίζει μείωση της τάξης του 95%, σε διάστημα 7 ημερών, σε σχέση με την αρχικά υπολογισθείσα, ενώ πλήρης αναστολή της δραστηριότητας του ένζυμου είναι εμφανής δύο εβδομάδες από την εφαρμογή (**διάγραμμα 18.3**). Η ίδια πορεία παρατηρήθηκε επίσης στην περίπτωση του ένζυμου MnP αν και στην περίπτωση αυτή η απώλεια της ενζυμικής δραστηριότητας προχωρά με πιο βραδύ ρυθμό. Η ταχεία μείωση της δραστηριότητας των φαινολοξειδασών υποδηλώνει ότι τα ένζυμα αυτά έχουν μικρή συνεισφορά στην αποδομητική ικανότητα του υποστρώματος SMS. Η αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητας μπορεί να αποδοθεί στην τοξική δράση των φ.ο. στο μύκητα ή σε περιορισμό της ανάπτυξης του μύκητα λόγω έντονου ανταγωνισμού με τη μικροχλωρίδα των οργανικών υποστρώματων.

Άλλες εργασίες αναφέρουν ότι σε υποστρώματα φορτισμένα με οργανικούς ρύπους (PAH) ο μύκητας *P. ostreatus* παράγαγε σημαντικά λιγότερη Lac και MnP (Novotny et al., 1999). Το γεγονός ότι το SMS αποδίδει καλύτερα από το μη κομποστοποιημένο άχυρο παρά την ασήμαντη συνεισφορά των φαινολοξειδασών δηλώνει τη εμπλοκή άλλων βιοχημικών μηχανισμών αποδόμησης (Bending et al., 2002). Η αποδόμηση μπορεί να αποδοθεί σε ομάδες μικροοργανισμών συμπεριλαμβανομένων των μυκήτων και ποικίλων ομάδων βακτηρίων τα οποία αξιοποιούν το πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά μυκήλιο του μύκητα *P.ostreatus* (Law et al., 2003; Kuo and Regan, 1992; Semple et al., 1998) ή σε ένζυμα ενδογενών μυκήτων και βακτηρίων που βρίσκονται ακινητοποιημένα στο υπόστρωμα ανάπτυξης (Lau et al., 2003). Επιπλέον η καταβολική δραστηριότητα ενζυμικών συστημάτων διαφορετικών από αυτά των φαινολοξειδασών (π.χ. το σύμπλοκο μονοξυγενασών του κυτοχρώματος p-450) που παράγονται από τον *P. ostreatus* είναι σε θέση να συνεισφέρει στην ταχεία μείωση των υπολειμμάτων πολλών φ.ο. ή άλλων ξеноβιοτικών ουσιών (Bezalel et al., 1997; Kullman and Matsumura., 1996; Mougín et al, 1997)



Διάγραμμα 18.3. Εκτίμηση της δραστηριότητας της MnP (\square) και της Lac (Δ) σε χρόνους 0, 3, 7, 14 και 28 ημέρες μετά την εφαρμογή του μίγματος φ.ο. στο έδαφος (S1) και στο βιομίγμα που περιέχει εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης μυκήτων (50%)

Επίδραση θερμοκρασίας και επαναλαμβανόμενης εφαρμογής στην αποδόμηση μίγματος ουσιών στο έδαφος και σε οργανικά υποστρώματα

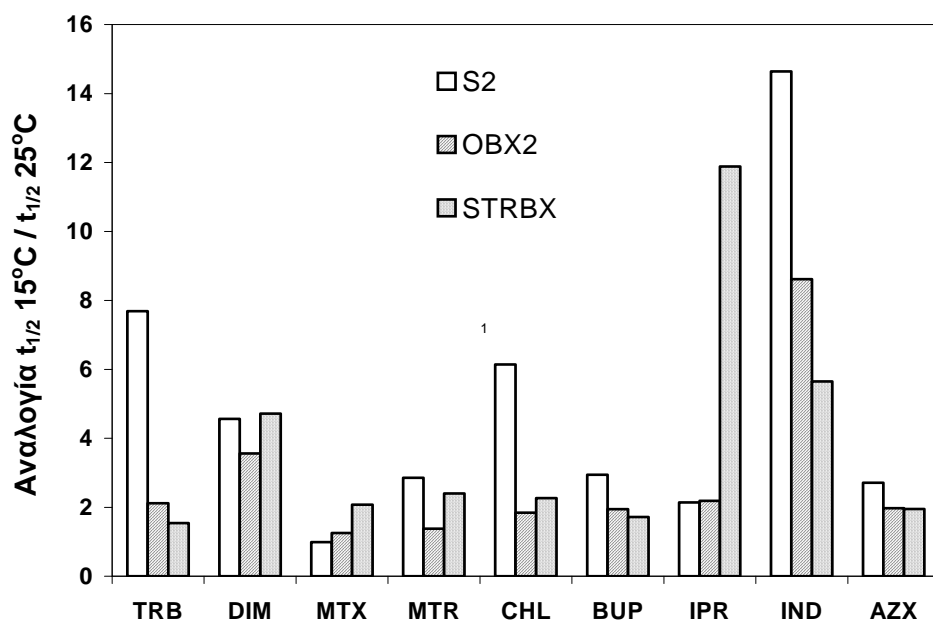
19.1. Επίδραση της θερμοκρασίας στην αποδόμηση σε βιομίγματα

Η αποδομητική ικανότητα δύο οργανικών υποστρωμάτων, ενός βιομίγματος με βάση την κομπόστα (STRBX), ενός τυπικού βιομίγματος με βάση τη τύρφη (OBX2) και του εδάφους (S2) μελετήθηκε μετά από εφαρμογή μίγματος 9 φ.ο. (terbuthylazine, dimethoate, metalaxyl-M, metribuzin, buprofezin, iprodione, indoxacarb, azoxystrobin και chlorpyrifos) στην STD δόση εφαρμογής και μετά από επώαση σε θερμοκρασίες 15 και 25°C. Οι δύο επιλεγμένες θερμοκρασίες αντιπροσωπεύουν τη χαμηλότερη και υψηλότερη τιμή της θερμοκρασίας κατά την εαρινή περίοδο, όπου λαμβάνει χώρα το μεγαλύτερο μέρος των ετήσιων εφαρμογών φ.ο. Για την εκτίμηση της επίδρασης της θερμοκρασίας στους ρυθμούς της αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε ο λόγος των τιμών $t_{1/2}$ στις δύο θερμοκρασίες επώασης. Η αναλογία των ρυθμών αποδόμησης σε θερμοκρασίες που διαφέρουν μεταξύ τους κατά 10°C έχει χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της επίδρασης της θερμοκρασίας στην αποτίμηση της περιβαλλοντικής έκθεσης από τη χρήση φ.ο. (EFSA, 2007). Η τιμή του συντελεστή επίδρασης της θερμοκρασίας για δεδομένη φ.ο. θεωρείται σταθερή για ένα εύρος θερμοκρασιών μεταξύ 0 και 30°C.

Σε ορισμένες περιπτώσεις η μείωση των υπολειμμάτων ορισμένων φ.ο. δεν ήταν σταθερή στην πορεία του χρόνου και η χρήση ενός σύνθετου κινητικού μοντέλου, που περιελάμβανε δύο κινητικές παραμέτρους (k_1 και k_2), ήταν απαραίτητη. Στις περιπτώσεις αυτές η επίδραση της θερμοκρασίας στο τελικό αποτέλεσμα υπολογίστηκε από το λόγο των $t_{1/2}$ στις θερμοκρασίες 15 και 25°C. Οι παράμετροι των κινητικών μοντέλων που χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή της πορείας των υπολειμμάτων των φ.ο. συνοψίζονται στον **πίνακα 19.1**. Ο συντελεστής επίδρασης της θερμοκρασίας σε κάθε περίπτωση λαμβάνει τιμές μεταξύ 0,99 και 14,64. Οι υψηλές τιμές του συντελεστή φανερώνουν τη σημαντική θετική συνεισφορά της θερμοκρασίας στην αποδόμηση των φ.ο. στα βιομίγματα (**διάγραμμα 19.1**). Οι διαφορές μεταξύ των τιμών των συντελεστών μπορούν να μεταφραστούν ως

αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης μεταξύ θερμοκρασίας, φ.ο. και του χρησιμοποιούμενου υποστρώματος. Η διαφοροποίηση στην επίδραση της θερμοκρασίας με το εξεταζόμενο υπόστρωμα έχει παρατηρηθεί στο παρελθόν. Η επίδραση της θερμοκρασίας στην αποδόμηση του καπνιστικού 1,3-D στο έδαφος διαφοροποιήθηκε στο έδαφος στο οποίο είχε ενσωματωθεί εξωγενής οργανική ύλη σε σχέση με έδαφος χωρίς καμία μεταχείριση (Dungan et al., 2001).

Σε ορισμένες περιπτώσεις στη δοκιμή μας οι αυξημένοι ρυθμοί αποδόμησης στις υψηλές θερμοκρασίες αναφοράς συνοδεύτηκαν από μεταβολές στην κινητική συμπεριφορά από σταθερού ρυθμού αποδόμησης σε καθαρά διφασική, όπως στην περίπτωση του metalaxyl-M και του iprodione στο υπόστρωμα STRBX και των ουσιών chlorpyrifos, indoxacarb στο έδαφος.



Διάγραμμα 19.1. Ο συντελεστής επίδρασης της θερμοκρασίας υπολογισμένος από το λόγο του χρόνου $t_{1/2}$ για κάθε ουσία μετά από επώαση σε θερμοκρασίες 15 και 25°C

Γενικά, φαίνεται η θερμοκρασία να επηρεάζει τους ρυθμούς αποδόμησης στο έδαφος σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι στα οργανικά υποστρώματα. Το έδαφος παρουσίασε την υψηλότερη τιμή του συντελεστή επίδρασης της θερμοκρασίας για τα terbutylazine, metribuzin, buprofezin και azoxystrobin σε σχέση με άλλα υποστρώματα. Αυτό σημαίνει ότι η υψηλή αποτελεσματικότητα των βιομιγμάτων έναντι του εδάφους στην αποδόμηση αυτών των ουσιών γίνεται εντονότερη όταν αντί της τυπικής θερμοκρασίας αναφοράς των 25°C η θερμοκρασία επώασης είναι μικρότερη κατά 10°C. Ειδικά για την περίπτωση του terbutylazine η τιμή του συντελεστή επίδρασης (7,69) είναι πολύ υψηλότερη από τις αντίστοιχες τιμές στα STRBX και OBX2 υποστρώματα (2,12 και 1,54 αντίστοιχα) γεγονός που φανερώνει την αδυναμία του εδάφους να αποδομήσει αυτό το ζιζανιοκτόνο σε χαμηλές θερμοκρασίες. Τιμή συντελεστή επίδρασης της θερμοκρασίας της τάξης του 4 έχει προηγουμένως αναφερθεί για το terbutylazine στο έδαφος (Vischetti et al., 1998). Συγκρίνοντας τα βιομίγματα OBX2 και STRBX η τιμή του συντελεστή επίδρασης φαίνεται να διαφοροποιείται μόνο ανά περίπτωση. Η επίδραση της θερμοκρασίας ήταν υψηλότερη για τα terbutylazine, azoxystrobin, buprofezin και indoxacarb στο OBX2 υπόστρωμα και για τα dimethoate, metalaxyl-M, metribuzin, chlorpyrifos και iprodione στο υπόστρωμα με βάση τη κομπόστα (STRBX). Προηγούμενη μελέτη έδειξε ότι η θερμοκρασία επώασης είχε σημαντική επίδραση στην αποτελεσματικότητα αποδόμησης του τυπικού

σοηδικού υποστρώματος καθώς καθώς οι μικρότεροι ρυθμοί αποδόμησης παρατηρήθηκαν σε χαμηλές (10°C) και εξαιρετικά χαμηλές (2°C) θερμοκρασίες (Castillo and Torstensson, 2007).

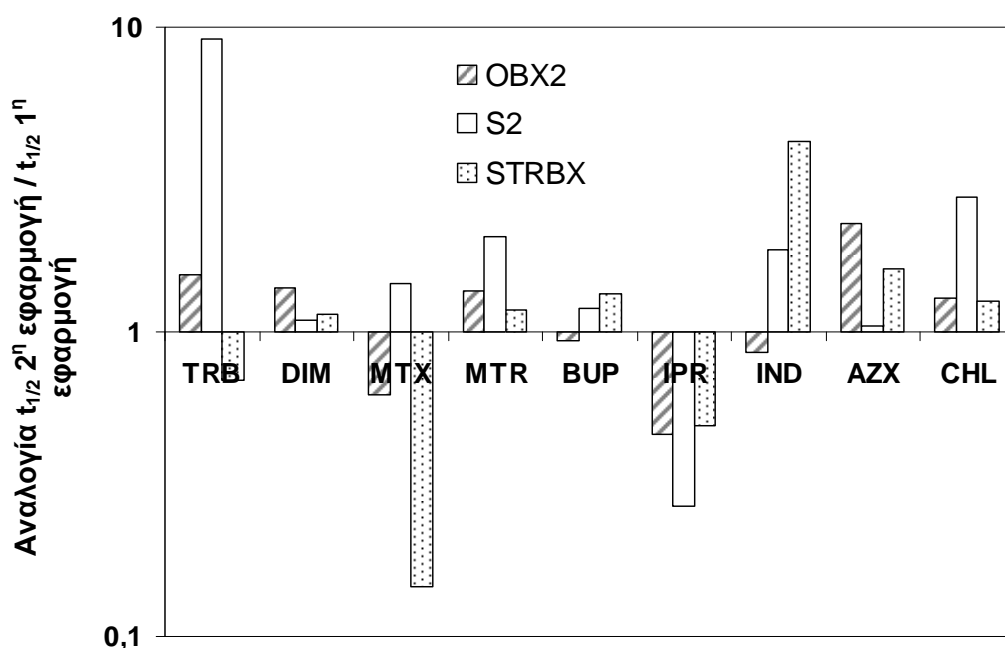
Η σημαντική συμβολή τη θερμοκρασίας ήταν εμφανής στις περιπτώσεις του dimethoate και ιδιαίτερα του indoxacarb και αφορούσε και τα τρία υποστρώματα της δοκιμής. Στην περίπτωση του dimethoate το εύρος των τιμών αυτών ήταν 3,5 έως 4,8 (για το OBX2 και το STRBX βιομίγμα αντίστοιχα). Για το indoxacarb η εκτιμωμένη τιμή $t_{1/2}$ στους 25°C ήταν 6 με 14 φορές υψηλότερη από την αντίστοιχη τιμή στη χαμηλή θερμοκρασία. Σχετικά χαμηλές τιμές συντελεστή επίδρασης της θερμοκρασίας σε όλα τα υποστρώματα υπολογίστηκαν για το metalaxyl-M, το metribuzin, το buprofezin και για το azoxystrobin.

19.2. Επίδραση της επαναλαμβανόμενης εφαρμογής των φ.π. στην αποτελεσματικότητα των βιομιγμάτων

Προκειμένου να διαπιστωθεί η επίδραση της προηγούμενης έκθεσης στις παραμέτρους αποδόμησης των φ.ο. ένα μίγμα 9 ουσιών εφαρμόστηκε δύο φορές στα υποστρώματα σε διάστημα 90 ημερών και στην ίδια δόση (STD). Θεωρητικά δύο ή περισσότερες διαδοχικές εφαρμογές της ίδιας ουσίας κατά την ίδια καλλιεργητική περίοδο είναι μέρος της αγροτικής πρακτικής με το χρονικό διάστημα μεταξύ των διαδοχικών επεμβάσεων τυπικά να είναι μερικές ημέρες ή εβδομάδες. Έτσι το χρονικό διάστημα των 90 ημερών μεταξύ των διαδοχικών γεγονότων που επιλέχθηκε στη δοκιμή δεν αποτελεί ρεαλιστικό σενάριο. Παρόλα αυτά επιλέχθηκε για να μετριάσει ή να εξουδετερώσει την επίδραση των υπολειμμάτων από την πρώτη εφαρμογή στις παραμέτρους αποδόμησης της δεύτερης εφαρμογής. Τα φορτισμένα υποστρώματα παρέμειναν σε θάλαμο επώασης (θερμοκρασία 25°C) μετά την αρχική εφαρμογή, άλλα και μετά τη δεύτερη (συμπληρωματική) εφαρμογή.

Ο χρόνος διάσπασης των φ.ο. στην πρώτη εφαρμογή διαφοροποιείται σημαντικά μεταξύ των υποστρωμάτων. Γενικά η αποτελεσματικότητα αποδόμησης των υποστρωμάτων ακολούθησε τη σειρά STRBX>OBX2>S2 που βρίσκεται σε συμφωνία με προηγούμενα αποτελέσματα (**κεφάλαιο 15**). Για τη συμπληρωματική εφαρμογή του μίγματος των φ.ο. στο έδαφος η αποδόμηση προχωρά πιο αργά και οι εκτιμωμένες τιμές $t_{1/2}$ είναι γενικά υψηλότερες των αντίστοιχων της πρώτης εφαρμογής με ένα μέσο συντελεστή επίδρασης ίσο με 2,9. Η ίδια τάση, αν και λιγότερο έντονη, μπορεί να παρατηρηθεί και στα βιομίγματα με τους αντίστοιχους μέσους συντελεστές επίδρασης να είναι 1,3 και 1,2 για τα BX και OBX υποστρώματα αντίστοιχα. Η αδυναμία του εδάφους και των βιομιγμάτων να διατηρήσουν την αρχική ικανότητα αποδόμησης σε επακόλουθες εφαρμογές μπορεί να αποδωθεί στη μείωση της συνολικής μικροβιακής δραστηριότητας που συνδέεται με την αντιμικροβιακή δράση των υψηλών συγκεντρώσεων των φ.ο. που συσσωρεύτηκαν. Στο chlorpyrifos η μικρή διάρκεια παραμονή στο έδαφος (5,7 ημέρες) στην αρχική εφαρμογή δεν διατηρήθηκε στη δεύτερη εφαρμογή με αποτέλεσμα ο εκτιμωμένος χρόνος ημιζωής στην συμπληρωματική εφαρμογή να είναι σχεδόν 5 φορές υψηλότερος από αυτόν της αρχικής εφαρμογής (**διάγραμμα 19.2**). Μειωμένοι ρυθμοί αποδόμησης 6 φ.ο., συμπεριλαμβανομένου και του chlorpyrifos, μετά από δεύτερη εφαρμογή του ίδιου μίγματος ουσιών τόσο σε βιομίγμα με βάση τη κομπόστα όσο και στο έδαφος έχουν παρατηρηθεί και σε άλλες εργασίες στο παρελθόν (Fogg et al., 2003). Η τάση για μείωση του ρυθμού αποδόμησης λόγω της τοξικής δράσης των φ.ο. σε ορισμένες περιπτώσεις αντισταθμίζεται από φαινόμενα επιταχυνόμενης βιοαποδόμησης. Για παράδειγμα το iprodione αποδομήθηκε σε συγκριτικά υψηλότερους ρυθμούς

κατά τη δεύτερη εφαρμογή. Οι υψηλοί ρυθμοί αποδόμησης του iprodione, που ήταν εμφανείς σε όλα τα υποστρώματα της δοκιμής, οδήγησαν σε χρόνους $t_{1/2}$ που κυμάνθηκαν από 1,5 έως 13 ημέρες για το έδαφος και το βιομίγμα OBX2 αντίστοιχα. Οι τιμές αυτές είναι τουλάχιστο κατά 2 φορές χαμηλότερες από αυτές που υπολογίστηκαν στην αρχική εφαρμογή. Αυτή η τάση για υψηλότερους ρυθμούς αποδόμησης του iprodione έχει αναφερθεί και σε προηγούμενη μελέτη, σύμφωνα με την οποία η επιταχυνόμενη αποδόμηση του iprodione στο έδαφος επιτεύχθηκε μετά από μια προγενέστερη εφαρμογή της ουσίας τόσο σε εργαστηριακές δοκιμές όσο και σε πειράματα αγρού (Walker et al., 1986). Η ανάπτυξη του εξελικτικού φαινομένου της επιταχυνόμενης βιοαποδόμησης βασίζεται σε μεταβολές στη σύνθεση της μικροβιακής κοινότητας που ευνοεί τον πολλαπλασιασμό των μικροβιακών πληθυσμών που είναι υπεύθυνοι για τον μεταβολισμό του iprodione.



Διάγραμμα 19.2. Ο συντελεστής επίδρασης της επαναλαμβανόμενης εφαρμογής μίγματος φ.ο. στους χρόνους ημιζωής εννέα φ.ο. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται σε λογαριθμική κλίμακα

Η επιτάχυνση της αποδόμησης του metalaxyl-M ήταν επίσης εμφανής μετά από προηγούμενη έκθεση των οργανικών βιομιγμάτων (STRBX και OBX2) στην ουσία αυτή. Η επίδραση της επαναλαμβανόμενης εφαρμογής στις παραμέτρους αποδόμησης του metalaxyl-M ήταν ιδιαίτερα έντονη στο βιομίγμα κομπόστας καθώς η τιμή $t_{1/2}$ μειώθηκε με ένα συντελεστή ίσο με 7. Σε προηγούμενη μελέτη σε βιομίγμα με βάση την κομπόστα διαπιστώθηκε ότι ακόμη και μια εφαρμογή του metalaxyl-M δημιουργεί προϋποθέσεις εμφάνισης μικροβιακού πληθυσμού ενεργοποιημένου ως προς την αποδόμηση του ίδιου μορίου και συμβάλει στην επιταχυνόμενη αποδόμηση του σε επόμενες εφαρμογές της ουσίας (Vischetti et al., 2008). Στη δοκιμή μας η ενεργοποίηση του βιομιγματος με βάση την κομπόστα ως προς την αποδόμηση του metalaxyl-M συνοδεύτηκε και από μεταβολή της μορφής αποδόμησης από διφασική με παρατεταμένη αρχική περίοδο προσαρμογής σε σταθερού ρυθμού. Στην περίπτωση του εδάφους όμως η αργή αποδόμηση του metalaxyl-M διατηρείται και μετά τη δεύτερη εφαρμογή. Πιθανή εξήγηση της μη ενεργοποίησης του εδάφους είναι η σχετική απουσία μικροβιακών αποδομητών στο έδαφος που να μπορούν να μεταβολίσουν την ουσία αυτή ως πηγή ενέργειας και έτσι η αποδόμηση είναι περισσότερο αποτέλεσμα συμμεταβολικών διεργασιών. Οι

συμμεταβολικές όμως διεργασίες δεν επηρεάζεται από προηγούμενη έκθεση στην ίδια ουσία (Robertson and Alexander, 1994).

Πίνακας 19.1. Οι παράμετροι αποδόμησης εννέα φ.ο. σε τρία υποστρώματα (S2, STRBX, OBX2). Η επώαση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες 15°C (S₁₅, BX₁₅, OBX₁₅) και 25°C (S₂₅, BX₂₅, OBX₂₅). Επίσης παρουσιάζονται και οι παράμετροι αποδόμησης των φ.ο. στα ίδια υποστρώματα που υπολογίστηκαν μετά από επανάληψη της εφαρμογής του ίδιου μίγματος ουσιών (S_R, BX_R, OBX_R) σε θερμοκρασία 25°C

| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) | | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) |
|---------------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|---------------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|
| TRB S₂₅ | 100,1 | 0,003 | | | 0,698 | 259,1 | CHL S₂₅ | 100,0 | 0,142 | 0,041 | 4,6 | 0,995 | 5,7 |
| S₁₅ | 99,1 | 0,000 | | | 0,247 | 1991,8 | S₁₅ | 90,9 | 0,020 | | | 0,992 | 34,7 |
| S_R | 102,6 | 0,000 | | | 0,075 | 2310,5 | S_R | 82,9 | 0,044 | | | 0,975 | 15,7 |
| OBX₂₅ | 88,0 | 0,019 | | | 0,944 | 35,7 | OBX₂₅ | 93,5 | 0,013 | | | 0,976 | 53,3 |
| OBX₁₅ | 94,3 | 0,009 | | | 0,929 | 75,6 | OBX₁₅ | 101,5 | 0,007 | | | 0,839 | 98,4 |
| OBX_R | 93,5 | 0,013 | | | 0,952 | 55,0 | OBX_R | 95,3 | 0,010 | | | 0,903 | 68,9 |
| BX₂₅ | 90,1 | 0,008 | | | 0,805 | 91,7 | BX₂₅ | 78,5 | 0,017 | | | 0,924 | 41,9 |
| BX₁₅ | 94,5 | 0,005 | | | 0,910 | 141,3 | BX₁₅ | 90,5 | 0,007 | | | 0,927 | 95,0 |
| BX_R | 99,2 | 0,011 | | | 0,977 | 63,7 | BX_R | 109,4 | 0,013 | | | 0,924 | 53,0 |
| DIM S₂₅ | 94,7 | 0,083 | | | 0,998 | 8,3 | BUP S₂₅ | 91,1 | 0,011 | | | 0,976 | 60,7 |
| S₁₅ | 89,9 | 0,018 | | | 0,961 | 38,0 | S₁₅ | 92,9 | 0,004 | | | 0,906 | 178,3 |
| S_R | 98,8 | 0,074 | 0,018 | 28,8 | 0,981 | 9,1 | S_R | 102,4 | 0,010 | | | 0,900 | 72,0 |
| OBX₂₅ | 133,8 | 0,195 | | | 0,931 | 3,6 | OBX₂₅ | 93,6 | 0,010 | | | 0,936 | 68,5 |
| OBX₁₅ | 118,5 | 0,055 | | | 0,907 | 12,7 | OBX₁₅ | 96,7 | 0,005 | | | 0,920 | 133,1 |
| OBX_R | 92,8 | 0,139 | | | 0,990 | 5,0 | OBX_R | 93,9 | 0,011 | | | 0,976 | 64,4 |
| BX₂₅ | 124,2 | 0,528 | | | 0,969 | 1,3 | BX₂₅ | 82,8 | 0,014 | | | 0,911 | 51,2 |
| BX₁₅ | 111,2 | 0,112 | | | 0,923 | 6,2 | BX₁₅ | 91,2 | 0,008 | | | 0,970 | 88,3 |
| BX_R | 100,9 | 0,452 | | | 0,999 | 1,5 | BX_R | 97,1 | 0,010 | | | 0,968 | 68,1 |
| MTX S₂₅ | 99,6 | 0,002 | | | 0,632 | 435,4 | IPR S₂₅ | 97,8 | 0,121 | 0,035 | 7,7 | 0,990 | 5,7 |
| S₁₅ | 91,5 | 0,002 | | | 0,512 | 429,2 | S₁₅ | 101,2 | 0,057 | 0,011 | 18,9 | 0,994 | 12,3 |
| S_R | 102,0 | 0,001 | | | 0,249 | 630,7 | S_R | 100 | 0,454 | 0,003 | 5,3 | 0,998 | 1,5 |
| OBX₂₅ | 85,0 | 0,006 | | | 0,789 | 113,6 | OBX₂₅ | 88,1 | 0,025 | | | 0,932 | 28,2 |
| OBX₁₅ | 93,0 | 0,005 | | | 0,828 | 142,9 | OBX₁₅ | 100,4 | 0,011 | | | 0,985 | 61,5 |
| OBX_R | 107,0 | 0,010 | | | 0,744 | 70,5 | OBX_R | 89,6 | 0,053 | | | 0,949 | 13,0 |
| BX₂₅ | 103,6 | 0,004 | 0,074 | 36,4 | 0,981 | 43,7 | BX₂₅ | 100,0 | 0,163 | 0,038 | 5,1 | 0,991 | 4,3 |
| BX₁₅ | 109,1 | 0,008 | | | 0,920 | 90,7 | BX₁₅ | 86,1 | 0,014 | | | 0,930 | 50,6 |
| BX_R | 139,6 | 0,108 | | | 0,964 | 6,4 | BX_R | 99,9 | 0,323 | 0,013 | 9,9 | 0,999 | 2,1 |
| MTR S₂₅ | 94,1 | 0,014 | | | 0,986 | 50,4 | IND S₂₅ | 96,9 | 0,101 | 0,011 | 7,6 | 0,980 | 6,9 |
| S₁₅ | 88,3 | 0,005 | | | 0,846 | 143,8 | S₁₅ | 82,9 | 0,007 | | | 0,876 | 100,7 |
| S_R | 99,8 | 0,007 | | | 0,943 | 103,0 | S_R | 110,2 | 0,054 | | | 0,937 | 12,8 |
| OBX₂₅ | 82,9 | 0,028 | | | 0,950 | 24,8 | OBX₂₅ | 92,2 | 0,009 | | | 0,827 | 80,4 |
| OBX₁₅ | 98,2 | 0,020 | | | 0,949 | 34,2 | OBX₁₅ | 95,6 | 0,001 | | | 0,269 | 693,1 |
| OBX_R | 96,2 | 0,021 | | | 0,987 | 33,7 | OBX_R | 95,3 | 0,010 | | | 0,758 | 68,4 |
| BX₂₅ | 112,1 | 0,038 | | | 0,963 | 18,4 | BX₂₅ | 100,0 | 0,119 | 0,010 | 5,5 | 0,943 | 5,8 |
| BX₁₅ | 107,4 | 0,016 | | | 0,988 | 44,3 | BX₁₅ | 99,3 | 0,021 | 0,003 | 13,8 | 0,949 | 33,0 |
| BX_R | 101,9 | 0,032 | | | 0,998 | 21,8 | BX_R | 115,3 | 0,028 | | | 0,901 | 24,7 |
| AZX S₂₅ | 91,3 | 0,007 | | | 0,945 | 102,2 | | | | | | | |
| S₁₅ | 96,9 | 0,003 | | | 0,927 | 277,1 | | | | | | | |
| S_R | 105,06 | 0,006 | | | 0,831 | 108,0 | | | | | | | |
| OBX₂₅ | 98,2 | 0,035 | 0,002 | 19,5 | 0,970 | 21,3 | | | | | | | |
| OBX₁₅ | 100,0 | 0,017 | 0,001 | 19,4 | 0,927 | 42,1 | | | | | | | |
| OBX_R | 105,8 | 0,014 | | | 0,907 | 48,4 | | | | | | | |
| BX₂₅ | 82,9 | 0,028 | | | 0,961 | 24,7 | | | | | | | |
| BX₁₅ | 93,7 | 0,014 | | | 0,936 | 48,1 | | | | | | | |
| BX_R | 93,0 | 0,017 | | | 0,929 | 39,6 | | | | | | | |

Αποδόμηση των chlorpyrifos, terbuthylazine και metribuzin και παραγωγή μεταβολιτών

20.1. Εισαγωγή

Παρά τον σημαντικό αριθμό των ερευνών που έχουν πραγματοποιηθεί αναφορικά με την τύχη των φ.ο. που καταλήγουν στο ενεργό βιομίγμα ενός συστήματος βιοκλίνης δεν υπάρχουν δεδομένα που να αφορούν τα μεταβολικά μονοπάτια της αποδόμησης, τις συγκεντρώσεις σχηματισμού των διάφορων μεταβολιτών και της τύχης των προϊόντων της αποδόμησης στο βιομίγμα, κυρίως τη δυνατότητα κάθετης μετακίνησης τους και ανίχνευσής τους στο έκπλυμα. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε η εφαρμογή καθεμίας από τις φ.ο. terbuthylazine, metribuzin και chlorpyrifos στο έδαφος και σε τρία βιομίγματα διαφορετικής σύστασης. Όσο αφορά τη μελέτη της ουσίας terbuthylazine τα υποστρώματα που σχηματίστηκαν ήταν έδαφος (S1), μίγμα του ίδιου εδάφους με άχυρο και κομπόστα από ελαιόφυλλα (BX2), βιομίγμα που περιέχει έδαφος, άχυρο και κομπόστα βαμβακόπιτας (BX5), καθώς και ένα τυπικό βιομίγμα τύρφης (OBX2). Για τις ουσίες metribuzin και chlorpyrifos χρησιμοποιήθηκε έδαφος (S2), βιομίγμα που περιείχε έδαφος, άχυρο και κομπόστα ελαιόφυλλων (STRBX), βιομίγμα με βόστρυχους αμπέλου και κομπόστα ελαιόφυλλων (GSBX) και ένα τυπικό βιομίγμα τύρφης (OBX2). Η επιλογή των φ.ο. πραγματοποιήθηκε με κριτήριο τις φυσικοχημικές ιδιότητες των κυριότερων μεταβολικών προϊόντων των φ.ο. και κυρίως την πιθανότητα κατάληξης τους σε υδάτινους αποδέκτες. Η δοκιμή αυτή περιελάμβανε παρακολούθηση της πορείας αποδόμησης του μητρικού μορίου και του σχηματισμού των κυριότερων μεταβολικών προϊόντων μετά από εφαρμογή κάθε μιας από τις φ.ο. terbuthylazine, chlorpyrifos και metribuzin στην STD δόση εφαρμογής.

20.2. Πορεία αποδόμησης του chlorpyrifos σε βιομίγματα και σχηματισμός του μεταβολίτη 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP)

20.2.1. Αποδόμηση του chlorpyrifos

Η μείωση των υπολειμμάτων του chlorpyrifos στο έδαφος εμφανίστηκε ιδιαίτερα έντονη τις πρώτες ημέρες μετά την εφαρμογή με συνέπεια ο χρόνος $t_{1/2}$ να είναι μικρότερος των 6 ημερών (**πίνακας 20.1**). Ο χρόνος αυτός είναι ίδιος με το χρόνο $t_{1/2}$ που υπολογίστηκε στο ίδιο έδαφος, όταν το chlorpyrifos εφαρμόστηκε ως μίγμα 9 φ.ο. (**παράγραφος 17.3, πίνακας 17.1**). Μετά την αρχική φάση ταχείας αποδόμησης η πορεία μείωσης των υπολειμμάτων συνεχίστηκε με βραδύτερο ρυθμό. Η διφασική συμπεριφορά αποδόμησης του chlorpyrifos οφείλεται στην ισχυρή τάση προσρόφησης του chlorpyrifos στα συστατικά του εδάφους. Τιμές χρόνου ημιζωής του chlorpyrifos μεταξύ 2 έως 15 ημερών έχουν αναφερθεί στο παρελθόν (Racke et al., 1990). Σε αλκαλικά εδάφη η αβιοτική αποδόμηση παίζει κυρίαρχο ρόλο στην αποδόμηση του chlorpyrifos (Sigh et al, 2003; Macalady and Wolfe, 1983). Μάλιστα η αβιοτική υδρολυτική δραστηριότητα του εδάφους για την ουσία αυτή εμφανίζεται ευθέως ανάλογη της τιμής του pH (Charman and Cole, 1982). Σε προηγούμενη εργασία που περιλάμβανε έλεγχο της αποδόμησης του chlorpyrifos σε έδαφος της ίδιας περιοχής δειγματοληψίας (Βελεστίνο Βόλου), ο παρατηρούμενος ρυθμός αποδόμησης του μορίου ήταν αντίστοιχα υψηλός. Η μη εκλεκτική αποστείρωση του εδάφους οδήγησε σε μερική αναστολή του ρυθμού αποδόμησης, εξηγώντας τη σημασία της ταυτόχρονης επίδρασης αβιοτικών όσο και βιοτικών παραγόντων στη πορεία αποδόμησης του μορίου (Kranvariti et al., 2010).

Για την περιγραφή της πορείας αποδόμησης σε όλα τα υποστρώματα του πειράματος χρησιμοποιήθηκε το κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης. Ο χρόνος παραμονής του chlorpyrifos στα βιομίγματα της δοκιμής ήταν πολλαπλάσιος από αυτόν του εδάφους.

Πίνακας 20.1. Κινητικές παράμετροι της αποδόμησης του chlorpyrifos στο έδαφος (S2) και σε τρία οργανικά υποστρώματα (OBX2, STRBX, GSBX)

| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) | Όρια εμπιστοσύνης 95% | | Sig. |
|--------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|-----------------------|------|------|
| | | | | | | | κάτω | άνω | |
| S2 | 44,3 | 0,136 ± 0,012 | 0,052 ± 0,013 | 7,2 | 0,993 | 5,1 | 4,7 | 5,7 | a |
| OBX2 | 39,1 | 0,011 ± 0,001 | — | — | 0,964 | 61,9 | 57,8 | 69,3 | c |
| STRBX | 40,5 | 0,021 ± 0,002 | — | — | 0,966 | 34,5 | 30,1 | 36,3 | b |
| GSBX | 36,8 | 0,018 ± 0,002 | — | — | 0,939 | 38,7 | 34,7 | 43,3 | b |

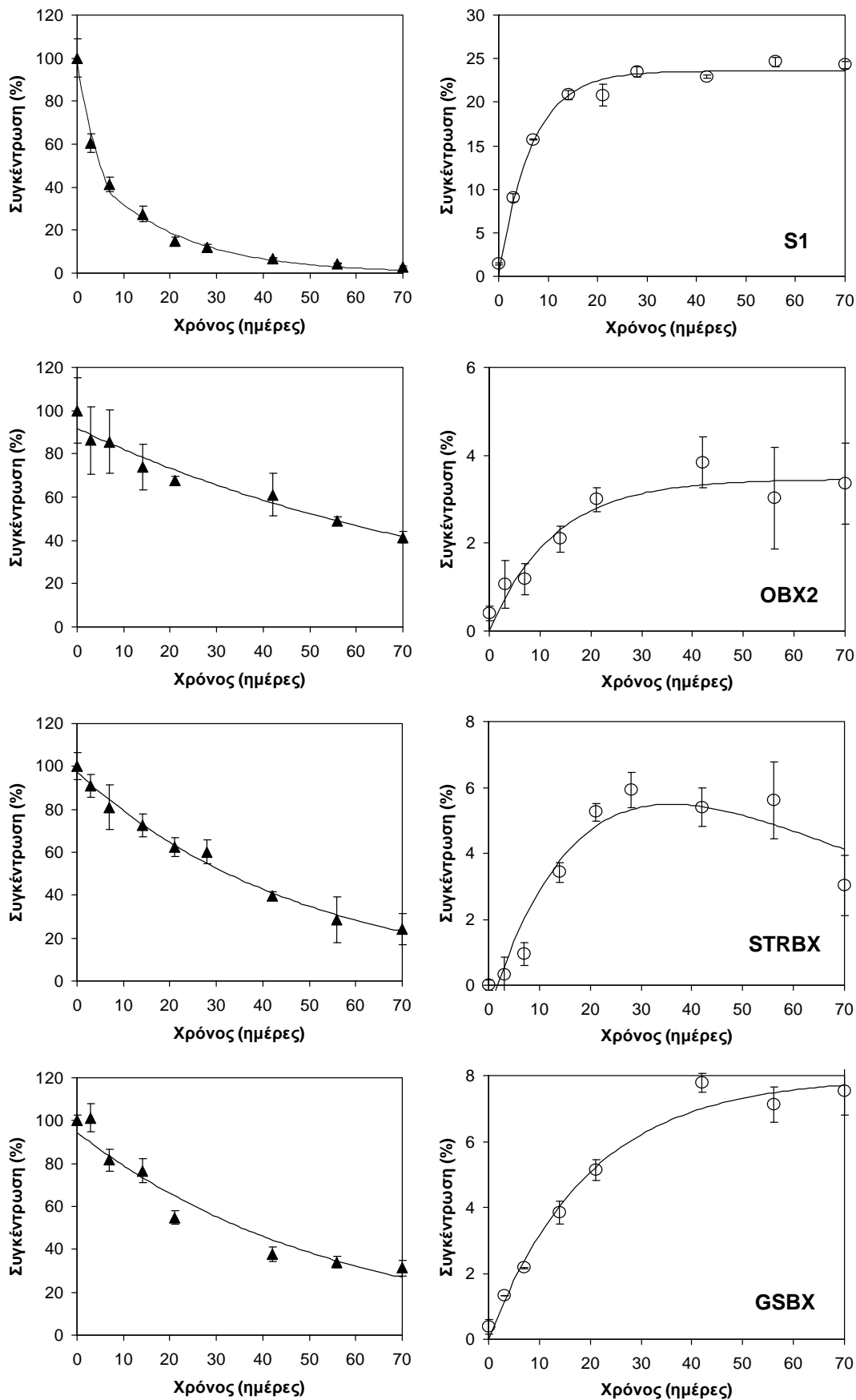
Η μεταβολή στις φυσικοχημικές ιδιότητες με την προσθήκη εξωγενούς προέλευσης οργανικού άνθρακα στο έδαφος είναι σε θέση να διαφοροποιήσει την ένταση των διεργασιών του ενζυμικά ελεγχόμενου μεταβολισμού και της αβιοτικής αποδόμησης, άρα και τις τιμές $t_{1/2}$ που αναμένονται. Για παράδειγμα το μεγαλύτερο χρόνο $t_{1/2}$, επομένως και τη μικρότερη αποτελεσματικότητα εμφάνισε το τυπικό σουηδικό βιομίγμα (OBX2), που εμφανίζει τιμή pH στην όξινη περιοχή. Τα αποτελέσματα αυτά διαφοροποιούνται από προηγούμενα δημοσιευμένα στοιχεία όπου η αποδόμηση του chlorpyrifos σε βιομίγματα που βασίζονται στην τύρφη εμφανίστηκε ταχύτερη από αυτή στο έδαφος (Vischetti et al., 2007). Στην περίπτωση εκείνη όμως ο χρόνος ημιζωής του chlorpyrifos στο έδαφος (84 ημέρες) ήταν πολύ υψηλότερος του χρόνου που υπολογίστηκε στο έδαφος της δοκιμής μας. Η ενσωμάτωση τύρφης

έχει επίσης χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για τη βελτίωση της μικροβιακής δραστηριότητας του εδάφους, επιτυγχάνοντας την ενζυμική υδρόλυση του μορίου του chlorpyrifos (Χiao, 1997).

Η αντικατάσταση της τύρφης με κομπόστα γενικά οδήγησε σε βελτίωση της αποδομητικής ικανότητας του βιομίγματος. Οι παρατηρούμενοι ρυθμοί αποδόμησης στα βιομίγματα GSBX και STRBX ήταν 1,6-1,9 φορές υψηλότεροι αυτών του βιομίγματος τύρφης (**πίνακας 20.1**). Τα βιομίγματα κομπόστας εμφανίζουν τιμή pH κοντά στην τιμή του εδάφους (7,3 έως 7,5) και επομένως οι παρατηρούμενες διαφορές στην ικανότητα αποδόμησης μεταξύ βιομιγμάτων που περιέχουν κομπόστα και εδάφους δεν οφείλονται στην επίδραση της τιμής του pH. Πιθανώς ο σχετικά χαμηλός ρυθμός αποδόμησης στα βιομίγματα να οφείλεται στην ισχυρή προσρόφηση του chlorpyrifos στα συστατικά της οργανικής ουσίας των βιομιγμάτων. Σε προηγούμενες μελέτες η παρουσία κομπόστας στα βιομίγματα οδήγησε στην ίδια ή σε βελτιωμένη ικανότητα αποδόμησης του chlorpyrifos σε σχέση με το τυπικό σουηδικό βιομίγμα (Coppola et al., 2007; Vischetti et al., 2007).

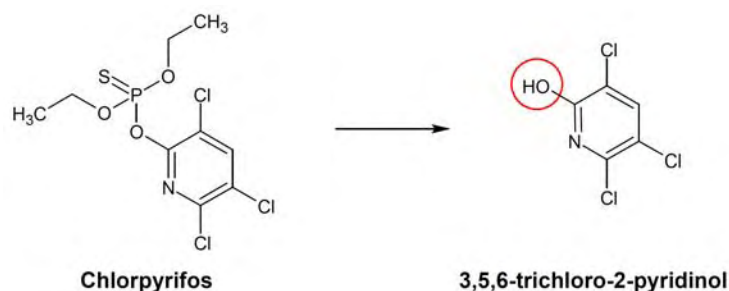
20.2.2. Σχηματισμός 3,5,6-trichloro-2-pyridinol

Το πιο κοινό μεταβολικό μονοπάτι αποδόμησης του chlorpyrifos στο έδαφος περιλαμβάνει το σχηματισμό του 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) που είναι το κύριο προϊόν τόσο της αβιοτικής όσο και της βιοτικής υδρόλυσης στο έδαφος (Getzin, 1981; Racke et al., 1988) (**εικόνα 20.1**). Ο σχηματισμός αυτού του μεταβολίτη στο έδαφος ήταν άμεσος καθώς ανιχνεύτηκε ακόμη και στην αρχική δειγματοληψία. Περίπου το 95% του μεταβολίτη σχηματίστηκε εντός 2 εβδομάδων από την εφαρμογή της ουσίας (**διάγραμμα 20.1**). Ο μεταβολίτης TCP εμφάνισε σημαντική ανθεκτικότητα στην αποδόμηση του καθόλη τη διάρκεια της επώασης. Παρατηρήθηκε μάλιστα ισχυρή γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων του chlorpyrifos και της συγκέντρωσης σχηματισμού του μεταβολίτη TCP καθ' όλη τη πορεία επώασης ($r^2=-0,980$, $p<0,01$). Η συσσώρευση του TCP στο έδαφος μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της αποδομητικής δραστηριότητας λόγω των εφήμερων και μακροχρόνιων τοξικών επιδράσεων του μεταβολίτη αυτού στην εδαφική μικροχλωρίδα (Racke et al., 1988; Somasundaram et al. 1990). Μάλιστα έχει διαπιστωθεί ότι η παρουσία του μεταβολίτη TCP είναι σε θέση να αναστείλει την μικροβιακή αποδόμηση ακόμη και της μητρικής ουσίας (Somasundaram et al., 1989; Racke et al., 1990). Επίσης το μόριο του TCP εμφανίζει μεγαλύτερη υδατοδιαλυτότητα από το μητρικό μόριο και σχετικά μικρή ικανότητα προσρόφησης στα συστατικά του εδάφους (K_{oc} 150 mL·g⁻¹) καθιστώντας πιθανή την κάθετη μετακίνηση του στο έδαφος και την ανίχνευση του σε υπόγεια και επιφανειακά ύδατα (Armbrust, 2001).



Διάγραμμα 20.1. Η αποδόμηση του chlorpyrifos (▲) και η πορεία σχηματισμού και διάσπασης του μεταβολίτη TCP (○) στο έδαφος S2 και σε βιομίγματα που περιέχουν τύρφη (OBX2), κομπόστα ελαιόφυλλων (STRBX) και βοστρύχους αμπέλου αντί για άχυρο (GSBX). Για την περιγραφή της κινητικής αποδόμησης χρησιμοποιήθηκε κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης ή μοντέλο hockey stick. Για την περιγραφή της πορείας του μεταβολίτη χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο των τελικών ή των ενδιάμεσων μεταβολιτών. Η συγκέντρωση του μεταβολίτη εκφράζεται ως ποσοστό της αρχικής συγκέντρωσης του μητρικού μορίου

Η μέγιστη συγκέντρωση του μεταβολίτη στο έδαφος ήταν $11,2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ που αντιστοιχεί στο 23% της συγκέντρωσης της μητρικής ουσίας σε χρόνο $t=0$. Παρόμοια επίπεδα συγκεντρώσεων του μεταβολίτη TCP υπολογίστηκαν σε πειράματα αποδόμησης σε έδαφος της ίδιας περιοχής (Kranvariti et al., 2010). Σε έδαφος με ουδέτερο pH, στο οποίο εφαρμόστηκε το chlorpyrifos στην ίδια συγκέντρωση με τη παρούσα δοκιμή, η μέγιστη συγκέντρωση του TCP ήταν περίπου 10% (Sardar and Kole, 2005). Η ποσότητα του TCP που σχηματίζεται στο έδαφος έχει διαπιστωθεί ότι αυξάνεται σε αλκαλικές συνθήκες (McCall, 1986).



Εικόνα 20.1. Σχηματική απεικόνιση του σημαντικότερου μεταβολικού μονοπατιού αποδόμησης του chlorpyrifos στο έδαφος

Στα υπόλοιπα υποστρώματα της μελέτης ο σχηματισμός του TCP ήταν άμεσος αλλά οι συγκεντρώσεις που παρήχθησαν ήταν συγκριτικά μικρότερες αυτών του εδάφους με τη μικρότερη ποσότητα να σχηματίζεται στο βιομίγμα τύρφης (**διάγραμμα 20.1**). Το γεγονός αυτό πιθανόν οφείλεται στη μικρότερη ταχύτητα αποδόμησης του μητρικού μορίου στο υπόστρωμα αυτό που χαρακτηρίζεται και από τη μικρότερη τιμή του pH. Μείωση των υπολειμμάτων του TCP ήταν εμφανής μόνο στο STRBX βιομίγμα. Η μέγιστη συγκέντρωση σχηματισμού του μεταβολίτη σύμφωνα με το μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε ήταν 5,5% και εμφανίστηκε 32 ημέρες μετά την εφαρμογή. Η παρατηρούμενη μείωση των συγκεντρώσεων του TCP μετά τις 32 ημέρες θεωρείται ότι πιθανόν είναι αποτέλεσμα αυξημένης συμμεταβολικής δραστηριότητας στο STRBX βιομίγμα. Ο κυρίαρχος ρόλος της των μικροοργανισμών στην αποδόμηση του TCP έχει αποδειχθεί σε προηγούμενη έρευνα (Getzin, 1981). Αντίθετα, η αντικατάσταση του άχυρου με βοστρύχους αμπελιού (GSBX) δεν δημιουργεί σύμφωνα με τα αποτελέσματα της δοκιμής ευνοϊκές συνθήκες για την ταχεία αποδόμηση του μορίου του TCP. Συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων του CHL και των συγκεντρώσεων του TCP διαπιστώθηκε στο βιομίγμα τύρφης ($r^2=-0,806$, $p<0,01$) και στο βιομίγμα βοστρύχων αμπελιού ($r^2=-0,967$, $p<0,01$) αλλά όχι στο βιομίγμα με βάση το άχυρο (STRBX)

Πίνακας 20.2. Κινητικές παράμετροι της πορείας του μεταβολίτη 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) σε τρία οργανικά υποστρώματα και στο έδαφος

| | Σημείο τομής ¹ | C_{\max} (%) ² | a | k_1 (d ⁻¹) ⁽³⁾ | k_2 (d ⁻¹) ⁽⁴⁾ | r^2 | t_{\max} (d) ⁵ |
|--------------|---------------------------|-----------------------------|-------|---|---|-------|-----------------------------|
| S2 | — | 23,57 | — | $0,151 \pm 0,015$ | — | 0,985 | — |
| OBX2 | — | 3,45 | — | $0,078 \pm 0,019$ | — | 0,923 | — |
| STRBX | -0,90 | 5,49 | 17,55 | $0,028 \pm 0,011$ | $0,028 \pm 0,012$ | 0,916 | 31,8 |
| GSBX | — | 7,93 | — | $0,051 \pm 0,007$ | — | 0,983 | — |

¹ Σημείο τομής του μοντέλου με τον άξονα της ποσοστιαίας συγκέντρωσης σε διάγραμμα συγκέντρωσης – χρόνου επώασης

² Μέγιστη συγκέντρωση σχηματισμού του μεταβολίτη ως ποσοστό της συγκέντρωσης του μητρικού μορίου σε χρόνο $t=0$

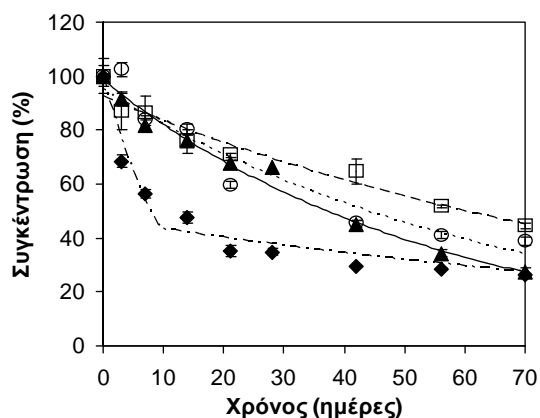
³ Ρυθμός σχηματισμού του μεταβολίτη

⁴ Ρυθμός αποδόμησης του μεταβολίτη

⁵ Χρόνος που αντιστοιχεί στη μέγιστη συγκέντρωση του μεταβολίτη, όπως προκύπτει από το χρησιμοποιούμενο μοντέλο

20.2.3. Συνολικά υπολείμματα στο έδαφος

Ο συνυπολογισμός των συνολικών υπολειμμάτων της μητρικής ουσίας chlorpyrifos και του μεταβολίτη TCP (*total residues of concern*) και η απεικόνιση των αποτελεσμάτων σε διάγραμμα συγκέντρωσης-χρόνου εμφανίζεται στο **διάγραμμα 20.2**.



| | $t_{1/2}$ (d) | $t_{3/4}$ (d) | r^2 |
|--------------|---------------|---------------|-------|
| S2 | 7,9 | 82,5 | 0,916 |
| OBX2 | 68,0 | 135,9 | 0,964 |
| STRBX | 37,2 | 74,5 | 0,989 |
| GSBX | 47,2 | 94,3 | 0,932 |

Διάγραμμα 20.2. Η πορεία των συνολικών υπολειμμάτων του chlorpyrifos (μητρική ουσία και TCP) στα υποστρώματα έδαφος (♦), OBX2 (□), STRBX (▲) και GSBX (○), γραφική απόδοση της πορείας με τη βοήθεια κινητικού μοντέλου πρώτης τάξης (STRBX, OBX2, GSBX) ή μοντέλου hockey stick (S2). Οι παράμετροι $t_{1/2}$ και $t_{3/4}$ χρησιμοποιήθηκαν για να περιγράψουν την αποδόμηση των συνολικών υπολειμμάτων σε κάθε ένα από τα υποστρώματα της δοκιμής

Την ταχύτερη μείωση των συνολικών υπολειμμάτων εμφανίζει το έδαφος με το χρόνο ημιζωής να είναι κοντά στις 8 ημέρες από την εφαρμογή. Όταν όμως ως κριτήριο της πορείας μείωσης των υπολειμμάτων χρησιμοποιηθεί ο χρόνος που απαιτείται για την μείωση των συνολικών υπολειμμάτων στο 75% της ποσότητας εφαρμογής τότε προκύπτει ότι το βιομίγμα STRBX παρουσιάζει την υψηλότερη αποτελεσματικότητα. Ο μικρότερος ρυθμός αποδόμησης του μητρικού μορίου στο βιομίγμα αυτό σε σχέση με το έδαφος αντισταθμίζεται αφενός από την μικρότερη αναλογία σχηματισμού του μεταβολίτη TCP και αφετέρου από την αποδόμηση του μεταβολίτη σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα. Αντίθετα στο έδαφος, η μείωση της συγκέντρωσης των συνολικών υπολειμμάτων μετά το χρόνο διαφοροποίησης (t_b) είναι πολύ μικρή.

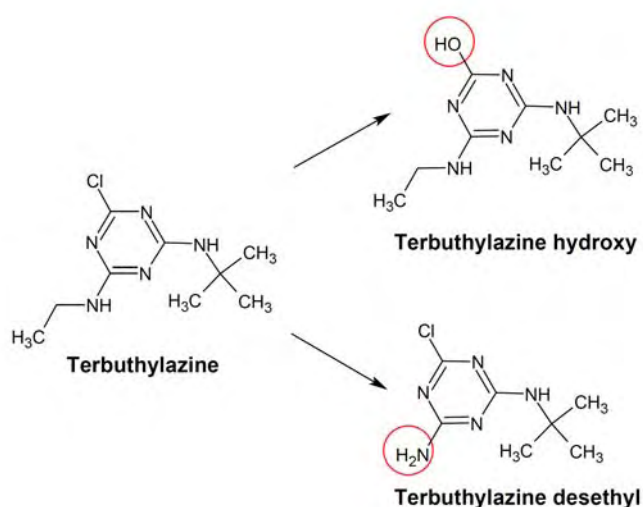
20.3. Πορεία αποδόμησης του terbutylazine σε βιομίγματα και σχηματισμός των κύριων μεταβολιτών

20.3.1. Αποδόμηση του terbutylazine

Η αποδόμηση του terbutylazine σε όλες τις περιπτώσεις της δοκιμής περιγράφεται ικανοποιητικά από κινητική εξίσωση πρώτης τάξης (**πίνακας 20.3**). Το μοντέλο αυτό έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν με επιτυχία για την περιγραφή της κινητικής αποδόμησης του ίδιου μορίου σε εδάφη με ποικίλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (Doussset et al., 1997; Vischetti et al., 1998; Sahid and Teoh, 1994) αλλά και σε μίγματα εδάφους και εξωγενούς προέλευσης οργανικής ουσίας (Navarro et al., 2003; Dolaptsoglou et al., 2007). Το έδαφος που χρησιμοποιήθηκε εμφάνισε μικρή ικανότητα αποδόμησης του terbutylazine με χρόνο ημιζωής να λαμβάνει τιμές υψηλότερες των 200 ημερών από την εφαρμογή. Τέτοιες υψηλές τιμές χρόνου ημιζωής βρίσκονται εκτός των τυπικών ορίων (30-120 ημέρες) που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Οι παρατηρούμενοι ρυθμοί αποδόμησης του μορίου

στα διάφορα υποστρώματα της δοκιμής, όταν αυτό εφαρμόζεται μεμονωμένα είναι ίδιοι ή μικρότεροι αυτών που εμφανίζονται όταν η ίδια ουσία εφαρμόζεται ως μίγμα φ.ο., εκτός από το βιομίγμα ΒΧ5.

Η ενσωμάτωση άχυρου και κομπόστας ελαιόφυλλων ή βαμβακόπιπτας (ΒΧ2, ΒΧ5) ή η ενσωμάτωση τύρφης στο έδαφος (ΟΒΧ2) επιταχύνει την αποδόμηση του *terbuthylazine* σε σχέση με το έδαφος με το χρόνο ημιζωής να είναι μικρότερος του χρόνου παρακολούθησης των 90 ημερών (**πίνακας 20.3**). Η προσθήκη εξωγενούς προέλευσης οργανικής ύλης αυξάνει το ρυθμό αποδόμησης με ένα συντελεστή 2,8 (ελαιόφυλλα), 5,6 (τύρφη) ή 10,8 (βαμβακόπιτα). Η προσθήκη εξωγενούς οργανικής ύλης με τη μορφή λυματολάσπης (urban sewage sludge) ή μόνο του χουμικού κλάσματος αυτής στο έδαφος οδήγησε σε αύξηση του ρυθμού αποδόμησης του *terbuthylazine* (Navarro et al., 2003). Σε άλλη περίπτωση η προσθήκη κομπόστας μείωσε την ικανότητα αποδόμησης της ουσίας στο έδαφος, ενώ η προσθήκη οργανικής ύλης με τη μορφή υπολειμμάτων καλλιέργειας αραβόσιτου μείωσε οριακά το χρόνο ημιζωής (Dolaptsoglou et al., 2007).



Εικόνα 20.2. Σχηματική απεικόνιση των σημαντικότερων μεταβολιτών που σχηματίζονται με την αποδόμηση του *terbuthylazine* στο έδαφος

Η σχετικά μεγάλη λιποφιλικότητα του μορίου σε σχέση με άλλες ουσίες της ομάδας των s-τριαζινών είναι υπεύθυνη για την πολύ μεγάλη αύξηση της προσρόφησης του *terbuthylazine* όταν αυξάνεται η αναλογία του οργανικού άνθρακα στο υπόστρωμα (Bowman, 1989; Dousset et al., 1994; Delgado-Moreno et al., 2007; Dolaptsoglou et al., 2007; Cabrera et al., 2008). Μάλιστα η ισχυρή προσρόφηση του *terbuthylazine* σε οργανικά υποστρώματα συνοδεύεται από ταυτόχρονη μείωση της εκρόφησης επομένως και της βιοδιαθεσιμότητας της ουσίας (Delgado-Moreno et al., 2007).

Άλλη σημαντική παράμετρος που πρέπει να συνυπολογιστεί είναι η επίδραση της εξωγενούς ύλης στην υδρόλυση του μορίου. Όλα τα μέλη των s-τριαζινών υπόκεινται ταυτόχρονα σε μικροβιακή αποδόμηση και σε αβιοτική υδρόλυση. Η βιολογική αποδόμηση του μητρικού μορίου είναι μια σχετικά σύνθετη μεταβολική διεργασία όπου το μόριο του *terbuthylazine* μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηγή C ή N ανάλογα με τη σχετική διαθεσιμότητα του στο εδαφικό διάλυμα (Caracciolo et al., 2005; Vischetti et al., 1998). Η μικροβιακή διάσπαση του μορίου περιλαμβάνει τις διεργασίες N-απακκυλίωσης και την διεργασία υποκατάστασης μιας χλωροομάδας στο δεσμό C-Cl του τριαζινικού δακτυλίου με υδροξύλιο (**εικόνα 20.2**). Ο σχηματισμός του hydroxy- *terbuthylazine* ευνοείται σε πολύ υψηλές ή σε χαμηλές τιμές pH (Blumhorst and Weber, 1994). Με δεδομένο ότι το έδαφος και τα βιομίγματα που περιέχουν

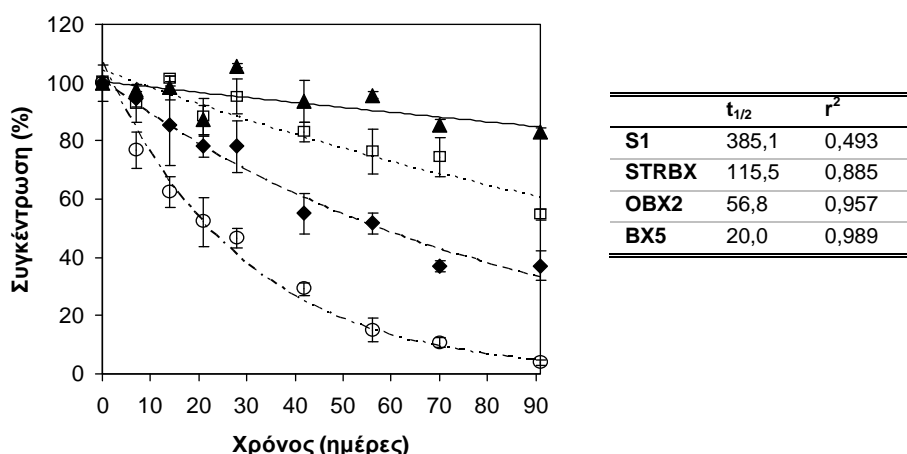
κομπόστα εμφανίζουν τιμές pH κοντά στην ουδέτερη προς αλκαλική περιοχή (7,29 έως 7,59) η συνεισφορά της αβιοτικής υδρόλυσης αναμένεται να είναι ασήμαντη. Αντίθετα η μείωση του pH στην τιμή 5 που συμβαίνει με τη προσθήκη της τύρφης είναι αρκετά σημαντική ώστε η αβιοτική υδρόλυση να συνυπολογίζεται ως συνισταμένη της συνολικής αποδόμησης. Το γεγονός αυτό εξηγεί το γιατί το υπόστρωμα αυτό (OBX2) που γενικά εμφανίζει αδυναμία ταχείας αποδόμησης πολλών φ.ο. (**κεφάλαιο 15**) δημιουργεί ιδανικές συνθήκες για τη μείωση των υπολειμμάτων του terbutylazine σε σύντομο χρονικό διάστημα, όπως παρουσιάζεται στον **πίνακα 20.3**. Μια επίσης σημαντική ένδειξη της συνεισφοράς της αβιοτικής υδρόλυσης στη συνολική αποδόμηση στο βιομίγμα τύρφης είναι η αυξημένη παραγωγή του μεταβολίτη hydroxy- terbutylazine (**διάγραμμα 20.5 β**), η συγκέντρωση του οποίου στο τέλος της περιόδου επώασης είναι υψηλότερη σε σχέση με τα υπόλοιπα υποστρώματα που εξετάστηκαν αλλά και υψηλότερη από τα επίπεδα του desethyl- μεταβολίτη, ο οποίος θεωρείται ο κύριος και σε πολλές περιπτώσεις αποκλειστικός μεταβολίτης του terbutylazine στο έδαφος (Guzzela et al., 2003; Dousset et al., 1994; Dolaptsoglou et al., 2007). Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με προηγούμενα ευρήματα των Castillo και Torstensson, (2007), οι οποίοι ανέφεραν σημαντική συσχέτιση μεταξύ του ρυθμού αποδόμησης του terbutylazine και της ποσοστιαίας αναλογίας τύρφης σε βιομίγματα. Επίσης σύμφωνα με τον Fournier, (2004) η απουσία τύρφης στα ενεργά βιομίγματα των κλινών Phytobac/biobac οδηγούσε σε αργή πορεία αποδόμησης του TRB λόγω της ευαισθησίας των s-τριαζινών, όπως του terbutylazine, σε χημική υδρόλυση κάτω από όξινες συνθήκες, όπως αυτές που δημιουργούνται με την προσθήκη τύρφης.

Πίνακας 20.3. Κινητικές παράμετροι της αποδόμησης του terbutylazine στο έδαφος (S1) και σε τρία οργανικά υποστρώματα (BX2, OBX2, BX5)

| | C ₀ (%) | k (d ⁻¹) | r ² | Σφάλμα της δοκιμής χ^2 ⁽¹⁾ | t _{1/2} (d) | Όρια εμπιστοσύνης 95% | | Sig. |
|--------------|--------------------|----------------------|----------------|--|----------------------|-----------------------|-------|------|
| | | | | | | κάτω | άνω | |
| S1 | 100,3 | 0,003 ± 0,001 | 0,593 | 1,2 | 216,6 | 151,6 | 379,2 | d |
| STRBX | 100,0 | 0,009 ± 0,001 | 0,942 | 0,6 | 77,0 | 65,6 | 93,3 | c |
| OBX2 | 104,3 | 0,018 ± 0,001 | 0,982 | 0,9 | 38,5 | 35,1 | 42,7 | b |
| BX5 | 104,1 | 0,035 ± 0,001 | 0,991 | 2,9 | 20,1 | 18,8 | 21,6 | a |

⁽¹⁾ επίπεδο σημαντικότητας 5%

Ο σχηματισμός και η αποδόμηση των μεταβολιτών στις συνθήκες του πειράματος ήταν μια σχετικά αργή διεργασία. Έτσι με εξαίρεση την παράγωγη του desethyl- μεταβολίτη στο BX5 υπόστρωμα ο χρόνος παρακολούθησης των 91 ημερών δεν ήταν αρκετός, ώστε να περιγράψει την ολοκλήρωση του κύκλου από το σχηματισμό έως την πλήρη αποδόμηση των μεταβολιτών. Για την περιγραφή της πορείας των υπολειμμάτων και των δύο μεταβολιτών χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία η απλή εκθετική εξίσωση με το συντελεστή r² σε όλες τις περιπτώσεις να λαμβάνει τιμές μεγαλύτερες από 0,900. Στο **διάγραμμα 20.3** απεικονίζεται η πορεία των συνολικών υπολειμμάτων, δηλαδή του αθροίσματος των υπολειμμάτων του terbutylazine και των μεταβολιτών του, στα διάφορα υποστρώματα. Η αποδομητική ικανότητα των υποστρωμάτων ακολουθεί τη σειρά S1<BX2<OBX2<BX5. Οι πολύ μεγάλες διαφορές στους χρόνους ημιζωής των συνολικών υπολειμμάτων φανερώνει ότι η αποδόμηση επηρεάζεται σημαντικά από την προσθήκη οργανικής ύλης στο έδαφος.



Διάγραμμα 20.3. Κινητικές παράμετροι της πορείας των συνολικών υπολειμμάτων του terbuthylazine (μητρική ουσία, desethyl και hydroxy terbuthylazine) στο έδαφος (S1, ▲), σε βιομίγμα τύρφης (OBX2, ◆), σε βιομίγμα από κομπόστα ελαιόφυλλων (BX2, □) και σε βιομίγμα με βάση κομπόστα βαμβακόπιπας (BX5, ○)

20.3.2. Desethyl- μεταβολίτης

Ο μεταβολίτης desethyl-terbuthylazine παράγεται σε όλα τα υποστρώματα που συμπεριελήφθησαν στο πείραμα. Στο έδαφος ο σχηματισμός του μεταβολίτη αυτού εμφανίζει μέγιστη τιμή σχηματισμού 3,5% (**πίνακας 20.4**). Η τιμή αυτή είναι η μικρότερη παρατηρούμενη μεταξύ των μεταχειρίσεων και οφείλεται στην πολύ μικρή ταχύτητα αποδόμησης του μητρικού μορίου. Αντιθέτως στο BX2 υπόστρωμα παρατηρήθηκε η μέγιστη συγκέντρωση υπολειμμάτων desethyl- σε επίπεδα κοντά στο 11%. Η τιμή αυτή είναι πολύ υψηλότερη από την αντίστοιχη τιμή σε άλλα οργανικά υποστρώματα παρά τη μικρότερη ταχύτητα αποδόμησης του μητρικού μορίου σε αυτό το βιομίγμα. Επομένως η N-απακκυλίωση είναι το πλέον σημαντικό μονοπάτι αποδόμησης στο βιομίγμα με βάση την κομπόστα από ελαιόφυλλα. Στο βιομίγμα τύρφης αντίθετα η πορεία σχηματισμού του μεταβολίτη είναι πιο αργή. Το ποσοστό σχηματισμού του μεταβολίτη σε αυτή την περίπτωση είναι 4,8. Ο μεγάλος χρόνος παραμονής του μεταβολίτη αυτού στο έδαφος και στα βιομίγματα OBX2 και BX2 αυξάνει την πιθανότητα ανίχνευσής του σε υπόγεια νερά. Η αυξημένη κινητικότητα του desethyl μεταβολίτη λόγω της αυξημένης υδατοδιαλυτότητας του σε σχέση με το αρχικό μόριο έχει διαπιστωθεί προηγουμένως (Guzzela 2003; Dousset, 1997).

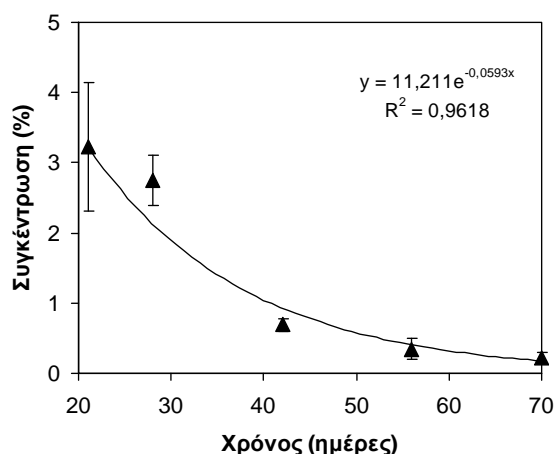
Πίνακας 20.4. Κινητικές παράμετροι του σχηματισμού του μεταβολίτη desethyl-terbuthylazine στο έδαφος (S1) και σε τρία οργανικά υποστρώματα (BX2, OBX2, BX5)

| | C_{max} (%) | k (d ⁻¹) | r^2 |
|-------------|----------------|------------------------|-------|
| S1 | 3,49 | 0,042 ± 0,010 | 0,919 |
| BX2 | 10,82 | 0,101 ± 0,023 | 0,928 |
| OBX2 | 4,83 | 0,048 ± 0,011 | 0,933 |
| BX5 | — ¹ | — | — |

¹ Αδυναμία προσαρμογής κάποιου μοντέλου στα αποτελέσματα

Μεγάλη διαφοροποίηση στη τυπική συμπεριφορά του desethyl- εμφανίζεται σε υπόστρωμα BX5, όπου ο ταχύς ρυθμός σχηματισμού του μεταβολίτη συνοδεύεται και από επίσης γρήγορο ρυθμό αποδόμησης του. Η ταχεία αποδόμηση οδηγεί σε μηδενισμό της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων στο τελευταίο χρόνο δειγματοληψίας (t=91). Η γραφική απεικόνιση της πορείας μείωσης των υπολειμμάτων αυτών στο χρόνο, ξεκινώντας από την μέγιστη μετρούμενη τιμή (t=21) έως το τέλος της περιόδου επώασης δίνεται στο **διάγραμμα 20.4**. Ο ρυθμός μείωσης των υπολειμμάτων του

μεταβολίτη είναι σχεδόν διπλάσιος αυτού του μητρικού μορίου και ο αναμενόμενος χρόνος ημιζωής είναι 11,7 ημέρες.



Διάγραμμα 20.4. Μεταβολή της συγκέντρωσης (%) του μεταβολίτη desethyl-terbuthylazine από το χρονικό σημείο μέγιστης συγκέντρωσης μέχρι το τέλος του χρόνου επώασης στο υπόστρωμα BX5

20.3.3. Hydroxy- μεταβολίτης

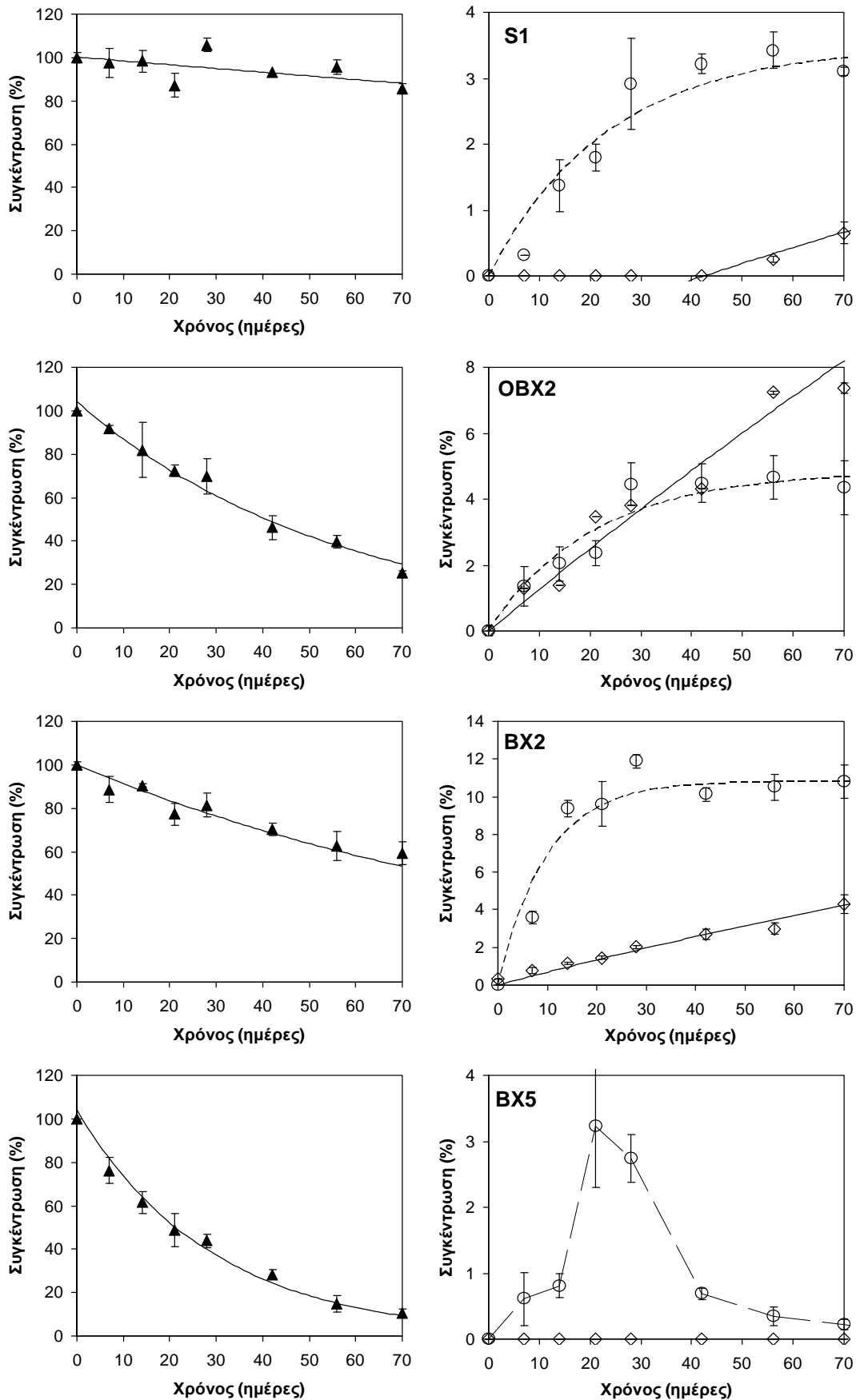
Ο hydroxy- μεταβολίτης του terbuthylazine εμφανίζεται ιδιαίτερα υπολειμματικός σε όλα τα υποστρώματα. Μάλιστα η αδυναμία ταχείας αποδόμησης του είναι πιο έντονη σε σχέση με τον desethyl- terbuthylazine. Ο hydroxy- μεταβολίτης εμφανίζει ελαφρώς υψηλότερη υδατοδιαλυτότητα σε σχέση με το μητρικό μόριο, ενώ η ικανότητα προσρόφησης του στα κολλοειδή του εδάφους είναι μικρότερη (K_{oc} 137 mL·g⁻¹). Επιπλέον ο χρόνος παραμονής του στο έδαφος είναι πολύ μεγαλύτερος από του terbuthylazine. Ο συνδυασμός της χαμηλής προσρόφησης του και του μεγάλου χρόνου παραμονής του στο έδαφος εξηγούν την ανίχνευση του σε υδατοσυλλογές (Ortelli et al., 2008). Στο βιομίγμα που βασίζεται στην κομπόστα βαμβακόσπορου (BX5) ο hydroxy- μεταβολίτης βρέθηκε μόνο σε ίχνη κάτι που μπορεί να ερμηνευτεί ως απουσία χημικών ή μικροβιακά ελεγχόμενων διεργασιών υδρόλυσης στο υπόστρωμα αυτό. Επομένως, η πολύ μεγάλη ταχύτητα διάσπασης του terbuthylazine σε αυτό το υπόστρωμα σχετίζεται αποκλειστικά με διεργασίες N-απαλκίωσης. Στο έδαφος η εκκίνηση της παραγωγής των υπολειμμάτων του μεταβολίτη ξεκινάει σε χρόνο 28 ημερών από το χρόνο εφαρμογής του terbuthylazine και όπως και στις περιπτώσεις και των άλλων υποστρωμάτων, η συγκέντρωση του μεγιστοποιείται προς το τέλος της περιόδου επώασης (**πίνακας 20.5**). Η πορεία των υπολειμμάτων του hydroxy-terbuthylazine στα βιομίγματα τύρφης (OBX2) και ελαιόφυλλων (BX2) μπορεί να περιγραφεί ικανοποιητικά με απλή εκθετική εξίσωση.

Πίνακας 20.5. Κινητικές παράμετροι της πορείας σχηματισμού του μεταβολίτη του hydroxy-terbuthylazine στο έδαφος (S1) και σε τρία οργανικά υποστρώματα (BX2, OBX2, BX5)

| | Σημείο τομής ¹ | C _{max} (%) | k (d ⁻¹) | r ² |
|------|---------------------------|----------------------|----------------------|----------------|
| S1 | -1,2 | 6,33 | 0,005 ± 0,012 | 0,976 |
| BX2 | — | 17,03 | 0,004 ± 0,003 | 0,975 |
| OBX2 | — | 49,34 | 0,003 ± 0,004 | 0,970 |
| BX5 | — ² | — | — | — |

¹ Σημείο τομής του μοντέλου με τον άξονα της ποσοστιαίας συγκέντρωσης σε διάγραμμα συγκέντρωσης – χρόνου επώασης

² Ποσότητα hydroxy-terbuthylazine που υπολογίστηκε στο υπόστρωμα BX5 μικρότερη του ορίου ποσοτικού προσδιορισμού



Διάγραμμα 20.5. Η αποδόμηση του terbutylazine (▲) και η πορεία των μεταβολιτών desethyl terbutylazine (○) και hydroxy terbutylazine (◇) στο έδαφος (S1) και σε βιομίγματα που περιέχουν τύρφη (OBX2), κομπόστα ελαιόφυλλων (BX2) και κομπόστα βαμβακόσπορου (BX5). Για την περιγραφή της κινητικής αποδόμησης του μητρικού μορίου και του σχηματισμού των μεταβολιτών χρησιμοποιήθηκε κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης και μοντέλο σχηματισμού τελικών μεταβολιτών αντίστοιχα

20.4. Πορεία αποδόμησης του metribuzin και σχηματισμός των κύριων μεταβολιτών diketo-, desamino- και diketodesamino- metribuzin

20.4.1. Αποδόμηση του metribuzin

Η αποδόμηση του metribuzin στο έδαφος ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης. Στις συνθήκες του πειράματος ο χρόνος ημιζωής ήταν 27 ημέρες περίπου. Προηγούμενες δοκιμές αποδόμησης του metribuzin κάτω από ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες ή σε συνθήκες αγρού έδωσαν χρόνους ημιζωής στο έδαφος μεταξύ 11 και 46 ημερών (Hyzak and Zimdahl, 1974; Bowman, 1991; Gallaher and Mueller, 1996; Lechon et al., 1997; Di et al., 1998). Στο βιομίγμα τύρφης (OBX2) ο ρυθμός μείωσης των υπολειμμάτων του metribuzin εμφανίζεται ταχύτερος από αυτόν του εδάφους και ο χρόνος ημιζωής ήταν 15 ημέρες περίπου (**πίνακας 20.6**). Η αντικατάσταση της τύρφης με κομπόστα ελαιόφυλλων (STRBX) οδηγεί σε περαιτέρω μείωση του χρόνου ημιζωής και σε αλλαγή της πορείας αποδόμησης από σταθερού σε μεταβαλλόμενου ρυθμού. Ο ίδιος χρόνος ημιζωής του metribuzin υπολογίζεται και μετά από αντικατάσταση του άχυρου με βόστρυχους αμπέλου (GSBX). Στην περίπτωση αυτή όμως ο αρχικός ρυθμός αποδόμησης k_1 είναι υψηλότερος του αντίστοιχου αρχικού ρυθμού στο STRBX υπόστρωμα. Αντίθετα μετά το χρόνο διαφοροποίησης η αποδόμηση στο GSBX βιομίγμα εμφανίζει μικρότερο ρυθμό σε σχέση με το βιομίγμα STRBX. Ο μικρότερος ρυθμός αποδόμησης κατά τη δεύτερη φάση μπορεί να αποδοθεί στην πιο εκτεταμένη προσρόφηση του metribuzin στο υπόστρωμα αυτό όπως έχει ήδη αναφερθεί στην **παράγραφο 17.5.3**.

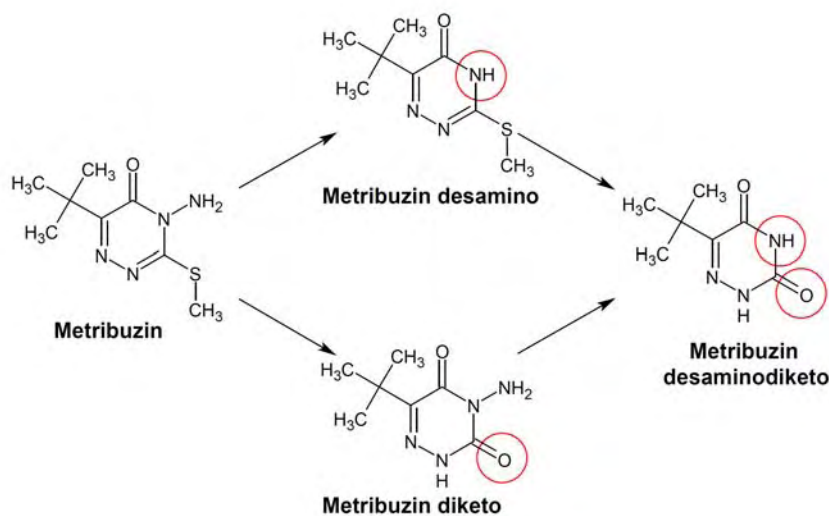
Σε συνθήκες αγρού τα κύρια μονοπάτια της αποδόμησης του metribuzin είναι ο μικροβιακός μεταβολισμός, που ευνοείται από την παρουσία οξυγόνου, και η φωτόλυση, που όμως περιορίζεται στα πρώτα χιλιοστά του επιφανειακού εδάφους λόγω αδυναμίας διείσδυσης του φωτός (Moortman and Harper, 1989; Bowman, 1991). Στις συνθήκες των εργαστηριακών δοκιμών όμως η μείωση της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων μέσω φωτολυτικών διεργασιών δεν αναμένεται. Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι οι υδρολυτικές διεργασίες έχουν μικρή συνεισφορά στην συνολική αποδόμηση του μορίου ανεξάρτητα από το pH του εδάφους (Khoury et al., 2003). Η εξάρτηση, επομένως, της αποδόμησης από βιοτικές διεργασίες εξηγεί τη βελτίωση της αποδομητικής ικανότητας με την αύξηση της βιολογικής δραστηριότητας που επιτυγχάνεται από την προσθήκη εξωγενούς προέλευσης οργανικής ουσίας.

Πίνακας 20.6. Κινητικές παράμετροι της αποδόμησης του metribuzin στο έδαφος (S2) σε τρία οργανικά υποστρώματα (OBX2, STRBX, GSBX)

| | C ₀ (%) | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | t _b (d) | r ² | t _{1/2} (d) | Όρια εμπιστοσύνης 95% | | Sig. |
|--------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|-----------------------|------|------|
| | | | | | | | κάτω | άνω | |
| S2 | 98,0 | 0,026 ± 0,001 | | | 0,990 | 26,7 | 24,9 | 28,6 | c |
| OBX2 | 96,1 | 0,047 ± 0,001 | | | 0,994 | 14,7 | 14,0 | 15,6 | b |
| STRBX | 99,4 | 0,066 ± 0,002 | 0,051 ± 0,005 | 19,1 | 0,999 | 10,5 | 9,9 | 11,2 | a |
| GSBX | 99,1 | 0,071 ± 0,004 | 0,042 ± 0,004 | 12,5 | 0,998 | 9,8 | 8,8 | 11,0 | a |

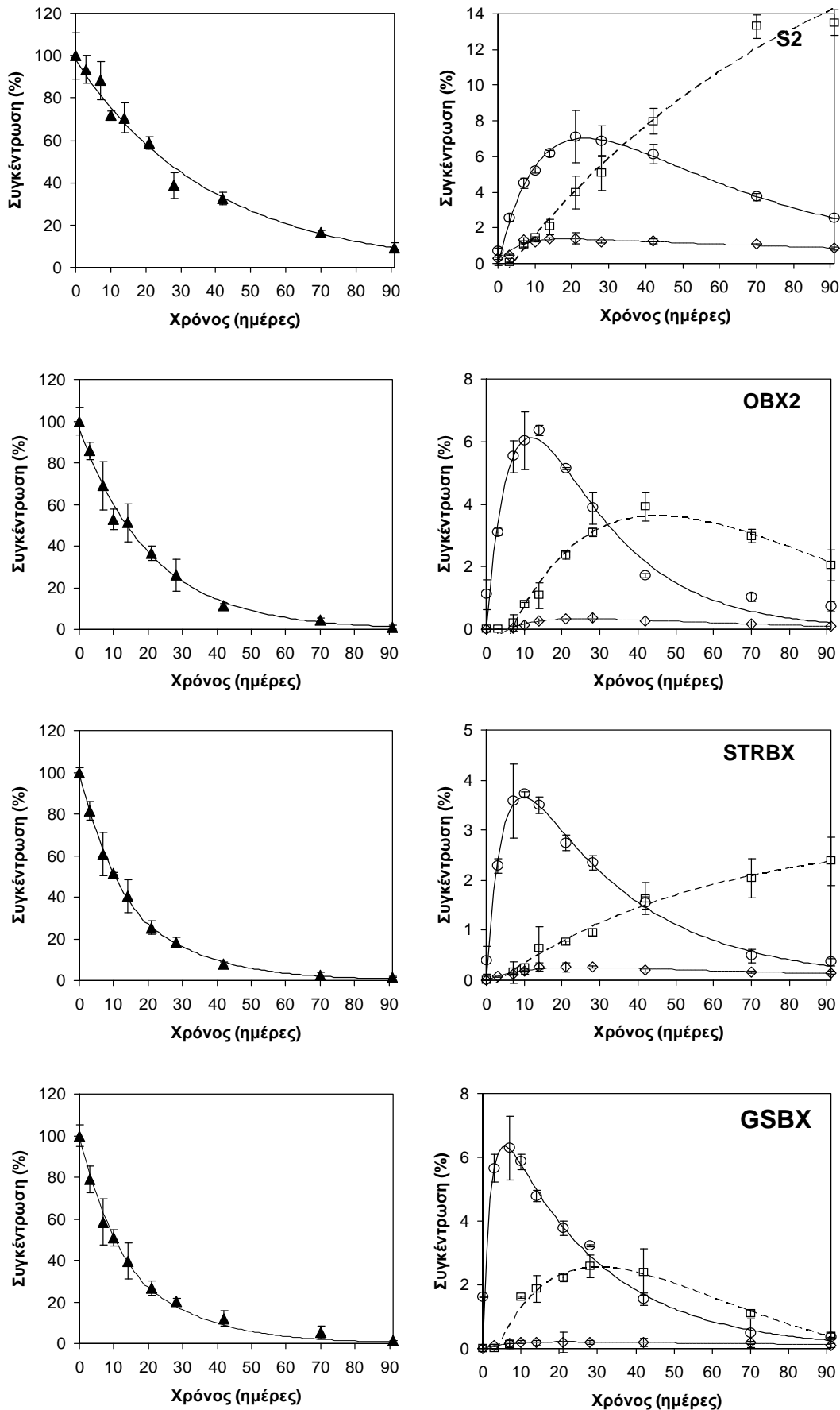
Η τύχη του metribuzin στο εδαφικό περιβάλλον περιλαμβάνει δύο διαφορετικές διεργασίες αποδόμησης, αυτή της αναγωγικής απαμίνωσης που οδηγεί στο σχηματισμό του desaminometribuzin (DA) και της οξειδωτικής αποθείωσης με την οποία σχηματίζεται ο μεταβολίτης diketometribuzin (DK)

(εικόνα 20.3) με την αναλογία των δύο μεταβολιτών όμως να διαφοροποιείται ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του εδάφους (Khoury et al., 2003). Ο τρίτος κύριος μεταβολίτης του metribuzin ο desaminodiketometribuzin (DADK) είναι προϊόν περεταίρω διάσπασης των δύο αρχικών μεταβολιτών. Πέραν του μητρικού μορίου κίνδυνο κάθετης μετακίνησης και παρουσίας του σε υπόγεια ύδατα εμφανίζουν όλοι οι μεταβολίτες της ουσίας. Οι ουσίες αυτές έχουν ανιχνευτεί σε υπόγεια ύδατα σε περιοχές μονοκαλλιέργειας πατάτας στις ΗΠΑ στις οποίες πραγματοποιούνταν συχνή εφαρμογή του metribuzin. Μεταξύ των μεταβολιτών τις υψηλότερες συγκεντρώσεις εμφάνισε ο μεταβολίτης DADK ($>9 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) (Anonymous, 2010). Η παρουσία και των τριών μεταβολιτών του metribuzin σε υπόγεια ύδατα και σε συγκεντρώσεις έως $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ έχει διαπιστωθεί και σε διαφορετική έρευνα στην ίδια χώρα (Lawrence et al., 1993). Σε άλλη έρευνα σε περιοχές με αμμώδες έδαφος στη Δανία διαπιστώθηκε η παρουσία των μεταβολιτών DK και DADK στα υπόγεια ύδατα. Ιδιαίτερα για τον μεταβολίτη DK η συγκέντρωση συχνά βρέθηκε να υπερβαίνει το όριο του $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ της Ε.Ε για το πόσιμο νερό (Kjaer et al., 2005). Η υψηλότερη συχνότητα παρουσίας των μεταβολιτών DK και DADK στα υπόγεια ύδατα οφείλεται στη μικρή σχετικά ταχύτητα αποδόμησης τους και στην ασθενέστερη προσρόφηση τους στα συστατικά του εδάφους σε σχέση με το μητρικό μόριο και το DA μεταβολίτη (Henriksen et al., 2004; Bowman 1991). Η παρουσία και των τριών μεταβολιτών ανιχνεύτηκε σε όλα τα δείγματα ελέγχου της δοκιμής και σε συγκεντρώσεις πολύ υψηλότερες του ορίου ποσοτικοποίησης. Η σωρευμένη συγκέντρωση των μεταβολιτών στο τέλος του χρόνου επώασης ήταν σε κάθε περίπτωση υψηλότερη από τη συγκέντρωση του μητρικού μορίου στο ίδιο χρονικό σημείο (διάγραμμα 20.6).



Εικόνα 20.3. Σχηματική απεικόνιση των σημαντικότερων μεταβολιτών που σχηματίζονται με την αποδόμηση του metribuzin στο έδαφος

Το κινητικό μοντέλο της σύνθετης πορείας των ενδιάμεσων μεταβολιτών (εξίσωση 4.30) χρησιμοποιήθηκε για την περιγραφή της πορείας των αρχικών μεταβολιτών (DA και DK) σε όλα τα υποστρώματα της δοκιμής. Η τιμή του συντελεστή παλινδρόμησης (r^2) σε όλες τις περιπτώσεις ήταν μεγαλύτερος του 0,864. Το ίδιο μοντέλο χρησιμοποιήθηκε και στην περίπτωση του μεταβολίτη DADK στα βιομίγματα OBX2 και GSBX ($r^2 > 0,928$). Αντίθετα στο έδαφος και στο βιομίγμα STRBX ο ίδιος μεταβολίτης συμπεριφέρθηκε ως τελικό προϊόν αποδόμησης καθώς στο χρόνο παρακολούθησης των 120 ημερών εμφανίστηκε σαφής τάση συσσώρευσης του ($r^2 > 0,987$).



Διάγραμμα 20.6. Η αποδόμηση του metribuzin (MTR) και πορεία σχηματισμού των μεταβολιτών diketo- (DK, \diamond), desamino- (DA, \circ) και desaminodiketo (DADK, \square) στο έδαφος S2 και σε βιομίγματα που περιέχουν τύρφη (OBX2), άχυρο και κομπόστα ελαιούφυλλων (STRBX), βοστρύχους αμπέλου και κομπόστα ελαιούφυλλων (GSBX). Η συγκέντρωση των μεταβολιτών εκφράστηκε ως ποσοστό της συγκέντρωσης της μητρικής ουσίας σε χρόνο t=0

20.4.2. Diketo metribuzin

Η αναλογία σχηματισμού του μεταβολίτη αυτού είναι πολύ μικρότερη αυτής του DA μεταβολίτη ιδιαίτερα για τα οργανικά υποστρώματα όπου η μέγιστη συγκέντρωση σχηματισμού δεν ξεπερνά τα $0,33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Χαρακτηριστικό της πορείας του μεταβολίτη σε όλα τα υποστρώματα είναι ο σχετικά γρήγορος ρυθμός σχηματισμού ($k_1 > 0,093$) και ο πολύ μικρότερος ρυθμός αποδόμησης του ($k_2 < 0,012$). Επίσης ο χρόνος που αντιστοιχεί στη μέγιστη συγκέντρωση του μεταβολίτη σε κάθε υπόστρωμα βρίσκεται μεταξύ 18 και 25 ημερών (**πίνακας 20.7**). Σε κάθε περίπτωση ο ρυθμός αποδόμησης του μεταβολίτη DK ήταν πολύ μικρότερος σε σχέση με το ρυθμό αποδόμησης του μητρικού μορίου.

Πίνακας 20.7. Κινητικές παράμετροι της πορείας του μεταβολίτη DK στο έδαφος (S2) και σε τρία οργανικά υποστρώματα (STRBX, OBX2, GSBX)

| | C_{\max} (%) | a | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | r^2 | t_{\max} (d) [†] |
|--------------|----------------|-------|--------------------------|--------------------------|-------|-----------------------------|
| S2 | 1,37 | 1,548 | $0,191 \pm 0,057$ | $0,007 \pm 0,002$ | 0,864 | 18,2 |
| STRBX | 0,26 | 0,348 | $0,093 \pm 0,025$ | $0,012 \pm 0,004$ | 0,942 | 25,3 |
| OBX2 | 0,33 | 1,053 | $0,122 \pm 0,020$ | $0,005 \pm 0,001$ | 0,990 | 25,4 |
| GSBX | 0,21 | 0,248 | $0,145 \pm 0,035$ | $0,008 \pm 0,002$ | 0,934 | 21,3 |

[†] χρόνος που αντιστοιχεί στη μέγιστη συγκέντρωση του μεταβολίτη, όπως προκύπτει από το χρησιμοποιούμενο μοντέλο

20.4.3. Desamino metribuzin

Ο DA μεταβολίτης στην περίπτωση των οργανικών υποστρωμάτων σχηματίστηκε σε μεγαλύτερη αναλογία σε σχέση με τα DK και DADK (**διάγραμμα 20.6**). Οι μέγιστες συγκεντρώσεις σχηματισμού του μεταβολίτη ήταν 3,7 έως 6,4%, τιμές υπερδεκαπλάσιες σε σχέση με τον έτερο αρχικό μεταβολίτη DK. Χαρακτηριστικό γνώρισμα της κινητικής πορείας του DA μεταβολίτη είναι ο υψηλός ρυθμός σχηματισμού, ιδιαίτερα στα βιομίγματα που περιέχουν κομπόστα. Ιδιαίτερα στο υπόστρωμα GSBX ο ταχύς ρυθμός σχηματισμού ($k_1 = 0,491$) οδηγεί σε μεγιστοποίηση της συγκέντρωσης του μεταβολίτη σε χρόνο μικρότερο της εβδομάδας (**πίνακας 20.8**). Ο ρυθμός αυτός είναι ο υψηλότερος μεταξύ των υποστρωμάτων και συμβαδίζει με τον αντίστοιχα υψηλό ρυθμό αποδόμησης του μητρικού μορίου κατά το πρώτο στάδιο της διφασικής αποδόμησης του. Η μικρότερη τιμή της μέγιστης ποσοστιαίας συγκέντρωσης του DA μεταβολίτη εμφανίστηκε στο υπόστρωμα STRBX, ενώ η υψηλότερη στο έδαφος. Επίσης ο ρυθμός αποδόμησης του μεταβολίτη είναι σε κάθε περίπτωση πολύ μικρότερος του ρυθμού σχηματισμού του και στις περιπτώσεις των βιομιγμάτων STRBX και GSBX είναι μικρότερος από το ρυθμό αποδόμησης του μητρικού μορίου. Αντίθετα, στο βιομίγμα τύρφης ο ρυθμός αποδόμησης του DA μεταβολίτη είναι ίσος του metribuzin. Η μικρότερη συγκέντρωση της ουσίας στο τέλος της περιόδου επώασης υπολογίστηκε στο GSBX υπόστρωμα και ήταν μικρότερη του 0,3% της αρχικής συγκέντρωσης του μητρικού μορίου.

Πίνακας 20.8. Κινητικές παράμετροι του σχηματισμού του μεταβολίτη DA στο έδαφος (S2) και σε τρία οργανικά υποστρώματα (STRBX, OBX2, GSBX)

| | C_{\max} (%) | a | k_1 (d ⁻¹) | k_2 (d ⁻¹) | r^2 | t_{\max} (d) |
|--------------|----------------|--------|--------------------------|--------------------------|-------|----------------|
| S2 | 7,02 | 11,074 | $0,079 \pm 0,011$ | $0,019 \pm 0,003$ | 0,984 | 23,7 |
| STRBX | 3,66 | 5,081 | $0,229 \pm 0,033$ | $0,033 \pm 0,004$ | 0,986 | 9,8 |
| OBX2 | 6,13 | 10,831 | $0,136 \pm 0,049$ | $0,048 \pm 0,016$ | 0,953 | 11,8 |
| GSBX | 6,36 | 7,892 | $0,491 \pm 0,168$ | $0,038 \pm 0,008$ | 0,940 | 5,6 |

20.4.4. Desaminodiketo metribuzin

Η πορεία σχηματισμού του μεταβολίτη ξεκινάει μετά από μια μικρή περίοδο υστέρησης μεταξύ 2 (έδαφος) και 7 ημερών (OBX2 βιομίγμα) (**διάγραμμα 20.6**). Ο ρυθμός με τον οποίο σχηματίζεται ο μεταβολίτης είναι σχετικά αργός σε όλες τις περιπτώσεις με εξαίρεση το υπόστρωμα GSBX. Στο έδαφος ο μεταβολίτης εμφανίζει μια τάση συσσώρευσης καθώς η συγκέντρωση του αυξάνει με το χρόνο δειγματοληψίας. Στο τέλος του χρόνου επώασης μάλιστα η συγκέντρωση του μεταβολίτη υπερβαίνει το 13,5% της αρχικής συγκέντρωσης του metribuzin (**πίνακας 20.9**). Η συσσώρευση του μεταβολίτη αυτού σε συνδυασμό με τα σχετικά μικρά προσρόφηση του μορίου στα συστατικά του εδάφους αυξάνουν τη πιθανότητα κάθετης μετακίνησης του. Η ενσωμάτωση όμως οργανικής ύλης στο έδαφος περιορίζει την ποσοστιαία αναλογία σχηματισμού του DADK (μέγιστη συγκέντρωση σχηματισμού μικρότερη από 3,5%) και μάλιστα στις περιπτώσεις των υποστρωμάτων OBX και GSBX εμφανίζεται και μείωση της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων του με την πάροδο του χρόνου. Και στα δύο αυτά υποστρώματα ο ρυθμός αποδόμησης είναι παραπλήσιος του ρυθμού σχηματισμού του DADK. Τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα μείωσης των υπολειμμάτων του DADK μεταβολίτη εμφάνισε το υπόστρωμα GSBX. Στο υπόστρωμα αυτό η συγκέντρωση του μεταβολίτη στο χρόνο της τελευταίας δειγματοληψίας (t=90 ημέρες) είναι μικρότερη από το 0,4% της αρχικής συγκέντρωσης της μητρικής ουσίας σε αντίθεση με τα υπόλοιπα υποστρώματα που στο χρονικό αυτό σημείο οι συγκεντρώσεις του ίδιου μεταβολίτη είναι μεγαλύτερες από 2%.

Πίνακας 20.9. Κινητικές παράμετροι του σχηματισμού του μεταβολίτη DADK σε τρία οργανικά υποστρώματα και στο έδαφος

| | Σημείο τομής | C _{max} (%) | a | k ₁ (d ⁻¹) | k ₂ (d ⁻¹) | r ² | t _{max} (d) |
|--------------|--------------|----------------------|------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------|----------------------|
| S2 | -1,08 | 23,30 | — | 0,012 ± 0,004 | — | 0,987 | — |
| STRBX | -0,20 | 3,17 | — | 0,018 ± 0,004 | — | 0,989 | — |
| OBX2 | -1,99 | 3,46 | 15,2 | 0,022 ± 0,005 | 0,022 ± 0,005 | 0,974 | 43,4 |
| GSBX | -1,11 | 2,55 | 9,9 | 0,033 ± 0,007 | 0,033 ± 0,006 | 0,928 | 29,1 |

Δοκιμές έκπλυσης σε στήλες

21.1 Εισαγωγή

Τα βιομίγματα που επιλέχθηκαν για τις δοκιμές έκπλυσης σε στήλες είναι το μίγμα άχυρου, κομπόστας στέμφυλων και εδάφους (LBX) και το βιομίγμα που περιείχε βόστρυχους αμπέλου, έδαφος και κομπόστα στέμφυλων (LGS). Τυπικό βιομίγμα τύρφης (LOBX) καθώς και έδαφος (S3) της ίδιας περιοχής δειγματοληψίας χρησιμοποιήθηκαν στη δοκιμή έκπλυσης ως μάρτυρες. Οι φ.ο. που επιλέχθηκαν για τη δοκιμή είναι ουσίες με μικρό συντελεστή προσρόφησης και μεγάλη υδατοδιαλυτότητα όπως το metribuzin και το metolaxyl-M, ουσίες που χαρακτηρίζονται ως πιθανοί ρυπαντές του υδάτινου περιβάλλοντος, όπως το terbuthylazine και το iprodione, αλλά και η ουσία chlorpyrifos που σε φυσιολογικές συνθήκες, λόγω της ισχυρής προσρόφησης του από τα εδαφικά κolloειδή, δεν αναμένεται να καταλήξει σε βαθύτερα εδαφικά στρώματα και στα υπόγεια ύδατα. Το υδατικό σενάριο που επιλέχθηκε περιελάμβανε την εφαρμογή 600 mL άπαξ ανά εβδομάδα με την πρώτη προσθήκη νερού να πραγματοποιείται αμέσως μετά την εφαρμογή του μίγματος των φ.ο. στις στήλες. Η αξιολόγηση των βιομιγμάτων της δοκιμής αυτής πραγματοποιήθηκε με κριτήρια τόσο τη συνολική όσο και τη μέγιστη συγκέντρωση των φ.ο. στο έκπλυμα, αλλά και την απουσία συσσώρευσης των υπολειμμάτων των φ.ο. στο υλικό πλήρωσης των στηλών.

21.2. Παρουσία φ.ο. στο έκπλυμα

Ορισμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των εκπλυμάτων από τις στήλες που πληρώθηκαν με τα τέσσερα υποστρώματα της δοκιμής παρουσιάζονται στον **πίνακα 21.1**. Η παρουσία όλων των ουσιών στο έκπλυμα ήταν εμφανής μια εβδομάδα μετά την είσοδο των φ.ο. στις στήλες. Στις περιπτώσεις μάλιστα του εδάφους και του LGS υποστρώματος οι συγκεντρώσεις που υπολογίστηκαν κατά τη δεύτερη δειγματοληψία (που αφορά το χρονικό διάστημα των πρώτων 7 ημερών) ήταν υψηλότερες σε σχέση με τα υπόλοιπα σημεία δειγματοληψίας. Η έκπλυση των ουσιών σε σύντομο χρονικό διάστημα

μετά την εφαρμογή ενός μίγματος ουσιών έχει αναφερθεί και σε άλλες εργασίες (Fogg et al., 2001). Στην ίδια μελέτη ο χρόνος της αρχικής εμφάνισης των ουσιών βρέθηκε να σχετίζεται αρνητικά με τον όγκο νερού που εφαρμόστηκε. Επίσης, σε δοκιμές σε πειραματική βιοκλίνη στη Δανία ο προσδιορισμός ουσιών σε υψηλές συγκεντρώσεις (έως 5,6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) ήταν δυνατός ακόμη και μια ημέρα μετά την εφαρμογή ενός μίγματος 21 φ.ο. (Spliid et al., 2006).

Πίνακας 21.1. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του εκπλύματος των τεσσάρων υποστρωμάτων στις δοκιμές έκπλυσης με τη χρήση στηλών

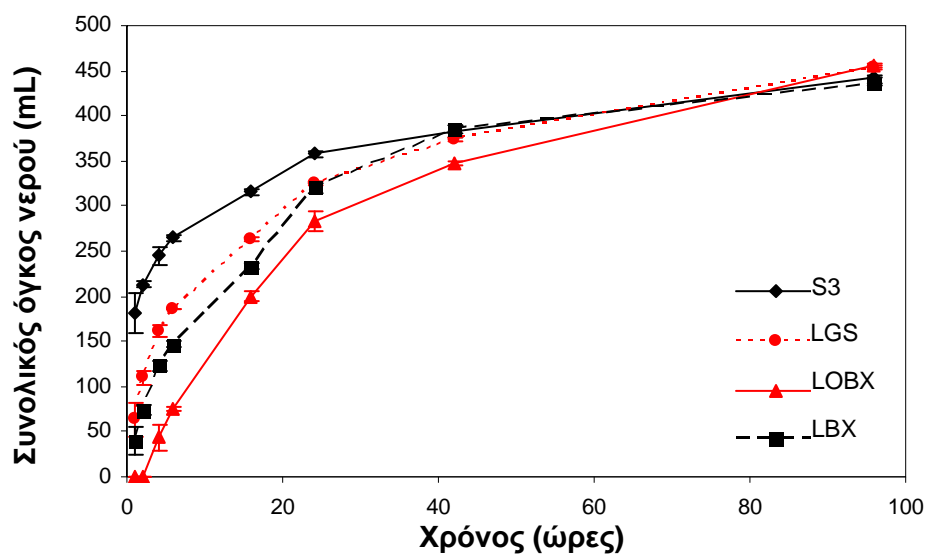
| | S3 | LGS | LOBX | LBX |
|---|-------|-------|-------|-------|
| pH | 8,52 | 7,81 | 7,49 | 7,14 |
| Αγωγιμότητα ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) ⁽¹⁾ | 2040 | 6080 | 2620 | 6960 |
| Συστατικά ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | | | | |
| F | 0 | 9,0 | 1,3 | 0 |
| Cl | 16,8 | 143,6 | 276,5 | 178,1 |
| NO ₂ ⁻ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Br ⁻ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| NO ₃ ⁻ | 422,4 | 0,6 | 2,1 | 7 |
| PO ₄ ⁻³ | 0 | 0 | 10,6 | 8,7 |
| SO ₄ ⁻² | 14,4 | 0 | 210,4 | 20,1 |
| Li ⁺ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Na ⁺ | 52,2 | 57,6 | 57,6 | 64,8 |
| NH ₄ ⁺ | 3 | 25,8 | 0 | 0 |
| K ⁺ | 37,8 | 1839 | 165 | 1123 |
| Mg ⁺⁺ | 139,8 | 166,8 | 88,8 | 108,6 |
| Ca ⁺⁺ | 168,6 | 166,2 | 171,6 | 111,6 |

¹ υπολογισμός στους 19°C

Οι συγκεντρώσεις στις όποιες προσδιορίστηκαν οι ουσίες στις στήλες της δοκιμής μας σε χρόνο 7 ημερών μετά την εφαρμογή του μίγματος των φ.ο. σχετίστηκαν με την ροή της κάθετης μετακίνησης του νερού στις στήλες. Έτσι η μικρότερη ποσότητα των υπολειμμάτων βρέθηκε στο βιομίγμα με βάση την τύρφη (LOBX) όπου ο χρόνος διαφυγής (*breakthrough time*) του νερού μετά από κάθε εφαρμογή είναι περίπου 4 ώρες (**διάγραμμα 21.1**). Αντίθετα στο έδαφος σχεδόν το 1/3 του όγκου νερού που προστίθεται εξέρχεται της στήλης μια ώρα μετά την υδατική φόρτιση.

Η παρουσία υψηλής συγκέντρωσης υπολειμμάτων στα δείγματα της δεύτερης δειγματοληψίας (t=7 ημέρες) οφείλονταν στην εφαρμογή μεγάλης ποσότητας νερού (600 mL) ταυτόχρονα με την εφαρμογή του διαλύματος φόρτισης. Επίσης σχετίζεται με την ασθενή συγκράτηση των φ.ο. στα κolloειδή συστατικά των υποστρωμάτων τις πρώτες ώρες μετά την εφαρμογή του διαλύματος φόρτισης, καθώς ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη της καταστασης ισορροπίας μεταξύ υδατικής και στερεής φάσης στις περιπτώσεις των ουσιών metribuzin, terbutylazine και metolaxyl-M είναι μεγαλύτερος των δύο ωρών (**παράγραφος 16.2**). Στο χρονικό αυτό διάστημα όμως, μέρος της ποσότητας νερού που εφαρμόστηκε (50-250 ml ανάλογα με το υπόστρωμα) έχει ήδη απομακρυνθεί από τη στήλη. Λόγω ακριβώς της απουσίας δυνάμεων συγκράτησης η μετακίνηση των ουσιών τις πρώτες ώρες μετά την εφαρμογή πραγματοποιήθηκε χωρίς να γίνεται διάκριση στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά κάθε

ουσίας. Για παράδειγμα η ανάλυση του δείγματος νερού του βιομίγματος τύρφης στο χρονικό σημείο $t=7$ ημέρες έδειξε την παρουσία του chlorpyrifos σε συγκεντρώσεις παρόμοιες με αυτές ουσιών με μεγαλύτερη υδατοδιαλυτότητα και μικρότερη συνάφεια με τα συστατικά της οργανικής ουσίας (metribuzin, metalaxyl-M, terbutylazine). Η συγκέντρωση αυτή του chlorpyrifos αντιστοιχεί στο 98% της συνολικής ποσότητας της ουσίας που εκπλύθηκε σε όλη τη διάρκεια της δοκιμής έκπλυσης. Παρόμοια συμπεριφορά εμφανίστηκε και στα υπόλοιπα υποστρώματα όπου η ποσότητα του chlorpyrifos και του iprodione που απομακρύνθηκε από κάθε στήλη σε χρόνο μιας εβδομάδας ($t=7$ ημέρες) ήταν υψηλότερη της σωρευμένης ποσότητας των ίδιων ουσιών στους υπόλοιπους χρόνους δειγματοληψίας.

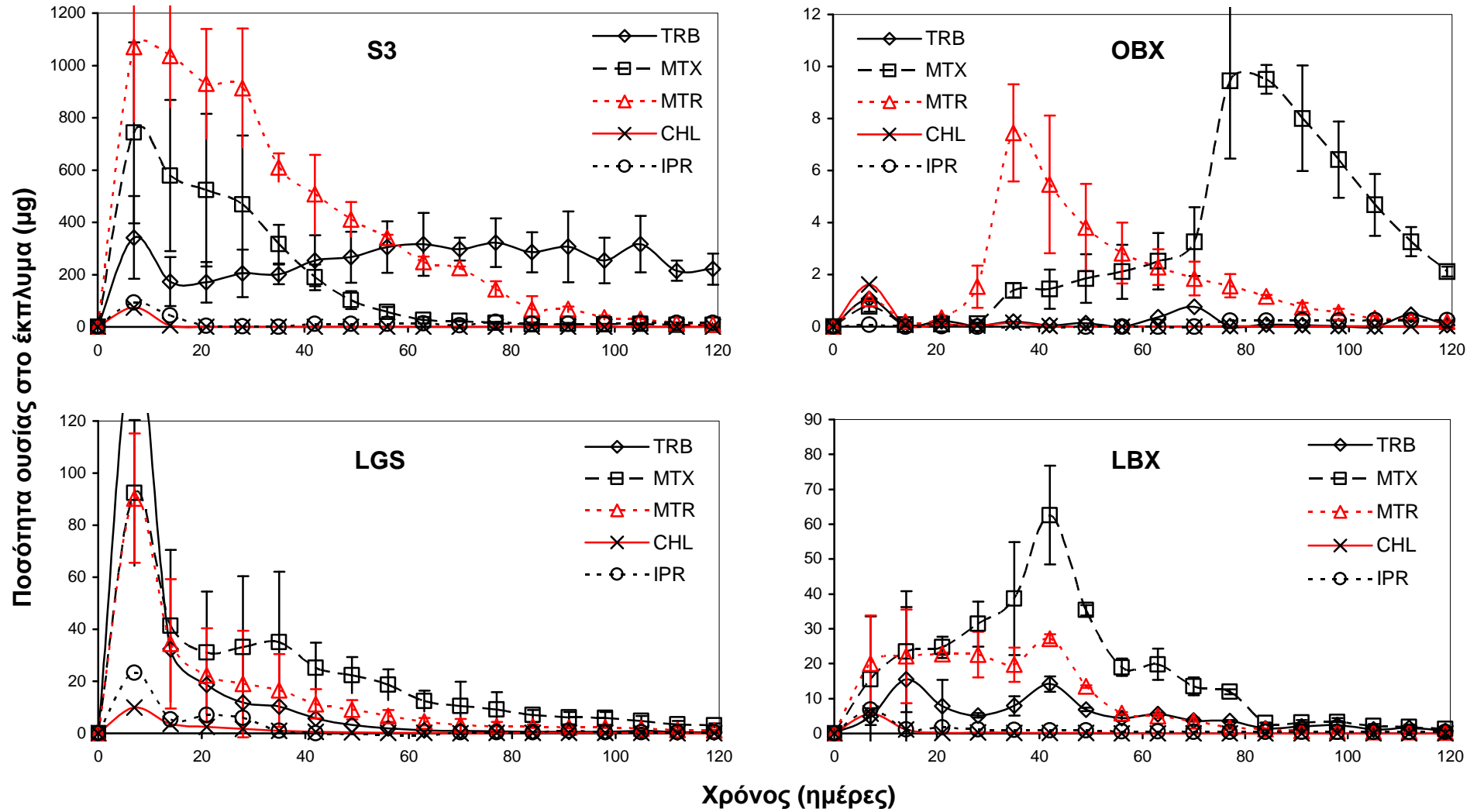


Διάγραμμα 21.1. Σωρευτικό διάγραμμα υπολογισμού του όγκου νερού που καταλήγει στα δοχεία συλλογής του εκπλύματος μετά τη φόρτιση κάθε στήλης με 600 mL νερού. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε σε τρία χρονικά σημεία κατά τη διάρκεια του χρόνου παρακολούθησης ($t= 7, 21, 45$ ημέρες) και χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος των υπολογισθέντων τιμών

21.3. Διαφορές μεταξύ εδάφους και βιομιγμάτων ως προς την ικανότητα συγκράτησης των ουσιών

Η συγκέντρωση των φ.ο. στο έκπλυμα των στηλών ακολούθησε τη σειρά $S3 > LGS = LBX > LOBX$ για όλες τις ουσίες της δοκιμής (**διάγραμμα 21.2**).

Το **έδαφος** εμφάνισε αδυναμία συγκράτησης των φ.ο. της δοκιμής ιδιαίτερα των πλέον κινητικών από αυτές. Η ποσότητα κάθε ουσίας που προσδιορίστηκε στο έκπλυμα του εδάφους ήταν υψηλότερη από αυτή των οργανικών υποστρωμάτων με ένα συντελεστή από 11 έως 350 περίπου (**πίνακας 21.2**). Σε προηγούμενη εργασία έκπλυσης σε λυσίμετρα, η συγκέντρωση των φ.ο. isoproturon και dimethoate στο έκπλυμα του εδάφους ήταν 30,6 έως 840 φορές υψηλότερη από αυτή που μετρήθηκε σε οργανικά βιομίγματα κομπόστας (Fogg et al., 2000).



Διάγραμμα 21.2. Η συγκέντρωση πέντε φ.ο. στο έκπλυμα σε διάφορους χρόνους μετά την εφαρμογή τους σε στήλες που περιείχαν έδαφος (S3), βιομίγμα με βάση την τύρφη (OBX), βιομίγμα με κομπόστα στέμφυλλων και βόστρυχους αμπέλου (LGS) και βιομίγμα με κομπόστα στέμφυλλων και άχυρο (LBX)

Η πολύ μεγαλύτερη ικανότητα των βιομιγμάτων για συγκράτηση των φ.ο. σε σχέση με το έδαφος επιβεβαιώθηκε και σε άλλη εργασία με τη χρήση μικρής κλίμακας βιοκλινών. Οι συγκεντρώσεις των φ.ο. dimethoate και MCPA στα νερά απορροής των βιοκλινών αυτών ήταν πολύ μεγαλύτερες όταν το υλικό πλήρωσης των βιοκλινών ήταν αργιλώδες έδαφος αντί βιομίγματος τύρφης (Henriksen et al., 2003). Η εμφάνιση των φ.ο. στο έκπλυμα των πληρούμενων με έδαφος στηλών της δοκιμής μας ακολούθησε τη σειρά metribuzin > metalaxyl-M > terbuthylazine > iprodione > chlorpyrifos, όπως δηλαδή αναμένονταν με βάση τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της κάθε ουσίας. Η διαβάθμιση της συγκέντρωσης των ουσιών στο έκπλυμα ανάλογα με τις φυσικοχημικές ιδιότητες κάθε ουσίας (συντελεστής K_{oc} , υδατοδιαλυτότητα) έχει παρατηρηθεί και σε προηγούμενες μελέτες με τη χρήση λυσίμετρων (Fogg et al., 2004a; Fogg et al., 2004c) ή πειραματικών βιοκλινών (Spliid et al., 2006). Η τυπική πορεία των υπολειμμάτων των ουσιών στις πληρούμενες με έδαφος στήλες περιελάμβανε τη μεγιστοποίηση συγκέντρωσης στη δεύτερη δειγματοληψία (χρονικό διάστημα 1 έως 7 ημερών) και τη σταδιακή μείωση της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων στο επόμενο χρονικό διάστημα. Εξαιρεση στον κανόνα αυτό εμφάνισε το terbuthylazine, καθώς η πορεία έκπλυσης του εμφανίστηκε σχετικά σταθερή σε όλο το διάστημα της δειγματοληψίας (**διάγραμμα 21.2**). Η συμπεριφορά αυτή του terbuthylazine εξηγείται από το μικρό ρυθμό αποδόμησης του στο έδαφος. Πράγματι από την ανάλυση του εδάφους μετά το τέλος του χρόνου παρακολούθησης προέκυψε ότι περίπου σχεδόν το 50% της ποσότητας της ουσίας που εισήλθε στη στήλη παραμένει σε αυτή και άρα είναι διαθέσιμη προς έκπλυση (**πίνακας 21.2**)

Πίνακας 21.2. Ισοζύγιο μάζας (% ποσοστό) κάθε μιας από τις πέντε ουσίες της δοκιμής μετά το τέλος του πειράματος έκπλυσης

| | | Terbuthylazine | Metalaxyl-M | Metribuzin | Chlorpyrifos | Iprodione |
|-------------|-------------|----------------|-------------|------------|--------------|-----------|
| LOBX | Στήλη | 16,93 | 2,42 | 0,36 | 11,02 | 0,31 |
| | Έκπλυμα | 0,003 | 0,097 | 0,049 | 0,003 | 0,002 |
| | Απομάκρυνση | 83,07 | 97,48 | 99,59 | 88,98 | 99,69 |
| S3 | Στήλη | 46,37 | 1,49 | 0,79 | 0,31 | 0,00 |
| | Έκπλυμα | 4,147 | 5,266 | 10,355 | 0,112 | 0,383 |
| | Απομάκρυνση | 49,48 | 93,25 | 88,85 | 99,58 | 99,62 |
| LBX | Στήλη | 5,03 | 1,56 | 0,09 | 1,47 | 0,15 |
| | Έκπλυμα | 0,083 | 0,527 | 0,260 | 0,011 | 0,024 |
| | Απομάκρυνση | 94,89 | 97,91 | 99,65 | 98,51 | 99,83 |
| LGS | Στήλη | 3,50 | 1,50 | 0,13 | 1,76 | 0,22 |
| | Έκπλυμα | 0,227 | 0,614 | 0,360 | 0,029 | 0,059 |
| | Απομάκρυνση | 96,27 | 97,89 | 99,51 | 98,21 | 99,72 |

Η συμπεριφορά αυτή του terbuthylazine δεν παρατηρήθηκε σε κανένα από τα οργανικά υποστρώματα της δοκιμής και αυτό αποδίδεται αφενός στην ταχύτερη αποδόμηση του μορίου παρουσία οργανικής ουσίας (η ποσότητα που παραμένει στα οργανικά υποστρώματα μετά το τέλος του χρόνου παρακολούθησης είναι μικρότερη από 17%) και αφετέρου στη μικρή ικανότητα συγκράτησης και την αυξημένη εκρόφηση της ουσίας στο έδαφος (στα οργανικά υποστρώματα αντίθετα η προσρόφηση εμφανίζεται πιο έντονη και είναι ανάλογη της περιεκτικότητας σε οργανική ουσία).

Το **βιομίγμα με βάση την τύρφη (LOBX)** κατάφερε να συγκρατήσει ισχυρά όλες τις ουσίες της δοκιμής. Ιδιαίτερα για τις ουσίες terbutylazine, chlorpyrifos και iprodione η ποσότητα που μετρήθηκε στο έκπλυμα μετά από κάθε προσθήκη νερού δεν ξεπέρασε τα 2 µg. Το σωρευμένο ποσοστό μάλιστα των ουσιών αυτών που εκπλύθηκε κατά τη διάρκεια του χρόνου παρακολούθησης ήταν < 0,1% της ποσότητας εφαρμογής σε κάθε περίπτωση. Οι ουσίες που προδιορίστηκαν σε μεγαλύτερες ποσότητες ήταν το metribuzin και το metalaxyl-M, που παρουσίασαν μέγιστη ποσότητα μέτρησης σε χρόνους 35 και 77 ημερών, αντίστοιχα. Στα χρονικά αυτά σημεία η ποσότητα των δύο ουσιών στο έκπλυμα αντιστοιχεί σε 7 και 9 µg αντίστοιχα. Από τα χρονικά αυτά σημεία και μέχρι το τέλος του χρόνου παρακολούθησης η μάζα των δύο αυτών ουσιών στο έκπλυμα φθίνει σταδιακά. Η ποσότητα του metribuzin μάλιστα στην τελευταία δειγματοληψία (t=120 ημέρες) προσεγγίζει τα όρια ποσοστικού προσδιορισμού.

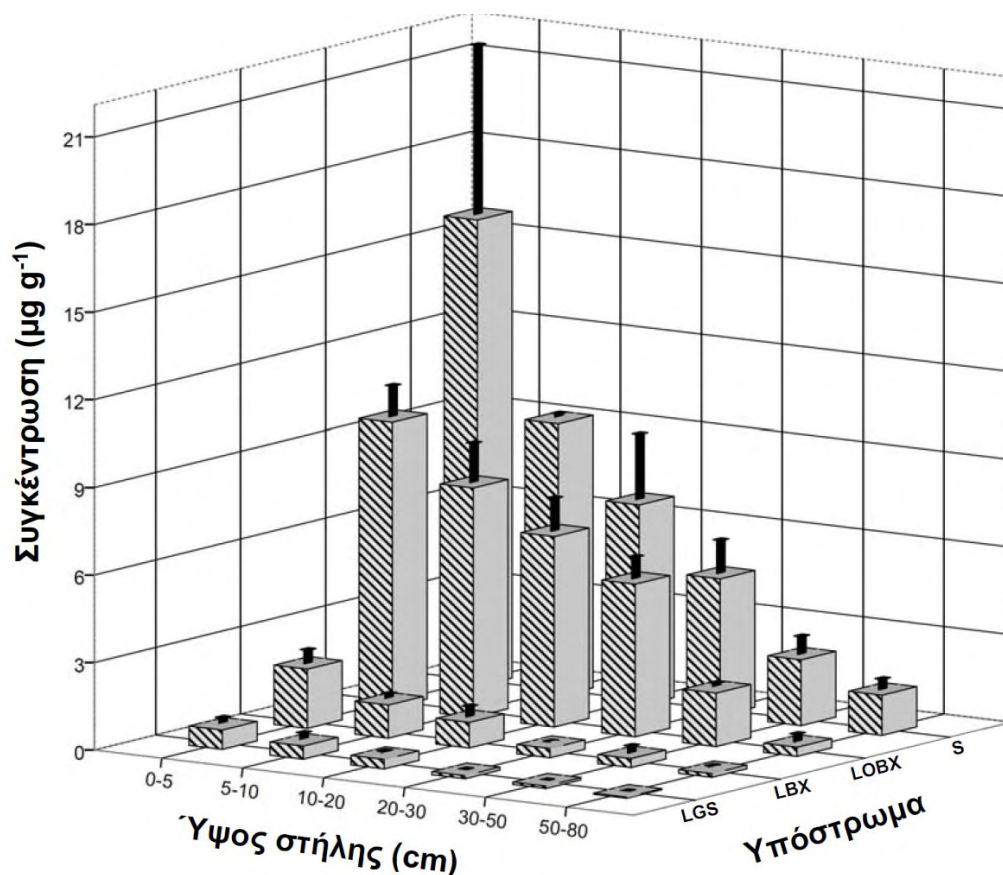
Στο **υπόστρωμα με βάση την κομπόστα ελαιόφυλλων (LBX)** η ποσότητα των υπολειμμάτων που απομακρύνθηκε από τη στήλη είναι πολλαπλάσια αυτής του βιομίγματος τύρφης (LOBX). Όπως και στην περίπτωση του LOBX βιομίγματος η ουσία που εμφάνισε τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στο έκπλυμα τόσο ως συνολική ποσότητα που εκπλύθηκε (**πίνακας 21.2**) όσο και ως μέγιστη συγκέντρωση (**διάγραμμα 21.2**) είναι το metalaxyl-M. Υψηλές συγκεντρώσεις στο έκπλυμα ήταν επίσης εμφανείς για το terbutylazine και ιδιαίτερα για το metribuzin. Και στις τρεις αυτές ουσίες η συγκέντρωση των υπολειμμάτων μεγιστοποιήθηκε σε χρόνο 42 ημερών από την εφαρμογή. Από το σημείο αυτό η συγκέντρωση των υπολειμμάτων φθίνει σταδιακά. Η παρουσία των σχετικά λιπόφιλων ουσιών chlorpyrifos και iprodione περιορίστηκε κυρίως στο έκπλυμα της δεύτερης δειγματοληψίας, ενώ για το υπόλοιπο χρονικό διάστημα οι συγκεντρώσεις βρίσκονταν κοντά στα όρια ποσοτικοποίησης.

Στις στήλες που πληρώθηκαν με **βιομίγμα με βάση τους βόστρυχους αμπέλου (LGS)** τουλάχιστο το 40% της συνολικής ποσότητας των ουσιών που εκπλύθηκε από τις στήλες ανιχνεύτηκε στο έκπλυμα της δεύτερης δειγματοληψίας, δηλαδή 7 ημέρες μετά την εφαρμογή. Η ταχεία κάθετη μετακίνηση των φ.ο. στο υπόστρωμα μπορεί εν μέρει να αποδοθεί στον ταχύ χρόνο διαφυγής του νερού μέσα από τη στήλη (**διάγραμμα 21.2**). Στους υπόλοιπους χρόνους δειγματοληψίας η συγκέντρωση όλων των ουσιών στο έκπλυμα μειώνεται σταδιακά. Και στο βιομίγμα αυτό οι ουσίες με την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο έκπλυμα ήταν το metribuzin και το metalaxyl-M και ακολούθως η ουσία terbutylazine.

21.4. Ισοζύγιο μάζας των φ.ο. στις στήλες στο τέλος της δοκιμής έκπλυσης

Μεταξύ των ουσιών της δοκιμής το **terbutylazine** εμφάνισε το μεγαλύτερο χρόνο παραμονής στα υποστρώματα. Μετά το τέλος του χρόνου παρακολούθησης το ποσοστό της ουσίας που παραμένει στις στήλες είναι τουλάχιστο 3,5% (LGS), ενώ στο έδαφος το αντίστοιχο ποσοστό είναι 46,4% της αρχικής ποσότητας (**πίνακας 21.2**). Ο μεγάλος χρόνος παραμονής του terbutylazine στο έδαφος οφείλεται στο μικρό ρυθμό αποδόμησης του. Σε προηγούμενες δοκιμές αποδόμησης το terbutylazine εμφάνισε χρόνο ημιζωής στο έδαφος μεγαλύτερο από 100 ημέρες. Επίσης σύμφωνα με τα αποτελέσματα της δοκιμής προσρόφησης σε έδαφος με παραπλήσια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά το

terbuthylazine εμφανίζει μικρή τιμή K_f ($4,39 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$) ενώ ένα πολύ μεγάλο μέρος της προσροφημένης στα συστατικά του εδάφους ουσίας είναι σε θέση να επαναδιαλυθεί στο υδατικό διάλυμα μέσω της εκρόφησης (K_{fdes} $6,03 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$). Η συμπεριφορά του terbuthylazine στο έδαφος εξηγεί και την εμφάνιση των υπολειμμάτων της ουσίας στο έκπλυμα ακόμη και 4 μήνες μετά την εφαρμογή του μίγματος των φ.ο. και μάλιστα σε σταθερά υψηλές συγκεντρώσεις (**διάγραμμα 21.2**). Υπολείμματα του terbuthylazine μετρήθηκαν όμως και στο υπόστρωμα τύρφης, μετά το τέλος του πειράματος έκπλυσης, παρά την πολύ μικρή αναλογία της ουσίας στο έκπλυμα. Η ποσότητα της ουσίας (17% της εφαρμοσθείσας) που παραμένει στη στήλη είναι 3,4-4,8 φορές υψηλότερο του αντίστοιχου ποσοστού στα υποστρώματα που περιέχουν κομπόστα (LGS και LBX).

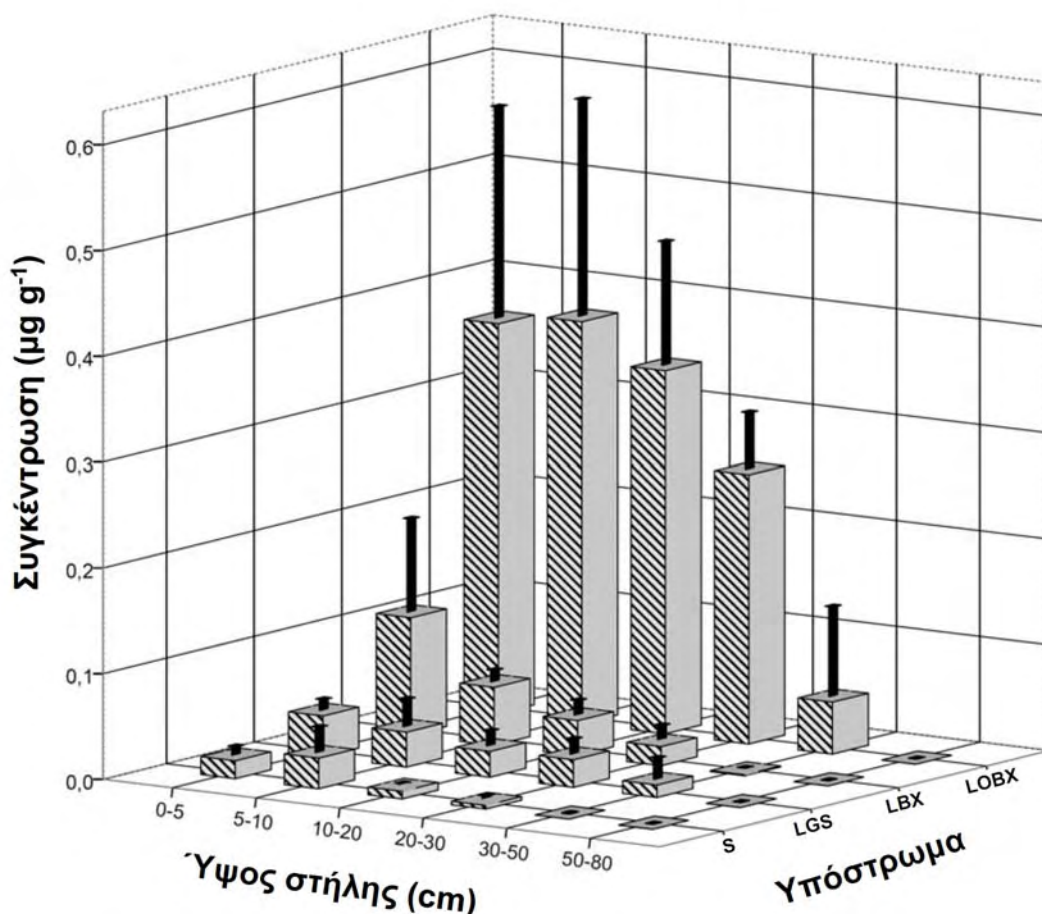


Διάγραμμα 21.3. Συγκέντρωση του terbuthylazine στο υλικό πλήρωσης των στηλών (S3, LOBX, LBX, LGS) και σε διαφορετικούς οριζόντες (0-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-50 και 50-80) του κάθετου προφίλ της στήλης, ξεκινώντας από το υψηλότερο σημείο του βιομίγματος

Το γεγονός αυτό εξηγείται από την ισχυρότερη συγκράτηση του terbuthylazine στα συστατικά της οργανικής ουσίας της τύρφης σε σχέση με την κομπόστα, σε συνδυασμό με τη μικρή εκρόφηση στο υπόστρωμα αυτό, όπως καταγράφηκε στις δοκιμές προσρόφησης-εκρόφησης (**παράγραφος 17.5.2**). Στο τέλος των δοκιμών έκπλυσης το terbuthylazine εμφανίζεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στα πρώτα 5 εκατοστά της στήλης, σε όλα τα υποστρώματα της δοκιμής. Η συγκέντρωση των υπολειμμάτων που παραμένει στα 5 πρώτα εκατοστά του εδάφους με την ολοκλήρωση της δοκιμής είναι μεγαλύτερη από $15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (**διάγραμμα 21.3**). Στα υποστρώματα LGS και LBX, αντίθετα, η συγκέντρωση της ουσίας είναι μικρότερη από $2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ στα πρώτα εκατοστά της στήλης, ενώ σταδιακά περιορίζεται σε επίπεδα $0,2$ έως $0,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ στα βαθύτερα στρώματα. Στο βιομίγμα τύρφης η

συγκέντρωση σε κάθε ύψος δειγματοληψίας είναι πολλαπλάσια των άλλων οργανικών υποστρωμάτων.

Το **metalaxyl-M** είναι μαζί με το metribuzin οι ουσίες με την μεγαλύτερη κινητικότητα στο έδαφος. Με εξαίρεση το έδαφος το metalaxyl-M παρουσιάζει μεγαλύτερες ποσότητες υπολειμμάτων στο έκπλυμα μεταξύ των ουσιών της δοκιμής. Το ποσοστό της ουσίας που ανιχνεύεται στο έκπλυμα μετά από 4 μήνες επώασης κυμάνθηκε από 0,1% (LOBX βιομίγμα) έως 5,3% (S3).

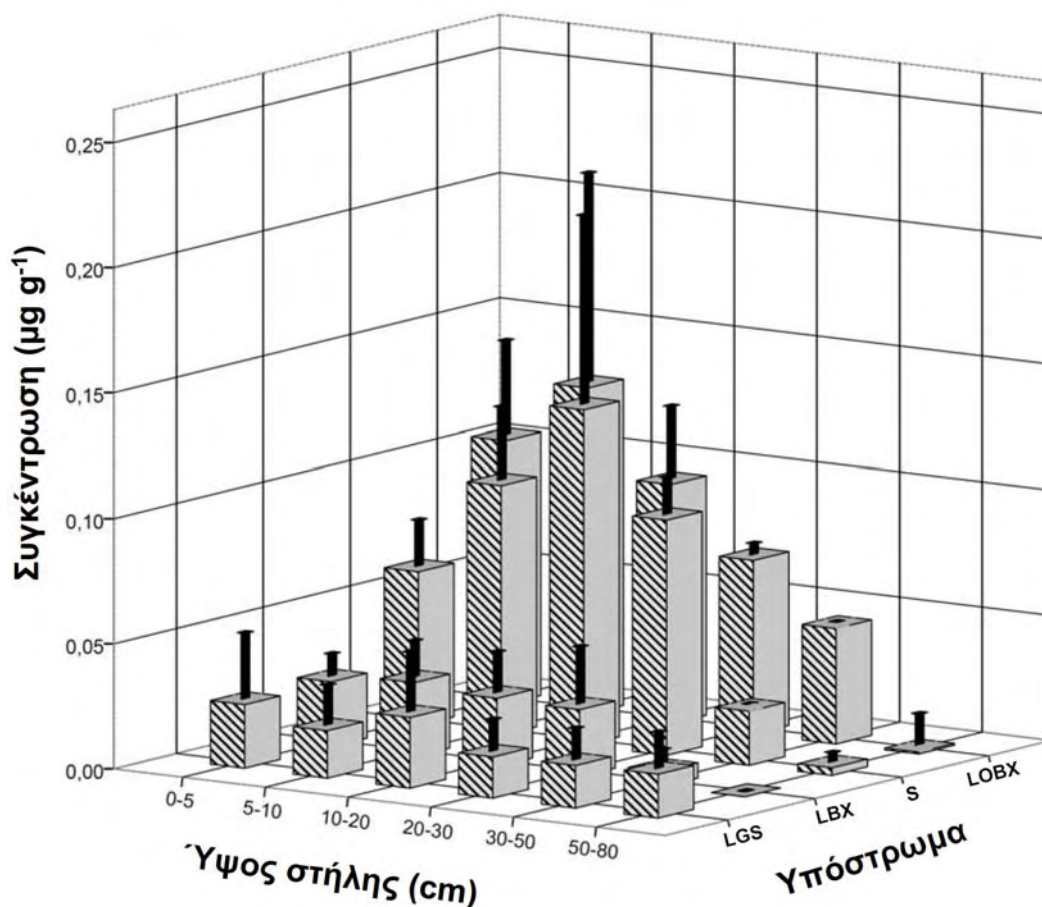


Διάγραμμα 21.4. Συγκέντρωση του metalaxyl-M στο υλικό πλήρωσης των στηλών (S3, LOBX, LBX, LGS) και σε διαφορετικούς ορίζοντες (0-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-50 και 50-80) του κάθετου προφίλ της στήλης, ξεκινώντας από το υψηλότερο σημείο του βιομίγματος

Σε κάθε περίπτωση η μείωση της συγκέντρωσης του metalaxyl-M στο έκπλυμα που επιτυγχάνεται με τη χρήση βιομιγμάτων είναι 8,6-54,2 φορές σε σχέση με το έδαφος. Επίσης το metalaxyl-M είναι η ουσία με τις μικρότερες διαφοροποιήσεις ως προς το ποσοστό αποδόμησης που υπολογίστηκε στα διάφορα υποστρώματα στο ίδιο χρονικό διάστημα. Έτσι το ποσοστό των υπολειμμάτων που δεν αποδομήθηκαν ή εκπλύθηκαν είναι 1,49-2,42%, με το μεγαλύτερο ποσοστό να αφορά το υπόστρωμα τύρφης, λόγω της μικρότερης αποδομητικής του ικανότητας για την ουσία αυτή (**παράγραφος 15.3.1**). Τα υπολείμματα το metalaxyl-M που παραμένουν στο έδαφος είναι λιγότερα από αυτά των οργανικών υποστρωμάτων και ιδιαίτερα του βιομίγματος τύρφης. Σε όλα τα υποστρώματα όμως η συγκέντρωση της ουσίας στα τελευταία 30 εκατοστά της στήλης είναι μικρότερη από το όριο ποσοτικού προσδιορισμού (**διάγραμμα 21.4**). Στο βιομίγμα τύρφης η κατανομή της ουσίας στη στήλη δεν εμφανίζει την τυπική κλιμακωτή διαβάθμιση που παρουσιάζεται σε άλλες ουσίες. Η συγκέντρωση της

ουσίας δεν μεταβάλλεται στα πρώτα 20 εκατοστά του υποστρώματος ($\approx 0,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) ενώ μειώνεται απότομα στα επόμενα βάρη.

Η ουσία **metribuzin** εμφανίζει μεγάλη κινητικότητα στο έδαφος λόγω της υψηλής υδατοδιαλυτότητας και του χαμηλού συντελεστή προσρόφησης του. Από τα αποτελέσματα της δοκιμής προκύπτει ότι η ποσότητα του metribuzin που κατακρατήθηκε από τα διάφορα υποστρώματα στο τέλος του χρόνου παρακολούθησης ήταν μικρότερη από 0,79% (S3). Τα υποστρώματα κομπόστας εμφανίστηκαν πιο ικανά να αποδομήσουν την ουσία σε σχέση με το έδαφος και το υπόστρωμα τύρφης (**πίνακας 21.2**). Λόγω της ταχύτατης κάθετης μετακίνησης του metribuzin στο έδαφος η ποσότητα της ουσίας που απομακρύνεται από τη στήλη υπερβαίνει το 10% στις εδαφικές στήλες (**διάγραμμα 21.5**).

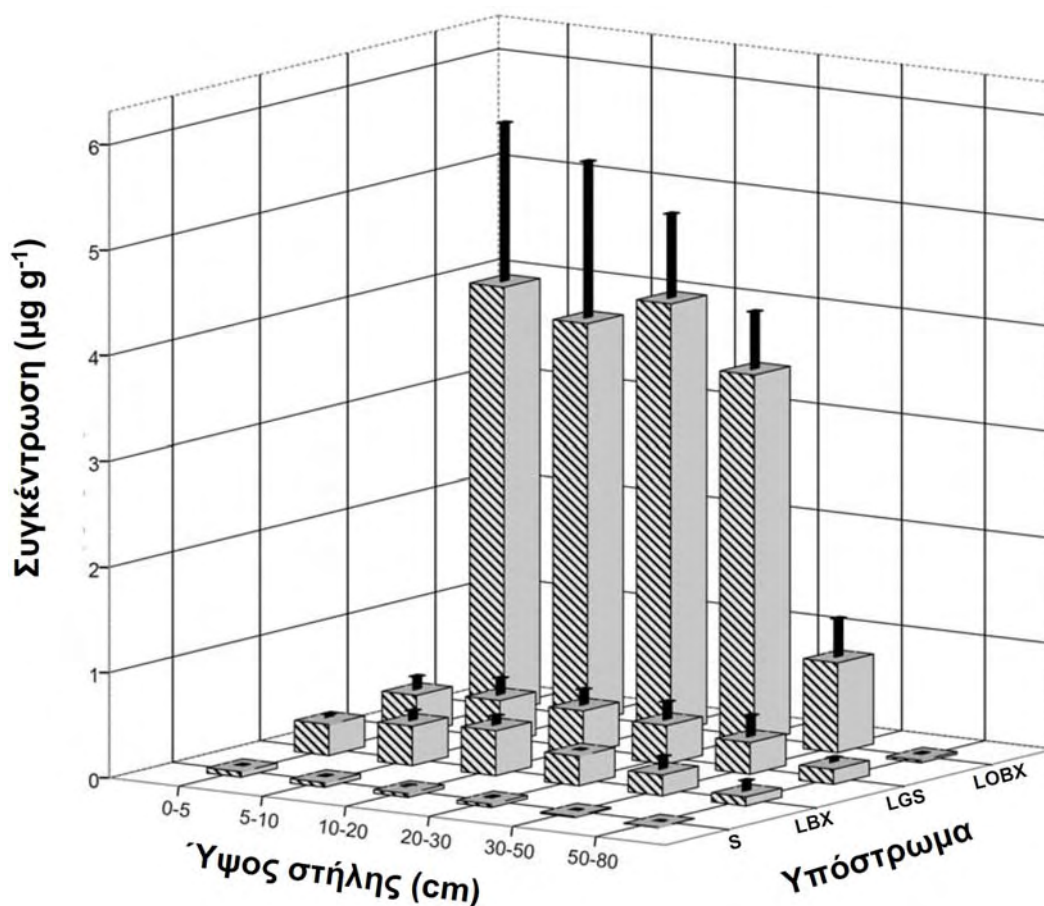


Διάγραμμα 21.5. Συγκέντρωση του metribuzin στο υλικό πλήρωσης των στηλών (S3, LOBX, LBX, LGS) και σε διαφορετικούς οριζόντιους (0-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-50 και 50-80) του κάθετου προφίλ της στήλης, ξεκινώντας από το υψηλότερο σημείο του βιομπίγματος

Αντίθετα όλα τα οργανικά υποστρώματα περιορίζουν το ποσοστό της ουσίας στο έκπλυμα κατά 29 (LGS) έως 211 φορές (LOBX) σε σχέση με το έδαφος. Σε δοκιμή σε πειραματική βιοκλίνη στη Δανία το metribuzin ανιχνεύτηκε στο έκπλυμα σε συγκεντρώσεις έως $18 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, ενώ το ποσοστό της ουσίας που παρέμεινε στη βιοκλίνη ήταν 35 και 3% περίπου 44 και 169 ημέρες μετά την εφαρμογή αντίστοιχα (Spiliid et al., 2006). Τις υψηλότερες συγκεντρώσεις του metribuzin που παρέμειναν στο υλικό πλήρωσης των στηλών της δοκιμής ανιχνεύτηκαν στο βιομπίγμα LOBX και στο έδαφος. Χαρακτηριστικό της ουσίας αυτής είναι η μη διαβάθμιση της συγκέντρωσης της με το ύψος της στήλης (**διάγραμμα 21.5**). Έτσι στο υπόστρωμα τύρφης η μέγιστη υπολογισθείσα συγκέντρωση αφορά το διάστημα 5-10 εκατοστά ενώ στο έδαφος η συγκέντρωση στο 10-20 εκατοστά είναι υπερδιπλάσια της συγκέντρωσης

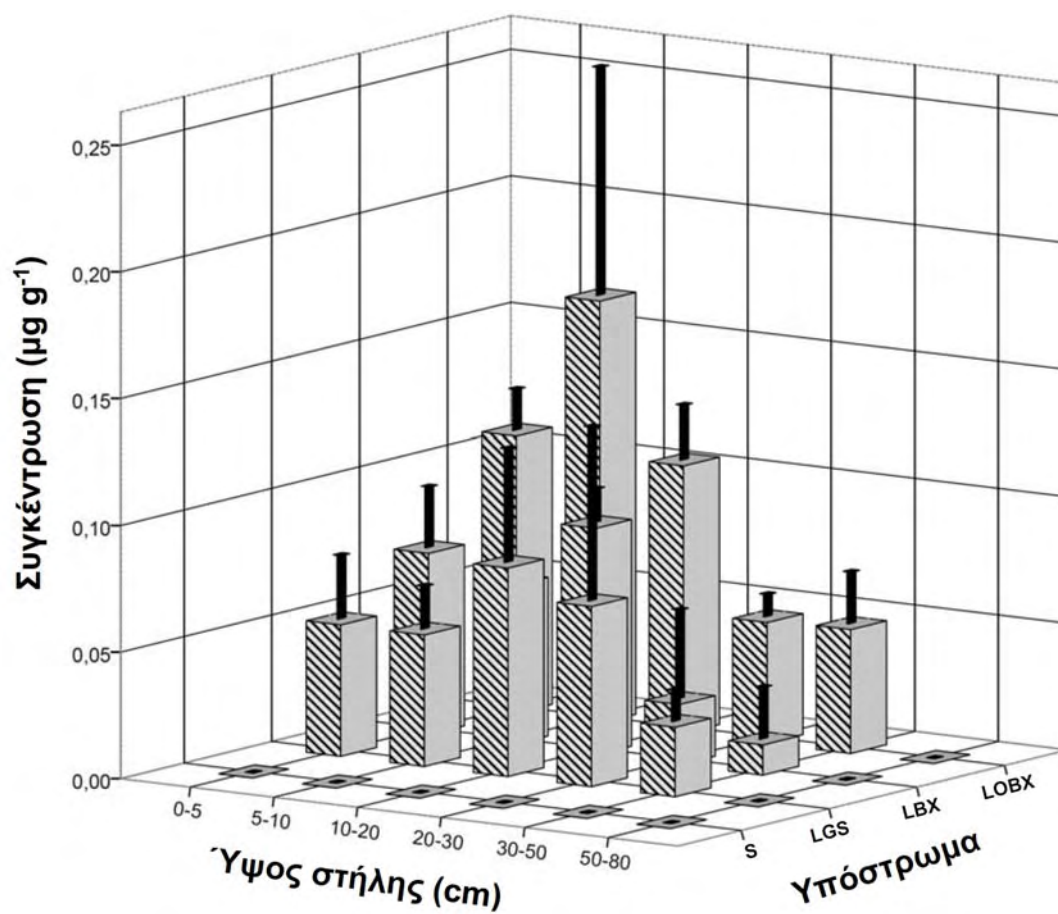
στα πρώτα 5 εκατοστά. Στο βιομίγμα με βάση τους βόστρυχους (LGS) μάλιστα η συγκέντρωση δεν διαφοροποιείται ιδιαίτερα με το ύψους της στήλης ενώ στο βιομίγμα LBX η μείωση των επιπέδων συγκέντρωσης είναι εμφανής μετά τα πρώτα 30 εκατοστά του βιομίγματος. Παρά την μικρή αναλογία του metribuzin που παραμένει στο LGS υπόστρωμα στο τέλος του χρόνου παρακολούθησης η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στο βάθος 50-80 εκατοστών είναι η υψηλότερη μεταξύ των υποστρωμάτων.

Το **chlorpyrifos** εμφάνισε μικρή συγκέντρωση στο έκπλυμα σε όλα τα υποστρώματα. Η υψηλότερη συγκέντρωση της ουσίας μετρήθηκε στο έδαφος (0,112%) (**πίνακας 21.2**). Χαρακτηριστικό είναι ότι η ανίχνευση του στο έδαφος ήταν δυνατή μόνο στο έκπλυμα που συλλέχθηκε κατά την πρώτη δειγματοληψία ενώ στις επόμενες δειγματοληψίες η συγκέντρωση του βρισκόταν κοντά στα όρια του ποσοτικού προσδιορισμού. Η περιορισμένη έκπλυση του chlorpyrifos οφείλεται στην υψηλή λιποφιλικότητα του και στην ισχυρή συνάφεια του με τα συστατικά της οργανικής ουσίας. Επίσης η ταχεία αβιοτική ή βιοτική αποδόμηση του σε αλκαλικές συνθήκες εδάφους εξηγεί το γεγονός ότι η ανίχνευση του ήταν δυνατή μόνο κατά τις πρώτες 7 ημέρες μετά την εφαρμογή. Παρά το συγκριτικό πλεονέκτημα της ταχείας αποδόμησης του chlorpyrifos στο έδαφος τα οργανικά υποστρώματα περιόρισαν την ποσότητα της ουσίας που καταλήγει στο έκπλυμα κατά 3,9 έως 37,3 φορές. Στο βιομίγμα κομπόστας το ποσοστό που εκπλύθηκε ήταν 0,011%. Σε προηγούμενη δοκιμή έκπλυσης που περιλάμβανε μεταξύ των ουσιών και το chlorpyrifos η συνολική ποσότητα της ουσίας που ανιχνεύτηκε στο έκπλυμα κυμαίνονταν από 0-0,4% ανάλογα με το υδατικό σενάριο που ακολουθήθηκε (Fogg et al, 2004a; Fogg et al., 2004c). Η σημαντική παρουσία υπολειμμάτων του chlorpyrifos στο LOBX υπόστρωμα είναι αποτέλεσμα της πολύ μεγάλης συνάφειας του chlorpyrifos με την οργανική ουσία. Η συγκέντρωση ανίχνευσης στα πρώτα 30 cm δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις ενώ στα τελευταία 30 εκατοστά της στήλης οι συγκέντρωσης της ουσίας βρίσκονται σε επίπεδα μικρότερα του $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (**διάγραμμα 21.6**). Η μικρότερη συγκέντρωση του chlorpyrifos όπως αναμενόταν υπολογίστηκε στο υπόστρωμα έδαφος. Η συγκέντρωση σε κάθε περίπτωση ήταν μικρότερη από $0,05 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.



Διάγραμμα 21.6. Συγκέντρωση του chlorpyrifos στο υλικό πλήρωσης των στηλών (S3, LOBX, LBX, LGS) και σε διαφορετικούς ορίζοντες (0-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-50 και 50-80) του κάθετου προφίλ της στήλης, ξεκινώντας από το υψηλότερο σημείο του βιομίγματος

Το **iprodione** εμφανίζεται στο έκπλυμα σε συγκεντρώσεις μικρότερες από 0,4%. Οι μικρές συγκεντρώσεις οφείλονται στην ταχεία αποδόμηση του iprodione στις αλκαλικές συνθήκες των εδάφους (**πίνακας 21.1**). Έτσι μετά το τέλος της δοκιμής στο έδαφος παρέμειναν μόνο ίχνη της ουσίας. Και στα οργανικά υποστρώματα όμως το iprodione εμφανίστηκε σε συγκεντρώσεις μικρότερες από 0,31%. Στις περιπτώσεις των οργανικών υποστρωμάτων η συγκέντρωση του iprodione στα τελευταία 30 εκατοστά της στήλης έκπλυσης ήταν μικρότερη των ορίων ποσοτικοποίησης (**διάγραμμα 21.7**).



Διάγραμμα 21.7. Συγκέντρωση του iprodione στο υλικό πλήρωσης των στηλών (S3, LOBX, LBX, LGS) και σε διαφορετικούς ορίζοντες (0-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-50 και 50-80) του κάθετου προφίλ της στήλης, ξεκινώντας από το υψηλότερο σημείο του βιομίγματος

Πειραματικό μέρος

Συμπεράσματα

Η παρουσία υπολειμμάτων φ.ο. σε υδάτινους αποδέκτες αποτελεί σήμερα μια από τις σημαντικότερες μορφές ρύπανσης του περιβάλλοντος. Αν και στην Ελλάδα δεν υπάρχει συγκροτημένη έρευνα σχετικά με τις πιθανές πηγές της ρύπανσης των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων από τη χρήση φ.π., η εμπειρία από άλλες ευρωπαϊκές χώρες καταδεικνύει τη σημαντική συνεισφορά των σημειακών πηγών στην πρόκληση περιβαλλοντικής ρύπανσης. Η μορφή αυτή ρύπανσης είναι συνήθως αποτέλεσμα λανθασμένων χειρισμών τόσο στον αγρό όσο και στις θέσεις φόρτωσης/αδειάσματος ή πλυσίματος των ψεκαστικών συστημάτων. Ακόμη όμως και στις περιπτώσεις πιστής εφαρμογής των ορθών πρακτικών για το χειρισμό των φ.π., όπως ορίζονται από τη νομοθεσία, είναι δυνατή η μετακίνηση και η ανίχνευση υπολειμμάτων φ.ο. στο νερό σε συγκεντρώσεις που υπερβαίνουν τα ανεκτά όρια που θεσπίστηκαν με την οδηγία 98/83/EEC. Για την αντιμετώπιση των προβλημάτων αυτών η προσοχή έχει στραφεί στην ανάπτυξη χαμηλού κόστους συστημάτων απορρύπανσης του νερού, κατάλληλων για χρήση στον αγρό και χωρίς ιδιαίτερες απαιτήσεις σε εξειδικευμένο προσωπικό ή φροντίδες συντήρησης. Οι βιοκλίνες παρέχουν ένα ιδανικό περιβάλλον για την απομάκρυνση των φ.ο. από το νερό, που προέρχεται από το άδειασμα και το ξέπλυμα των ψεκαστικών συστημάτων. Το κύριο σώμα της βιοκλίνης είναι το ενεργό βιομίγμα που σχηματίζεται από την ανάμιξη του εδάφους με άχυρο και χουμποποιημένη ύλη. Η προέλευση και η σχετική αναλογία της οργανικής ύλης στο ενεργό βιομίγμα καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την απορρυπαντική ικανότητα του συστήματος. Η βελτιστοποίηση επομένως των συστημάτων βιοκλινών και η προσαρμογή τους στις απαιτήσεις της ελληνικής γεωργίας απαιτούν εκτεταμένη έρευνα γύρω από τη σύσταση και τα χαρακτηριστικά του ενεργού βιομιγματος που θα χρησιμοποιηθεί. Ιδανικά απαιτείται η αξιοποίηση οργανικών παραπροϊόντων της τοπικής γεωργίας που παρουσιάζουν ταυτόχρονα υψηλή διαθεσιμότητα και αποδεκτό κόστος συλλογής και επεξεργασίας. Στα οργανικά αυτά υλικά περιλαμβάνονται προϊόντα βιοσταθεροποίησης φυτικών παραπροϊόντων της Ελληνικής γεωργίας και της τοπικής αγροτικής βιομηχανίας (κομπόστες ελαιόφυλλων, υπολειμμάτων της εκκόκκισης βάμβακος, υποστρωμάτων ανάπτυξης μανιταριών κ.α.) καθώς και λιγνινοκυτταρινούχα υπολείμματα καλλιεργειών (π.χ. αραβόσιτου, ηλίανθου, ελαιόδεντρων).

Η αποτελεσματικότητα των βιομιγμάτων στην απομάκρυνση φ.ο. από το νερό επιβεβαιώθηκε τόσο στις εργαστηριακές δοκιμές αποδόμησης και προσρόφησης όσο και στις δοκιμές έκπλυσης στις στήλες. Η μάζα των ουσιών που ανιχνεύτηκε στο έκπλυμα των πληρούμενων με έδαφος στηλών ήταν 11 έως 350 φορές υψηλότερη αυτής των οργανικών υποστρωμάτων. Η αποτελεσματικότητα των βιομιγμάτων μπορεί να αποδοθεί σε ένα συνδυασμό ευνοϊκών συνθηκών για μεταβολικές ή συμμεταβολικές διεργασίες και σε ισχυρότερη κατακράτηση των ουσιών λόγω εκτεταμένης προσρόφησης στα συστατικά της οργανικής ουσίας. Η έντονη αποδομητική ικανότητα αφορά τόσο τα μητρικά μόρια όσο και προϊόντα μεταβολισμού, όπως αποδείχτηκε στις δοκιμές μας για τα terbutylazine, metribuzin και chlorpyrifos. Η αποτελεσματικότητα στην παρεμπόδιση της κάθετης μετακίνησης των ουσιών εντός του ενεργού βιομιγματος μάλιστα εμφανίζεται υψηλότερη για σχετικά λιπόφιλα μόρια (π.χ. terbutylazine, chlorpyrifos) καθώς αυτά εμφανίζουν μεγαλύτερη συνάφεια με την οργανική ουσία των βιομιγμάτων. Χαρακτηριστικό επίσης είναι ότι ακόμη και ουσίες που αποδομούνται ταχύτερα στο εδαφικό περιβάλλον σε σχέση με το ενεργό βιομίγμα (π.χ. chlorpyrifos σε αλκαλικά εδάφη) ανιχνεύονται σε πολύ υψηλότερη αναλογία στο έκπλυμα του εδάφους παρά στο έκπλυμα των οργανικών υποστρωμάτων.

Η παρουσία τριών διαφορετικών συστατικών στο βιομίγμα (έδαφος, λιγνινοκυτταρινούχο υπόστρωμα, κομπόστα) είναι απαραίτητη για τη μεγιστοποίηση της αποδομητικής ικανότητας των βιομιγμάτων. Όταν από το ενεργό βιομίγμα απουσιάζει κάποια μορφή λιγνινοκυτταρινική ύλη η πορεία αποδόμησης των περισσοτέρων φ.ο. επιβραδύνεται, πιθανόν ως αποτέλεσμα της ισχυρής δέσμευσης των υπολειμμάτων τους στην οργανική ουσία της κομπόστας. Η εκτεταμένη προσρόφηση στα συστατικά της οργανικής ουσίας της κομπόστας μειώνει την ποσότητα της ουσίας που είναι διαθέσιμη στους μικροβιακούς αποδομητές. Αντίθετα, τα βιομίγματα άχυρου και εδάφους δημιουργούν ένα περιβάλλον αυξημένης βιολογικής δραστηριότητας που ευνοεί την αποδόμηση ορισμένων φ.ο. με ρυθμούς υψηλότερους από αυτούς που αναμένονται στο έδαφος. Στις ουσίες που αποδομούνται ταχύτερα στο βιομίγμα εδάφους-άχυρου περιλαμβάνονται τα *terbuthylazine*, *metalaxyl-M* και *azoxystrobin*, που είναι ουσίες με σχετικά μεγάλη υπολειμματικότητα στο έδαφος. Επομένως, είναι απαραίτητη η αξιοποίηση του άχυρου ή κάποιου εναλλακτικού λιγνινοκυτταρινικού υποστρώματος σε συστήματα απορρύπανσης που στηρίζονται στη δημιουργία συνθηκών έντονης μικροβιακής δραστηριότητας. Συνολικά, όμως, η συνύπαρξη εδάφους, κομπόστας και άχυρου στο ενεργό βιομίγμα δρα συνεργιστικά οδηγώντας σε μεγιστοποίηση της αποδομητικής ικανότητας. Έντονη αλληλεπίδραση μεταξύ κομπόστας και άχυρου εμφανίζεται στις περιπτώσεις των ουσιών *iprodione*, *metalaxyl-M* και *azoxystrobin*, όπου οι ρυθμοί αποδόμησης είναι πολλαπλάσιοι σε σχέση με τα βιομίγματα που περιέχουν μόνο κομπόστα ή μόνο άχυρο.

Η χρήση της τύρφης σε συστήματα βιοκλινών έχει επικριθεί ως επιβαρυντική πρακτική για το περιβάλλον. Ιδιαίτερα στις μεσογειακές χώρες η ανάγκη περιορισμού της χρήσης της τύρφης σχετίζεται και με τη μικρή διαθεσιμότητα και την οικονομικά ασύμφορη τιμή της. Αντιθέτως, η κομπόστα μπορεί να αξιοποιηθεί ως υποκατάστατο της τύρφης καθώς όχι μόνο δεν εμφανίζει κάποια περιβαλλοντική επιβάρυνση αλλά αντίθετα συμβάλει στην αξιοποίηση μεγάλου όγκου υπολειμμάτων της γεωργοβιομηχανικής παραγωγής, των οποίων η διάθεση είναι δυσχερής. Γενικά, η ενσωμάτωση κομπόστας στο βιομίγμα αντί της τύρφης δημιουργεί συνθήκες αυξημένου ρυθμού αποδόμησης πολλών φ.ο. Η παρουσία πολλών θρεπτικών συστατικών (π.χ. επάρκεια N) στην κομπόστα ευνοεί την πρόοδο των μεταβολικών διεργασιών. Αντίθετα η χρήση της τύρφης δημιουργεί ιδανικό περιβάλλον αυξημένης συμμεταβολικής δραστηριότητας, όπου η πορεία αποδόμησης των ουσιών εμφανίζει ένα σταθερό, αλλά συνήθως αργό ρυθμό. Στις ουσίες για τις οποίες η παρουσία κομπόστας στο βιομίγμα δημιουργεί ευνοϊκότερες συνθήκες αποδόμησης περιλαμβάνονται οι *dimethoate*, *metribuzin*, *metalaxyl-M*, *iprodione*, *indoxacarb* και *chlorpyrifos*. Αντιθέτως, για τις ουσίες *terbuthylazine* και *azoxystrobin* τα βιομίγματα τύρφης εμφανίζουν ικανοποιητική αποδομητική ικανότητα, εφάμιλλη με αυτή των βιομιγμάτων κομπόστας. Η θετική επίδραση της τύρφης στην αποδόμηση των ουσιών αυτών οφείλεται εν μέρει στην όξινη αντίδραση των βιομιγμάτων που περιέχουν τύρφη που ευνοεί την αβιοτική υδρόλυση της ουσίας *terbuthylazine* και το σχηματισμό του *hydroxy-* μεταβολίτη.

Η τύρφη εμφανίζει σημαντικά υψηλότερη ικανότητα προσρόφησης των φ.ο. σε σχέση με τις κομπόστες, που αντανakλάται και στις υψηλότερες τιμές K_f των ουσιών *terbuthylazine*, *metribuzin*, *metalaxyl-M* στο βιομίγμα τύρφης (OBX1) σε σχέση με τα βιομίγματα κομπόστας (BX1-BX5). Η υψηλότερη προσροφητική ικανότητα του βιομιγματος τύρφης δεν οφείλεται μόνο στην υψηλότερη περιεκτικότητα της τύρφης σε οργανικό άνθρακα καθώς το OBX βιομίγμα εμφανίζει υψηλότερους συντελεστές προσρόφησης ακόμη και μετά από κανονικοποίηση του συντελεστή προσρόφησης ως

προς την περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα. Επομένως η εντονότερη συγκράτηση των ουσιών στην τύρφη μπορεί να αποδοθεί και σε ποιοτικά χαρακτηριστικά της οργανικής της ουσίας. Αντίθετα τα βιομίγματα κομπόστας εμφανίζουν μια διαβάθμιση στις τιμές του συντελεστή προσρόφησης για τις περισσότερες φ.ο. της δοκιμής, όπου τα βιομίγματα που περιέχουν κομπόστα με υψηλή αναλογία σε οργανικό C πλεονεκτούν δίνοντας υψηλότερες τιμές συντελεστών προσρόφησης. Σε κάθε περίπτωση πάντως, οι τιμές των συντελεστών προσρόφησης στα ΒΧ βιομίγματα είναι μικρότερες αυτών στο ΟΒΧ βιομίγμα. Οι δοκιμές έκπλυσης στις στήλες επιβεβαιώνουν την υψηλότερη ικανότητα συγκράτησης των ουσιών στα βιομίγματα τύρφης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μικρότερων συγκεντρώσεων όλων των φ.ο. στο έκπλυμα παρά τη σημαντική υστέρηση στην αποδόμηση των περισσότερων ουσιών που εμφανίζει το βιομίγμα τύρφης (LOBX). Πράγματι, η συγκέντρωση των υπολειμμάτων που παραμένει στο υλικό πλήρωσης των στηλών μετά το τέλος της δοκιμής είναι τουλάχιστο διπλάσια στις LOBX σε σχέση με τις LBX στήλες. Μια ακόμη ποιοτική παράμετρος που επηρεάζει την κάθετη μετακίνηση των ουσιών είναι η ρυθμός ροής του νερού διαμέσω της στήλης. Η παράμετρος αυτή συνδέει την αποτελεσματικότητα της βιοαπορρόπησης με το όγκο και τη συχνότητα εφαρμογής του νερού που εισέρχεται στη βιοκλίνη. Τα βιομίγματα που περιέχουν τύρφη εμφανίζουν μεγαλύτερη υδατοχωρητικότητα και η ταχύτητα της κάθετης μετακίνησης του νερού στο υπόστρωμα είναι μικρότερη. Τα χαρακτηριστικά αυτά σε συνδυασμό με την υψηλή προσροφητική ικανότητα των βιομιγμάτων τύρφης δίνουν στα βιομίγματα αυτά το πλεονέκτημα να μπορούν να ανταποκρίνονται καλύτερα σε έντονα υδατικά σενάρια όπου ταυτόχρονα με τις φ.ο. εισέρχεται και μεγάλη ποσότητα νερού. Αντίθετα, τα βιομίγματα κομποστών στηρίζονται κυρίως στην ισχυρή αποδομητική τους ικανότητα και δευτερευόντως στην συγκράτηση των ουσιών, επομένως η βιοκλίνη κομπόστας θα πρέπει να προστατεύεται από την είσοδο υπερβολικά μεγάλου όγκου νερού ή το ύψος του υλικού πλήρωσής τους να είναι μεγαλύτερο από το ύψος των 50-60 cm που εμφανίζεται στα τυπικά Σουηδικά συστήματα βιοκλινών, που περιέχουν τύρφη. Μεγάλο ύψος βιοκλίνης απαιτείται ιδιαίτερα στις περιπτώσεις που το σύστημα προορίζεται για πλύσιμο ψεκαστικών συστημάτων καθώς η ποσότητα νερού που αναμένεται να οδηγηθεί στη βιοκλίνη είναι πολλαπλάσια της ποσότητας που εισέρχεται όταν η βιοκλίνη προορίζεται αποκλειστικά για τη συλλογή υπολειμμάτων κατά τη φόρτωση ή το άδειασμα των ψεκαστικών μηχανημάτων.

Το μεγάλο εύρος των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των κομποστών εξηγεί τις σημαντικές διαφοροποιήσεις της αποδομητικής ικανότητας των διαφορετικών βιομιγμάτων με βάση την κομπόστα. Τα ιδιαίτερα όμως χαρακτηριστικά μεταξύ των κομποστών διαμορφώνονται σε μεγάλο βαθμό από τα χαρακτηριστικά των υλικών από τα οποία προέκυψαν καθώς και από τη διαδικασία κομποστοποίησης που ακολουθήθηκε. Τα χαρακτηριστικά των κομποστών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες επιλεξιμότητας είναι η αυξημένη αναλογία σε οργανικό άνθρακα, η υψηλή βιολογική δραστηριότητα, η ουδέτερη ή ελαφρώς αλκαλική τιμή του pH, η υψηλή υδατοχωρητικότητα και η επάρκεια σε N. Το βιομίγμα με κομπόστα ελαιόφυλλων εμφανίζει υψηλή ικανότητα αποδόμησης για πολλές από τις φ.ο. της δοκιμής, ενώ παρουσιάζει και υψηλότερη αποτελεσματικότητα στη συγκράτηση των φ.ο. καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές K_f και K_{oc} για τις φ.ο. της μελέτης. Ακόμη το βιομίγμα αυτό χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ενζυμική και μικροβιακή δραστηριότητα σε σχέση με βιομίγματα κομποστών διαφορετικής προέλευσης. Σημαντικό πλεονέκτημα των βιομιγμάτων που περιέχουν κομπόστα ελαιόφυλλων είναι ότι τα επίπεδα των συγκεντρώσεων των μεταβολιτών των chloropyrifos,

terbuthylazine και metribuzin είναι μικρότερα από αυτά που υπολογίζονται στα βιομίγματα τύρφης και στο έδαφος. Εκτός της κομπόστας με βάση τα ελαιόφυλλα και διάφορες άλλες κομπόστες μπορούν να αξιοποιηθούν σε συστήματα βιοκλινών προσαρμοσμένων στην αποδόμηση συγκεκριμένων ουσιών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η χρήση την κομπόστας από βαμβακόπιτα για την επαγωγή συνθηκών βελτιωμένης αποδόμησης του ζιζανιοκτόνου terbuthylazine στα βιομίγματα των δοκιμών. Το βιομίγμα αυτό (BX2) είναι σε θέση να αποδομήσει το terbuthylazine με ρυθμούς πολλαπλάσιους από αυτούς στο έδαφος και σε άλλα βιομίγματα κομπόστας ή τύρφης. Μάλιστα το ίδιο βιομίγμα εμφάνισε έντονους ρυθμούς αποδόμησης και του κυριότερου μεταβολίτη του terbuthylazine, δηλαδή του desethyl-terbutylazine, με ρυθμό μάλιστα της αποδόμησης να είναι σχεδόν διπλάσιος από αυτόν του μητρικού μορίου.

Παράγοντες που θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των διαφορετικών συστημάτων βιοκλινών είναι η ικανότητα τους να δρουν αποτελεσματικά σε μεγάλο εύρος περιβαλλοντικών συνθηκών, όπως επίσης η ικανότητα της μικροχλωρίδας του βιομιγματος να ανθίσταται στο τοξικό περιβάλλον που δημιουργείται από την εφαρμογή μίγματος ουσιών σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις. Άλλο κριτήριο της αξιολόγησης των βιομιγμάτων είναι η διατήρηση της αποτελεσματικότητας τους μετά από διαδοχικές εφαρμογές φ.ο. σε αυτή.

Όσον αφορά στην επίδραση της θερμοκρασίας αποδείχθηκε ότι η αποδόμηση των ουσιών terbuthylazine, chlorpyrifos και indoxacarb τόσο στα βιομίγματα τύρφης όσο και στα βιομίγματα κομπόστας επηρεάστηκε σε μικρότερο βαθμό από τη μείωση της θερμοκρασίας επώασης σε σχέση με την αποδόμηση στο έδαφος. Αυτό σημαίνει ότι η αποτελεσματικότητα της αποδόμησης των φ.ο. στο περιβάλλον των βιομιγμάτων δεν αναμένεται να επηρεαστεί σε σημαντικό βαθμό από μεταβολές της θερμοκρασίας περιβάλλοντος και επομένως φαίνεται ότι τα βιομίγματα της μελέτης μας μπορούν να αποδώσουν ικανοποιητικά σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών. Η συγκέντρωση των φ.ο. στα διαλύματα φόρτισης επηρεάζει σε ποικίλο βαθμό την αποδόμηση των φ.ο. στο βιομίγμα, αλλά σε κάθε περίπτωση η τοξική δράση των υψηλών συγκεντρώσεων των φ.ο. στο βιομίγμα βρέθηκε να είναι μικρότερη από αυτή στο έδαφος. Εν μέρει η ανθεκτικότητα των βιομιγμάτων στις ανασταλτικές για τη μικροχλωρίδα συγκεντρώσεις αποδίδεται στην ισχυρή προσρόφηση των ενεργών συστατικών στην οργανική ουσία του βιομιγματος. Μάλιστα η ένταση της επίδρασης αυτής διαφοροποιείται έντονα με την φ.ο. που εξετάζεται. Σε ορισμένες περιπτώσεις συγκεντρώσεις ακόμη και 10 φορές υψηλότερες της τυπικής δόσης εφαρμογής δεν βρέθηκε να επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό τους ρυθμούς αποδόμησης στο των φ.ο. στο βιομίγμα, όπως για παράδειγμα στις περιπτώσεις των ουσιών burprofazin και indoxacarb. Στις περισσότερες περιπτώσεις πάντως οι μικρές συγκεντρώσεις φ.ο. ευνοούν την ταχεία πορεία αποδόμησης και επομένως σε πραγματικές συνθήκες χρήσης μιας βιοκλίνης είναι συνιστώμενη η αραίωση των ψεκαστικών υγρών που αποτίθενται σε αυτή προκειμένου να μειωθεί κατά το δυνατό η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στο σύστημα. Παρά τις διαφοροποιήσεις μεταξύ φ.ο. η αντοχή της μικροχλωρίδας των βιομιγμάτων με βάση την κομπόστα στις υψηλές δόσεις εφαρμογής είναι παραπλήσια με αυτή των τυπικών βιομιγμάτων τύρφης. Η ικανότητα απορρύπανσης των βιομιγμάτων μετά από επανάληψη της εφαρμογής των ίδιων φ.ο. εμφανίζεται μειωμένη σε σχέση με την αρχική εφαρμογή. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στη μερική αναστολή της μικροβιακής δραστηριότητας λόγω της τοξικής δράσης συσσωρευμένων φ.ο. υψηλών συγκεντρώσεων. Η επίδραση των διαδοχικών εφαρμογών βρέθηκε να είναι πιο έντονη στο εδαφικό

περιβάλλον σε σχέση με το περιβάλλον των βιομιγμάτων. Εξαίρεση στη συμπεριφορά αυτή παρουσιάστηκε στις περιπτώσεις των ουσιών iprodione και metalaxyl-M, όπου η επαναλαμβανόμενη εφαρμογή της ίδιας ουσίας οδήγησε σε αύξηση των ρυθμών αποδόμησης. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην προσαρμογή των μικροβιακών αποδομητών στην αποδόμηση των iprodione και metalaxyl-M λόγω της προηγούμενης έκθεσης τους στις ουσίες αυτές (φαινόμενο επιταχυνόμενης βιοαποδόμησης).

Ένα στοιχείο που σύμφωνα με τα αποτελέσματα των δοκιμών της εργασίας μπορεί να οδηγήσει σε βελτίωση της απορρυπαντικής ικανότητας των συστημάτων βιοκλινών είναι και η αξιοποίηση εναλλακτικών λιγνινοκυτταρινούχων υποστρωμάτων. Από τα υλικά τα οποία επιλεχθήκαν στις εργαστηριακές δοκιμές ως υποκατάστατα του άχυρου οι βόστρυχοι αμπέλου (GS) προσδίδουν στο βιομίγμα μεγαλύτερη ικανότητα ως προς την αποδόμηση ενός μίγματος φ.ο. σε σχέση με το βιομίγμα που περιέχει άχυρο. Επίσης η προσροφητική ικανότητα του βιομίγματος που σχηματίστηκε από την ενσωμάτωση του υλικού αυτού (GSBX) εμφανίστηκε να είναι υψηλότερη από αυτή του βιομίγματος με βάση το άχυρο (STRBX) και συγκρίσιμη με την προσροφητική ικανότητα του τυπικού βιομίγματος τύρφης. Η αξιολόγηση του βιομίγματος αυτού μέσω δοκιμών έκπλυσης, κάτω από συνθήκες έντονης υδατικής φόρτισης, δεν έδωσε εξίσου ικανοποιητικά αποτελέσματα, γεγονός που αποδίδεται κυρίως στο ότι το μικροπορώδες του υλικού αυτού δεν επέτρεπε την ισχυρή συγκράτηση του νερού με αποτέλεσμα ένα μέρος της εφαρμοσθείσας ποσότητας των ουσιών να καταλήγει στο έκπλυμα αμέσως μετά την εφαρμογή και πριν την επίτευξη της ισορροπίας για την προσρόφηση των ουσιών στην οργανική ουσία. Αποτέλεσμα αυτού ήταν να παρατηρηθούν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις για όλες τις φ.ο. της μελέτης να εμφανίζεται στην πρώτη δειγματοληψία έκπλυματος, δηλαδή στις πρώτες 7 ημέρες από την εφαρμογή του μίγματος των ουσιών. Επομένως, οι βόστρυχοι αμπέλου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτικά του άχυρου υποστρώματα σε περιπτώσεις που ο όγκος νερού που εισέρχεται στη βιοκλίνη είναι σχετικά μικρός. Στα πλεονεκτήματα ενός συστήματος που υιοθετεί τη χρήση βοστρύχων αμπέλου ως εναλλακτικού λιγνοκυτταρινικού υποστρώματος περιλαμβάνεται και η πολύ μικρότερη συσσώρευση των ουσιών στο σύστημα. Πράγματι η ποσοστιαία αναλογία των ουσιών που παραμένουν στη στήλη είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με το βιομίγμα τύρφης, ιδιαίτερα των πιο λιπόφιλων από αυτές. Αυτό εξασφαλίζει τη μικρότερη συσσώρευση των ουσιών στα συστατικά της οργανικής ύλης μετά από διαδοχικές χρήσεις της βιοκλίνης σε σχέση με το τυπικό βιομίγμα. Άλλα υλικά που μπορούν να αξιοποιηθούν σε αντικατάσταση του άχυρου είναι οι σπάδικες αραβοσίτου και τα υπολείμματα καλλιέργειας ηλίανθου. Και τα δύο υποστρώματα εμφανίζουν παραπλήσια ικανότητα προσρόφησης και αποδόμησης φ.ο. με το άχυρο. Αντίθετα τα τεμαχισμένα ελαιόφυλλα και οι φλούδες εσπεριδοειδών δεν δημιουργούν ευνοϊκές συνθήκες για την αποδόμηση των περισσοτέρων ουσιών παρά το γεγονός ότι η αναλογία λιγνίνης στα υλικά αυτά είναι συγκρίσιμη με αυτή του άχυρου. Η αναστολή της αποδόμησης των φ.ο. που παρατηρήθηκε στις δοκιμές αποδίδεται κυρίως στη μεγάλη αναλογία φαινολικών ουσιών, οι οποίες αναστέλλουν την ανάπτυξη των αποδομητικών πληθυσμών. Η ανασταλτική δράση των φαινολών επιβεβαιώθηκε από την αρνητική συσχέτιση μεταξύ ολικών φαινολικών και αποδομητικής δράσης για ορισμένες από τις φ.ο. Την πιο έντονη ανασταλτική δράση εμφάνισε το βιομίγμα που περιέχει φλούδες εσπεριδοειδών παρά το σημαντικό φορτίο του σε εξωκυτταρικά λιγνινολυτικά ένζυμα, ιδιαίτερα της MnP που έχει συνδεθεί με τη συμμεταβολική διάσπαση πολλών φ.ο.

Το εξαντλημένο υπόστρωμα ανάπτυξης των εδώδιμων μανιταριών (SMS) είναι ένα εναλλακτικό λιγνοκυτταρινικό υλικό που μελετήθηκε ως προς την ικανότητα βελτίωσης της αποδομητικής ικανότητας βιομιγμάτων, μετά από ενσωμάτωση του με έδαφος και άχυρο. Η αποτελεσματικότητα του υλικού αυτού συσχετίστηκε με το περιβάλλον αυξημένης μεταβολικής δραστηριότητας που δημιουργεί καθώς τα βιομίγματα στα οποία ενσωματώθηκε το λιγνινοκυτταρινούχο αυτό υλικό εμφάνισαν βελτίωση των ρυθμών αποδόμησης για τις περισσότερες φ.ο. σε σχέση με τους ρυθμούς αποδόμησης στο έδαφος ή σε μίγμα εδάφους και άχυρου. Ταυτόχρονα διαπιστώθηκε ότι η αύξηση της ογκομετρικής αναλογίας του SMS στο βιομίγμα βελτίωσε τους ρυθμούς αποδόμησης των φ.ο. και μάλιστα η αποδομητική ικανότητα των βιομιγμάτων με SMS, για πολλές από τις φ.ο. της δοκιμής, ήταν ευθέως ανάλογη της ογκομετρικής αναλογίας του SMS στο βιομίγμα. Η αυξημένη ικανότητα διάσπαση πολλών ουσιών παρουσία SMS εν μέρει οφείλεται στην παροχή άφθονης και εύκολα αφομοιώσιμης πηγής C και θρεπτικών συστατικών, αποτελώντας έτσι ιδανικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροβιακών πληθυσμών ή κοινοτήτων μικροοργανισμών με ικανότητα μεταβολικής ή συμμεταβολικής αποδόμησης των ουσιών της δοκιμής. Η ίδια η παρουσία όμως του μύκητα *P.ostreatus* μπορεί να επηρεάσει την καταβολική δραστηριότητα σε υπόστρωμα εδάφους/SMS όπως έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία. Τα εξωκυτταρικά λιγνινολυτικά ένζυμα που παράγονται από το μύκητα δεν φαίνεται να εμπλέκονται στην αποδόμηση των φ.ο. καθώς σύμφωνα με τα αποτελέσματα των δοκιμών τη εργασίας η δραστηριότητα των δύο κυριότερων λιγνινολυτικών ενζυμων του μύκητα (MnP και λακάση) αναστέλλεται σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά την εφαρμογή του μίγματος των φ.ο. Η αναστολή της παραγωγής λιγνινολυτικών ενζυμων μπορεί να οφείλεται στην τοξική δράση της συνδυασμένης εφαρμογής πολλών φ.ο. ή στην αναστολή της ανάπτυξης του μύκητα λόγω αυξημένου μικροβιακού ανταγωνισμού στα σχηματισθέντα οργανικά υποστρώματα. Η δόση των φ.ο. που εφαρμόστηκε σε βιομίγμα με έδαφος και SMS βρέθηκε να επηρεάζει την ικανότητα αποδόμησης και αυτό αποδόθηκε στην τοξική δράση των ουσιών στη μικροχλωρίδα. Όμως η υψηλότερη σχετική ικανότητα αποδόμησης του SMS βιομίγματος σε σύγκριση με τα υποστρώματα μάρτυρα στην ίδια δόση εφαρμογής φ.ο. δεν βρέθηκε να διαφοροποιείται σημαντικά. Επομένως η υψηλή δόση εφαρμογής δεν φαίνεται να αποτελεί ανασχετικό παράγοντα της αποτελεσματικότητας τέτοιων υποστρωμάτων. Συμπερασματικά τα θετικά αποτελέσματα που προέκυψαν από τη χρήση του SMS στις εργαστηριακές δοκιμές αποδόμησης προδιαγράφουν μελλοντική αξιοποίηση τέτοιων υποστρωμάτων σε στρατηγικές και τεχνολογίες απορρύπανσης.

Στα κριτήρια για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας ενός συστήματος απορρύπανσης περιλαμβάνεται και η ικανότητα περιορισμού των συγκεντρώσεων των ενδιάμεσων μεταβολιτών που προκύπτουν κατά την πορεία ανοργανοποίησης των φ.ο. και ιδιαίτερα των μεταβολιτών που εμφανίζουν σημαντική τοξική δράση και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά που ευνοούν την κατάληξη τους στο έκπλυμα. Για το λόγο αυτό εξετάστηκε ο σχηματισμός και η συμπεριφορά ορισμένων κύριων μεταβολιτών των φ.ο. terbutylazine, metribuzin και chlorpyrifos ώστε να διαπιστωθεί η πιθανή έκθεση κινδύνου από την παρουσία τέτοιων ουσιών στο βιομίγμα. Γενικά οι συγκεντρώσεις των μεταβολιτών στα οργανικά υποστρώματα της δοκιμής βρέθηκε ότι ήταν μικρότερες από αυτές που αναμένονται στο έδαφος. Αυτό οφείλεται εν μέρει και στην μεγαλύτερη ικανότητα αποδόμησης των μεταβολιτών στις συνθήκες του βιομίγματος. Τα μεταβολικά μονοπάτια αποδόμησης των φ.ο. στα βιομίγματα είναι τα ίδια με αυτά στο έδαφος. Η σχετική όμως συνεισφορά κάθε μεταβολικού μονοπατιού στη συνολική

πορεία αποδόμησης μπορεί να διαφοροποιηθεί τόσο μεταξύ εδάφους και βιομίγματος όσο και μεταξύ βιομιγμάτων. Για παράδειγμα η παρουσία κομπόστας στο βιομίγμα ευνοεί τη N-απαλκυλίωση του μορίου του *terbutylazine*, ενώ η παρουσία τύρφης συνοδεύεται από αντιδράσεις απομάκρυνσης αλογόνου του μορίου που οδηγεί στο σχηματισμό του *hydroxy-* μεταβολίτη. Με δεδομένη όμως το μεγαλύτερο χρόνο παραμονής του *hydroxy-* μεταβολίτη σε σχέση με τον έτερο κύριο μεταβολίτη του, *desethyl-*, είναι πιθανή η συχνότερη ανίχνευση του στο έκπλυμα που προέρχεται από συστήματα βιοκλίνης με βάση την τύρφη παρά από συστήματα που περιέχουν κομπόστα. Επίσης η παρουσία οργανικής ουσίας ευνοεί την απαμίνωση του μορίου *metribuzin* και η αναλογία σχηματισμού του *desamino-* μεταβολίτη είναι επομένως υψηλότερη σε σχέση με αυτή του εδάφους. Αντιθέτως, η αναλογία σχηματισμού του *diketo-* μεταβολίτη, του οποίου τα χαρακτηριστικά εύνουν σε μεγαλύτερο βαθμό την κάθετη μετακίνηση του, είναι πολύ μικρότερη αυτής του εδάφους.

Συμπερασματικά, η ανάπτυξη αποτελεσματικής μεθόδου βιοαπορρύπανσης για τη συλλογή και απορρύπανση απόβρωτων που προέρχονται από εφαρμογή φ.π. στον αγρό θα πρέπει να συνδεθεί με την αξιοποίηση παραπροϊόντων της Ελληνικής γεωργίας και αγροβιομηχανίας. Η αποτελεσματική αξιοποίηση τέτοιων μηδενικής οικονομικής αξίας υλικών μπορεί να συμβάλει στη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των εναλλακτικών συστημάτων βιοκλινών, στη μείωση κόστους κατασκευής και λειτουργίας τέτοιων συστημάτων, αλλά και στην προσθήκη ωφέλειας σε μικρής οικονομικής αξίας οργανικά υλικά που εμφανίζουν προβλήματα διάθεσης τους.

- Abdelhafid R, Houot S, Barriuso E. (2000)** Dependence of atrazine degradation on C and N availability in adapted and non-adapted soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 32:389–401
- Accinelli C, Koskinen W.C., Seebinger J.D., Vicari A., Sadowsky M.J. (2005)** Effects of Incorporated Corn Residues on Glyphosate Mineralization and Sorption in Soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:4110–4117
- Accinelli C., Vicari A., Rossi A., Pisa P., Catizone P. (2002)** Losses of atrazine, metolachlor, prosulfuron and triasulfuron in subsurface drain water. I. Field results. *Agronomie*, 22:399-411
- Adam G. and Duncan H. (2001)** Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 943-951
- Aislabie J. and Lloyd-Jones G. (1995)** A review of bacterial degradation of pesticides. *Australian Journal of Soil Research*, 33:925-942
- Albanis T.A., Danis T.G., Kourgia M.K. (1994)** Transportation of pesticides in estuaries of the Axios, Loudias and Aliakmon rivers (Thermaikos Gulf), Greece. *Science of the Total Environment*, 156:11-22
- Albanis T.A., Hela D.G., Sakellarides T.M., Konstantinou I.K. (1998)** Monitoring of pesticide residues and their metabolites in surface and underground waters of Imathia (N. Greece) by means of solid-phase extraction disks and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 823:59-71
- Albanis T.A., Lambropoulou D.A., Sakkas V.A., Hela D. (2003)** Monitoring of priority pesticides using SPME (solid phase microextraction) in river water from Greece. *Water Supply*, 3:335–342
- Albanis T.A., Danis T.G., Kourgia M.K. (2004)** Transportation of pesticides in estuaries of the Axios, Loudias and Aliakmon rivers (Thermaikos Gulf), Greece. *The Science of The Total Environment*, 156:11-22
- Alexander M. (1981)** Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science*, 211-132
- Alexander M. (1999)** Biodegradation and bioremediation. 2nd edition. Academic Press, London
- Al-Hassan R.M., Bashour I.I., Kwar N.S. (2004)** Biodegradation of a and b Endosulfan in soil as influenced by application of different organic materials. *Journal of Environmental Science and Health Part B—Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 39:757–764
- Anastassiades M., Mastovska K., Lehotay S.J. (2003)** Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *Journal of Chromatography A*, 1015:163–184
- Anderson J.P.E. (1987)** Handling and storage of soils for pesticide experiments. *In: Pesticide Effects on Soil Microflora Somerville L. and Greaves M.P. (Eds.)* Taylor and Francis, London, New York, Philadelphia, pp.45-60
- Anonymous (2000)** Manual for biological remediation techniques. International Centre for Soil and Contaminated Sites (ICSS). German Federal Environmental Agency, Dresden, Germany
- Anonymous (2010)** Drinking Water Contaminants of Emerging Concern Program A Minnesota Clean Water Fund Initiative 2010-2011 Biennium, Interim Report , Minnesota Department of Health July 15

- Armbrust K.L. (2001)** Chlorothalonil and chlorpyrifos degradation products in golf course leachate. *Pest Management Science*, 57:797–802
- Asmussen L.E., White A.W., Hauser E.W., Sheridan J.M. (1977)** Reduction of load in surface runoff down a grassed waterway. *Journal of Environmental Quality*, 6:159-162.
- Athiel P., Mercadier C., Vega D., Bastide J., Davet P., Brunel B., Cleyet-Marel J.C. (1995)** Degradation of iprodione by a soil *Arthrobacter*-like strain. *Applied Environmental Microbiology*, 61:3216-3220
- Azam F., Fuhr F., Mittelstaedt W. (1988)** Fate of [carbonyl-¹⁴C]methabenzthiazuron in an arid region soil - effect of organic amendment, soil disturbance and fumigation. *Plant and Soil*, 107:149-158
- Bach M., Huber A., Frede H.G. (2001)** Input pathways and river load of pesticides in Germany - a national scale modeling assessment. *Water Science and Technology*, 43:261-268
- Bach M., Ropke B., Frede H.G. (2005)** Pesticides in rivers – Assessment of source apportionment in the context of WFD. European Water Management Online Official Publication of the European Water Association (EWA)
- Barr D. and Aust S. (1994)** Mechanisms white rot fungi use to degrade pollutants. *Environmental Science Technology*, 28:78-87
- Barriuso E., Houot S., Serra-Wittling C. (1997)** Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. *Pesticide Science*, 49:65-75
- Barriuso E., Laird D.A., Koskinen W.C., Dowdy R.H. (1994)** Atrazine Desorption from Smectites. *Soil Science Society of America Journal*, 58:1632-1638
- Battaglin W.A., Furlong E.T., Burkhardt M.R., Peter C.J. (2000)** Occurrence of sulfonylurea, sulfonamide, imidazolinone, and other herbicides in rivers, reservoirs and ground water in the Midwestern United States. *The Science of the Total Environment*, 248:123-133
- Beare M.H., Neely C.L., Coleman D.C., Hargrove W.L. (1990)** A substrate-induced respiration (SIR) method for measurement of fungal and bacterial biomass on plant residues. *Soil Biology and Biochemistry*, 22:585-594
- Bedos C., Cellier P., Calvet R., Barriuso E., Benoit G. (2002)** Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview. *Agronomie*, 22:21–33
- Bending G.D. and Rodriguez-Cruz M.S. (2007)** Microbial aspects of the interaction between soil depth and biodegradation of the herbicide isoproturon. *Chemosphere*, 66:664-671
- Bending G.D., Friloux M., Walker A. (2002)** Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with ligninolytic potential. *FEMS microbiology*, 212:59-63
- Bending G.D., Lincoln S.D., Edmondson R.N. (2006)** Spatial variation in the degradation rate of the pesticides isoproturon, azoxystrobin and diflufenican in soil and its relationship with chemical and microbial properties. *Environmental Pollution*, 139:279-87
- Bending G.D., Rodríguez-Cruz M.S., Lincoln S.D., (2007)** Fungicide impacts on microbial communities in soils with contrasting management histories. *Chemosphere*, 69:82-88
- Bennett J.W. and Faison B.D. (1997)** Use of fungi in biodegradation. In: Hurst, C.J. (Eds.), *Manual of Environmental Microbiology*. ASM Press, Washington, DC, pp. 758–765
- Benoit P. (1994)** Role de la nature des matieres organiques dans la stabilisation des residus de polluants organiques dans les sols. Unite de Science du Sol. INRA-Grignon, Paris
- Benoit P., Barriuso E., Houot S., Calvet R. (1996)** Influence of the nature of soil organic matter on the sorption-desorption of 4-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol and the herbicide 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *European Journal of Soil Science*, 47:567-578
- Beulke S. and Brown C.D. (2001)** Evaluation of methods to derive pesticide degradation parameters for regulatory modeling. *Biology and fertility of soils*, 33:558-564
- Beulke S., van Beinum W., Brown C.D., Mitchell M., Walker A., (2005)** Evaluation of simplifying assumptions on pesticide degradation in soil. *Journal of Environmental Quality*, 34:1933-1943
- Bezalel L., Hadar Y., Cerniglia C.E. (1997)** Enzymatic mechanisms involved in phenanthrene degradation by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63:2495-2501

- Blumhorst M.R. and Weber J.B. (1994)** Chemical versus microbial degradation of cyanazine and atrazine in soils. *Pesticide Science*, 42:79–84
- Bohn W.R. (1964)** The disappearance of dimethoate from soil. *Journal of Economic Entomology*, 57:798-799
- Boivin A., Cherrier R., Schiavon M. (2005)** A comparison of five pesticides adsorption and desorption processes in thirteen contrasting field soils. *Chemosphere*, 61:668-676
- Boulding J.R. and Ginn J.S. (2004)** Practical handbook of soil, vadose zone, and ground-water contamination assessment, prevention, and remediation. (Eds.) CRC Press, Florida, pp. 59-116
- Bouwer E.J. (1989)** Transformation of xenobiotics in biofilms. In: Structure and Function of Biofilms. Characklis W.G. and Wilderer P.H. (Eds.) John Wiley and Sons, Toronto, pp. 9-38
- Bowman B.T. (1989)** Mobility and persistence of the herbicides atrazine, metolachlor and terbutylazine in plainfield sand determined using field lysimeters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8:485-491
- Bowman B.T. (1991)** Mobility and dissipation studies of metribuzin, atrazine and their metabolites in plainfield sand using field lysimeters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 10:573-579
- Brugger K.E. (1997)** DPX-MP062: Prospective Tier I Ecological Effects Assessment for Non-target Organisms. DuPont Agricultural Products Document No. AMR 4782-97
- Bumpus J.A., Kakar S.N., Coleman R.D. (1993)** Fungal degradation of organophosphorous insecticides. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 39:715-726
- Burgoa B. and Wauchope R.D. (1995)** Pesticides in run-off and surface waters. In: Environmental behaviour of agrochemicals. Roberts T.R. and Kearney P.C. (Eds.) John Wiley & Sons, New York, pp. 221-255
- Cabrera A., Cox L., Velarde P., Cornejo J. (2008)** Terbutylazine persistence in an organic amended soil. *Journal of Environmental Science and Health*, B43:713-716
- Cai X., Sheng G., Liu W. (2007)** Degradation and detoxification of acetochlor in soils treated by organic and thiosulfate amendments. *Chemosphere*, 66:286-292
- Caldwell S.R. and Raushel F.M. (1991)** Detoxification of organophosphate pesticides using an immobilized phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta*. *Biotechnology and Bioengineering*, 37-103
- Campbell N., D’Arcy B., Frost A., Novotny V., Sansom A. (2004)** Diffuse pollution, an introduction to the problems and solutions. IWA Publishing, Cornwall, UK, 322 p.
- Campbell S., Chen L., Yu J., Li Q.X., (2005)** Adsorption and analysis of the insecticides thiamethoxam and indoxacarb in Hawaiian soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:5373-5376
- Caracciolo A.B., Giuliano G., Grenni P., Cremisini C., Ciccoli R., Ubaldi C. (2005)** Effect of urea on degradation of terbutylazine in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24:1035-1040
- Carter A. (2000)** How pesticides get into water and proposed reduction measures. *Pesticide Outlook*, 11:149-156
- Castillo M.d.P. and Torstensson L. (2007)** Effect of biobed composition, moisture and temperature on the degradation of pesticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55:5725–5733
- Castillo M.d.P., Ander P., Stenstrom J., (1997)** Lignin and manganese peroxidase activity in extracts from straw solid substrate fermentations. *Biotechnology Techniques*, 11:701-706
- Castillo M.d.P., Torstensson L., Stenstrom J. (2008)** Biobeds for environmental protection from pesticide use-a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:6206-6219
- Chapman R.A. and Cole C.M. (1982)** Observation on the influence of water and soil pH on the persistence of insecticides. *Journal of Environmental Science and Health*, 17:487-504
- Cherrier R., Perrin-ganier C., Schiavon M. (2004)** Degradation of sulcotrione in a brown soil amended with various organic matters. *Agronomie*, 24:29-33
- Cink J. H. and Coats J. R. (1993)** Effect of Concentration, Temperature, and Soil Moisture on the Degradation of Chlorpyrifos in an Urban Iowa Soil. In: Pesticides in Urban Environments, Chapter 7, pp. 62–69

- Clevering O., Beltman W., Wenneker M. (2007)** Biofilters for arable farming and fruit growing in the Netherlands. Proceedings of Second European Biobed Workshop, December 2007, Ghent, Belgium
- Coats J.R. and Anderson T.A. (1997)** The use of vegetation to enhance bioremediation of surface soils contaminated with pesticide wastes. US EPA. Office of Research and Development. Washington, DC.
- Cobban R., Gregson D., Phillips P. (1998)** Spring cleaning industry. *Chemistry in Britain*, 34:40-42
- Coppola L., Castillo M.d.P., Monaci E., Vischetti C. (2007)** Adaptation of the biobed composition for chlorpyrifos degradation to southern Europe conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55:396-401
- Cornelissen G., Gustafsson O., Bucheli T.D., Jonker M.T.O., Koelmans A.A., van Noort P.C.M. (2005)** Extensive sorption of organic compounds to black carbon, coal, and kerogen in sediments and soils: mechanisms and consequences for distribution, bioaccumulation, and biodegradation. *Environmental Science and Technology*, 39:6881-6895
- Cox L., Cecchi A., Celis R., Hermosin M., Koskinen W., Cornejo J. (2001)** Effect of exogenous carbon on movement of simazine and 2,4-D in soils. *Soil Science Society of America Journal*, 65:1688-1695
- Cox L., Hermosin M.C., Cornejo J. (1995)** Adsorption and desorption of the herbicide thiazafuron as a function of soil properties. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 58:305-314
- Crosby D.G. (1976)** Non-biological degradation of herbicides in the soil. In: Herbicides. Physiology, biochemistry, ecology. L.J. Audus (Eds.) Academic press, pp. 65-97
- Davis M.W. and Lamar R.T. (1992)** Evaluation of methods to extract ergosterol for quantification of soil fungal biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 24:189-198
- 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 Vleeschouwer C., Pigeon O., Cors F., De Ryckel B., Weickmans B., Meeus P. (2005)** Development de bio-epurateurs destines a traiter les eaux de rincage et de nettoyage des pulverisateurs. Centre Wallon de recherches Agronomiques, Department Phytopharmacie, Gembloux, Belgium, 105 p.
- De Wilde T. (2009)** Sorption and degradation of pesticides in biopurification systems. PhD Thesis. Ghent University, Belgium.
- De Wilde T. (2009)** Sorption and degradation of pesticides in biopurification systems. Ghent University. Faculty of Bioscience Engineering, PhD Thesis
- De Wilde T., Spanoghe P., Debaer C, Ryckeboer J, Springael D., Jaeken P. (2007)** Review, overview of on-farm bioremediation systems to reduce the occurrence of point source contamination. *Pest Management Science*, 63:111-128
- De Wilde T., Spanoghe P. Ryckeboer J., Jaeken P., Springael D. (2009)** Sorption characteristics of pesticides on matrix substrates used in biopurification systems. *Chemosphere*, 75:100-108
- Debaer C. and Jaeken P. (2006)** Modified bio filters to clean up leftovers from spray loading and cleaning; experience from pilot installations. *Aspects of Applied Biology*, 77:247-252
- Dec J. and Bollag J.M. (1994)** Dehalogenation of chlorinated phenols during binding to humus. In: Bioremediation through rhizosphere technology. Anderson T.A., Coats J.R. (Eds.) ACS Symposium Series 565, American Chemical Society, Washington DC
- DEFRA (2003)** Appraisal of DEFRA-funded projects on management practices to reduce diffuse contamination of water by pesticides. Final Project Report. CSG 15. Department for Environment, Food and Rural Affairs, London, UK., 27 p.
- Delgado-Moreno L., Sanchez-Moreno L., Pena A. (2007)** Assessment of olive cake as soil amendment for the controlled release of triazine herbicides. *Science of the Total Environment*, 378:119-123.
- Delle Site A. (2000)** Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants. A Review. *The Journal of Physical Chemistry*, 30:87-437.

- Di H.J. (1998)** Degradation rates of eight pesticides in surface and subsurface soils under laboratory and field conditions. *Soil Science*, 163:404–411
- Dias J.L. (2006)** Environmental fate of indoxacarb. Environmental Monitoring Branch. Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA 95812-4015
- Diaz M.J., Madejon E., Lopez F., Lopez R., Cabrera F. (2002)** Optimization of the rate vinasse/grape marc for co-composting process. *Process Biochemistry*, 37:43-50
- Dolaptsoglou C., Karpouzias D.G., Menkissoglu-Spiroudi U., Eleftherohorinos I., Voudrias E.A. (2007)** Influence of different organic amendments on the degradation, metabolism, and adsorption of terbuthylazine. *Journal of Environmental Quality*, 36:1793–1802
- Dousset S., Mouvet C., Schiavon M. (1997)** Degradation of [¹⁴C]Terbuthylazine and [¹⁴C]Atrazine in Laboratory Soil Microcosms. *Pest Management Science*, 49:9-16
- Dousset, S., Mouvet, C., Schiavon, M. (1994)** Sorption of terbuthylazine and atrazine in relation to the physico-chemical properties of three soils. *Chemosphere*, 28:467-476
- Dungan R.S., Gan J., Yates S.R. (2001)** Effect of temperature, organic amendment rate and moisture content on the degradation of 1,3-dichloropropene in soil. *Pest Management Science*, 57:1107-1113
- EC guidance (2000)** EC Guidance Document on Persistence Soil (9188/VI/97 rev. 8, 12.07.2000)
- EC Guidance (2000)** Guidance document on persistence in soil. Commission of the European Communities-Directorate-General for Agriculture-DG VI B II-1-Brussels, Belgium
- ECPA (2003)** ECPA compilation of water protection initiatives, D/03/SR/12496. Brussels, European Crop Protection Association, 46 p.
- EFSA (2007)** Opinion on a request from EFSA related to the default Q10 value used to describe the temperature effect on transformation rates of pesticides in soil. *The EFSA Journal*, 622:1-32
- Eggen T. (1999)** Application of fungal substrate from commercial mushroom production - *Pleurotus ostreatus* - for bioremediation of creosote contaminated soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 44:117-126
- Eichlerova I., Homolka L., Nerud F., Zadrazil F., Baldrian P., Gabriel J. (2000)** Screening of *Pleurotus ostreatus* isolates for their ligninolytic properties during cultivation on natural substrates. *Biodegradation*, 11: 279–287
- EPA (1998a)** U.S. Environmental protection agency, pollution prevention (P2) guidance manual for the pesticide formulating, packaging, and repackaging industry: implementing the P2 alternative (EPA-821-B-97-004), Washington, DC
- EPA (1998b)** Reregistration Eligibility Decision(RED): Metribuzin, 38-R-97-006
- Erhart E., Burian K., Hartl W., Stich K. (1999)** Suppression of *Pythium ultimum* by biowaste composts in relation to compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds. *Journal of Phytopathology*, 147:299-305.
- European commission (2002)** Health and consumer protection directorate-general review. Report for the active substance metalaxyl-m, September 2002
- 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
- Felgentreu D. and Bischoff G. (2006)** Studies on inactivation of waste water and residual liquids containing plant protection products by “Biobeds”. Pesticide Behaviour in soils, water and air abstracts of the SCI meeting. 2006 Warwick, UK, abstract Nr. A10.
- Felsot A.S. and Dzantor E.K. (1995)** Effect of alachlor concentration and an organic amendment on soil dehydrogenase activity and pesticide degradation rate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14:23-28
- Felsot A.S., Racke K.D., Hamilton D.J. (2003)** Disposal and degradation of pesticide waste. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 177:123–200
- Fernandes M.C., Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J. (2003)** Adsorption-desorption of metalaxyl as affecting dissipation and leaching in soils: role of mineral and organic components. *Pest Management Science*, 59:545-552

- Fernandes M.C., Cox L., Hermosin M.C., Cornejo J. (2006)** Organic amendments affecting sorption, leaching and dissipation of fungicides in soils. *Pest Management Science*, 62:1207-1215
- Fernandez M.D, Sanchez-Brunete C., Rodriguez A.J., Tadeo J.L. (2001)** Adsorption and degradation of thiazopyr in compost-amended and non-amended soils. *Pest Management Science*, 57:560-563
- Fischer P., Bach M., Burhenn J., Spitteller M., Frede H.G. (1996)** Pflanzenschutzmittel in Fliegewasser: Teil 3: Anteil diffuser und punktueller Einträge in einem kleinen Vorfluter. DGM, 40:168-173
- Flury M. (1996)** Experimental evidence of transport of pesticides through field soils: a review. *Journal of Environmental Quality*, 25:25-45
- FOCUS (1997)** Report on soil persistence models and EU registration, The final report of the work of the Soil Modelling Work group of FOCUS, Forum for the Coordination of Pesticide Fate Models and their Use, 74 p.
- FOCUS (2004)** Landscape and mitigation factors in aquatic risk assessment. Volume 2: Detailed technical reviews. Report of the FOCUS Working Group on landscape and mitigation factors in ecological risk assessment, 432 p.
- 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, 434 p.
- Fogg P. (2001)** Biobeds: safe disposal of pesticide waste and washings. British Crop Protection Council Symposium Proceedings: Pesticide behavior in soil and water, pp. 217-222
- Fogg P. (2007)** Guidance on using a lined biobed to dispose of agricultural waste consisting of non-hazardous pesticide solutions or washings. ADAS Project, Code: XCH2001. Environment Agency, Ref: 30139296
- Fogg P., Boxall A.B.A., Walker A. (2003c)** Degradation of pesticide in Biobeds: Effect of Concentration and Pesticide Mixtures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:5344-5349
- Fogg P. and Carter A.D. (1998)** Biobeds: the development and evaluation of a biological system for the disposal of pesticide waste and washings. British Crop Protection Council Symposium proceedings: Managing pesticide waste and packaging, pp. 49-58
- Fogg P., Boxall A.B.A., Jukes A., Walker A. (2003b)** Biobeds Phase 3: The development and evaluation of a biological system for the disposal of pesticide waste and washings. Cranfield research report No JA3763E, 61 p.
- Fogg P., Boxall A.B.A., Walker A. (2000)** Biobeds: The development and evaluation of a biological system for the disposal of pesticide waste and washings. Soil Survey and Land Research Centre report No PLO527, 80 p.
- Fogg P., Boxall A.B.A., Walker A. (2001)** Biobeds: The development and evaluation of a biological system for the disposal of pesticide waste and washings. Final Report, MAFF Project, PL0543, Cranfield University
- Fogg P., Boxall A.B.A., Walker A., Jukes A. (2003a)** Pesticide degradation in a biobed composting substrate. *Pest Management Science*, 59:527-537
- Fogg P., Boxall A.B.A., Walker A., Jukes A. (2004a)** Effect of different soil textures on leaching potential and degradation of pesticides in biobeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:5643-5652
- Fogg P., Boxall A.B.A., Walker A., Jukes A. (2004b)** Leaching of pesticides from biobeds: effect of biobed depth and water loading. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:6217-6227
- Fogg P., Boxall A.B.A., Walker A., Jukes A. (2004c)** Degradation and leaching potential of pesticides in biobed systems. *Pest Management Science*, 60:645-654
- Fogg P., King J.A., Shepherd M., Clemence B. (2005)** A review of 'soft engineering' techniques for on-farm bioremediation of diffuse and point sources of pollution. ADAS Gleadthorpe Research Centre, Meden Vale, Mansfield.
- Footprint (2010)** The footprint pesticide properties database, <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/index.htm>

- Fournier J.C. (2004)** A survey of INRA studies on biobeds. In: European Biobed Workshop, Husby J. (Eds.) Bayer CropScience, Malmo, Sweden.
- Fragoero S.I.S. (2005)** Use of fungi in bioremediation of pesticides. PhD Thesis, Cranfield University
- Frazar C. (2000)** The bioremediation and phytoremediation of pesticide-contaminated sites. National Network of Environmental Studies (NNEMS) Fellow
- Frede H.G., Fischer P., Bach M. (1998)** Reduction of herbicide contamination in flowing waters. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 161, 395-400
- Funari E., Barbieri L., Bottoni P., Del Carlo G., Forti S., Giuliano G., Marinelli A., Santini A.C., Zavatti A. (1998)** Comparison of the leaching properties of alachlor, metolachlor, triazines and some of their metabolites in an experimental field. *Chemosphere*, 36:1759-1773
- Gallaher K. and Mueller T.C. (1996)** Effect of crop presence on persistence of atrazine, metribuzin, and clomazone in surface. *Soil Weed Science*, 44:698-703
- Gamerding A.P., Achin R.S., Traxler R.W. (1997)** Approximating the impact of sorption on biodegradation kinetics in soil–water systems. *Soil Science Society of America Journal*, 61:1618-1626
- Gan J.Y. and Koskinen W.C. (1998)** Pesticide fate and behavior in soil at elevated concentrations. In: Pesticide Remediation in Soil and Water. Kearney, P.C., Roberts, T.R. (Eds.) Wiley, Chichester, pp. 59–84
- Ganzelmeier H., Rautmann D., Spangenberg R., Streloke M. (1995)** Studies on the Spray Drift of Plant Protection Products. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, Heft 305, Blackwell Wissenschafts-Verlag GmbH Berlin/Wein
- Garen D.C. and Moore D.S. (2005)** Curve number hydrology in water quality modeling: Uses, abuses, and future directions. *Journal of the American Water Resources Association*, 41:377-388
- Gavrilescu M. (2005)** Review, Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. *Engineering in Life Sciences*, 5:497-526
- Genot P., Van Huynh N., 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-Fakulteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen*, 67:117-128
- Gerecke A.C., Scharer M., Singer H.P., Muller S.R., Schwarzenbach R.P., Sagesser M., Ochsenein U., Popow G. (2002)** Sources of pesticides in surface waters in Switzerland: pesticide load through waste water treatment plants-current situation and reduction potential. *Chemosphere*, 48:307–315
- Getenga Z. (2003)** Enhanced mineralization of atrazine in compost-amended soil in laboratory studies. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71:933–941
- Getzin L.W. (1981)** Degradation of chlorpyrifos in soil: influence of autoclaving, soil moisture, and temperature. *Journal of Economic Entomology*, 74:158-162
- Gevao B., Semple K.T., Jones K.C. (2000)** Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution*, 108:3-14
- Ghosh R.K. and Singh N. (2009)** Effect of organic manure on sorption and degradation of azoxystrobin in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:632-636
- Giles C.H., MacEwan T.J., Nakhwa S.N., Smith D. (1960)** Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. *Journal of the Chemical Society*, 786:3973-3993
- Golfinopoulos S.K, Nikolaou A.D., Kostopoulou M.N., Xilourgidis N.K., Vagi M.C., Lekkas D.T (2003)** Organochlorine pesticides in the surface waters of Northern Greece. *Chemosphere*, 50:507-516
- Golovleva A., Aharonson N., Greenhalgh R., Sethunathan N., Vonk J.W. (1990)** The role and limitations of microorganisms in the conversion of xenobiotics. *Pure and Applied Chemistry*, 62:351-364
- Gotterburen B., Mittelstaedt W., Fuhr F. (1995)** Comparison of different models to simulate the leaching behaviour of quinmerac predictively. British Crop Protection proceedings: Pesticide Movement to Water

- Govindaraju R.S. and Das B.S. (2007)** Moment Analysis for Subsurface Hydrologic Applications. (Eds.) Das. Berlin: Springer
- Grenni P., Caracciolo A.B., Rodriguez-Cruz M.S., Sanchez-Martin M.J. (2009)** Changes in the microbial activity in a soil amended with oak and pine residues and treated with linuron herbicide. *Applied Soil Ecology*, 41:2-7
- Grover R. (1988)** Environmental Chemistry of Herbicides Vol.1, (Eds.) CRC Press: Boca Raton, Florida
- Guo L., Bicki T., Hinesly D., Felsot A. (1991)** Effect of carbon-rich waste materials on movement and sorption of atrazine in a sandy, coarse-textured soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 10:1273-1282
- Guo L., Jury W.A., Wagenet R.J., Flury M. (2000)** Dependence of pesticide degradation on sorption: nonequilibrium model and application to soil reactors. *Journal of Contaminant Hydrology*, 43:45-62
- Gustafson D.I. (1989)** Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8:339-357
- Gustafson D.I. and Holden L.R. (1990)** Nonlinear pesticide dissipation in soil: A new model based on spatial variability. *Environmental Science and Technology*, 24:1032-1038
- Guzzella L., Pozzoni F., Giuliano G. (2006)** Herbicide contamination of surficial groundwater in Northern Italy. *Environmental Pollution*, 142:344-353
- Guzzella L., Rullo S., Pozzoni F., Giuliano G. (2003)** Studies on mobility and degradation pathways of terbutylazine using lysimeters on a field scale. *Journal of Environmental Quality*, 32:1089-1098
- Hajslova J., Holadova K., Kocourek V., Poustka J., Godula M., Cuhra P., Kempny M., (1998)** Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues. *Journal of Chromatography*, 800:283-295
- Hallenbeck W.H. and Cunningham-Burns K.M. (1985)** Pesticides and human health. (Eds.) Springer-Verlag, New York
- Hamaker J.W. and Goring C.A.I. (1975)** Turnover of pesticide residues in soil. In: Kaufman D.D., Still G.C., Paulson G.D., Bandal S.K. Bound and conjugated pesticide residues. (Eds.) ACS Symposium No29, Chapter 17, American Chemical Society, Washington DC, pp. 219-243
- Hance R.J. (1973)** The effects of nutrients on the decomposition of the herbicides atrazine and linuron incubated with soil. *Pesticide Science*, 4:817-822
- Hankinson G. and Welland G. (2001)** The effectiveness of a stewardship campaign in Severn Trent Water. In: Proceedings of the British Crop Protection Council Symposium: Pesticide Behaviour in Soils and Water, pp. 325-333
- Harris D.A., Johnson K.S., Ogilvy J.M.E. (1991)** A system for the treatment of waste from agrochemical production and field use. In: Brighton Crop Protection Conference – Weeds, pp. 715-722
- Hart M.R. and Brookes P.C. (1996)** Effect of two ergosterol-inhibiting fungicides on soil ergosterol and microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 7:885– 892
- Hartley D. and Kidd H. (1983)** The Agrochemicals Handbook. Royal Society of Chemistry, Nottingham, UK
- Hatakka A. (1994)** Lignin-modifying enzymes fungi: production and role from selected white-rot in lignin degradation. *FEMS Microbiology Reviews*, 13:125-135
- Hatfield R.D., Grabber J., Ralph J., Brei K. (1999)** Using the acetyl bromide assay to determine lignin concentrations in herbaceous plants: some cautionary notes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:628-632
- Hawke C.J. and Jose P.V. (1996)** Reedbed management for commercial and wildlife interest. RSPB, Sandy Beds, UK
- Hela D.G., Dimitra A. Lambropoulou D.A., Ioannis K. Konstantinou I.K., Triantafyllos A. Albanis T.A. (2005)** Environmental monitoring and ecological risk assessment for pesticide contamination and effects in Lake Pamvotis, northwestern Greece. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24:1548–1556

- Helweg A. (1994)** Threats to water quality from pesticides – case histories from Denmark. *Pesticide Outlook*, 5:12-18
- Helweg A., (1983)** Influence of the fungicide iprodione on respiration, ammonification and nitrification in soil. *Pedobiologia*, 25:87-92
- Henriksen T., Svensmar B., Juhler R.K. (2004)** Degradation and sorption of metribuzin and primary metabolites in a sandy soil. *Journal of Environmental Quality*, 33:619-627
- Henriksen T., Svensmark B., Juhler R.K. (2004)** Degradation and sorption of metribuzin and primary metabolites in a sandy soil. *Journal of Environmental Quality*, 33:619-27
- Henriksen V.V., Helweg A., Spliid N.H., Felding G., Stenvang, L. (2003)** Capacity of model biobeds to retain and degrade mecoprop and isoproturon. *Pest Management Science*, 59:1076-1082
- Hensley D. and Yogi J. (1997)** Substitutions for peat in Hawaii nursery production. *Horticulture Research Note*, November 1997
- Hernandez-Soriano M.C., Mingorance M.D., Pena A. (2007)** Interaction of pesticides with a surfactant-modified soil interface: Effect of soil properties. *Physicochemical and Engineering Aspects*, 306:49-55
- Hetrick J., Evans W., Abel S. (2005)** Environmental fate and effects division risk assessment for proposed new uses of indoxacarb on grapes, fire ants, mole crickets, alfalfa, peanut, soybeans, Brassica leafy vegetables (Group 5), and turnip greens. PC Code 067710. U.S. EPA, Washington, D.C.
- Hill B.D. and Schaalje G.B. (1985)** A two-compartment model for the dissipation of deltamethrin on soil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 33:1001-1006
- Holvoet K., van Griensven A., Seuntjens P., Vanrolleghem P.A. (2005)** Sensitivity analysis for hydrology and pesticide supply towards the river in SWAT. *Physics and Chemistry of the Earth*, 30:518–526
- Houot S., Barriuso E., Bergheaud V. (1998)** Modifications to atrazine degradation pathways in a loamy soil after addition of organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 30:2147–2157
- Howard P.H. (1989)** Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals, Vol. III: Pesticides. (Eds.) Lewis Publishers, Chelsea, MI
- Huang J. and Liao C. (1970)** Adsorption of Pesticides by Clay Minerals. *Journal of the Sanitary Engineering Division*, 96:1057-1078
- Huang W. and Weber W.J.Jr. (1997)** A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments. 10: Relationships between sorption, hysteresis, and the chemical characteristics of organic domains. *Environmental Science and Technology*, 31:2562-2569
- Huang W., Peng, P., Yua, Z., Fu, J. (2003)** Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments. *Applied Geochemistry*, 18:955-972
- Huang W., Yu H., Weber W.J.Jr., (1998)** Hysteresis in the sorption and desorption of hydrophobic organic contaminants by soils and sediments: 1. A comparative analysis of experimental protocols. *Journal of Contaminant Hydrology*, 31:129-148
- Huang X. and Lee L.S. (2001)** Effects of dissolved organic matter from animal waste effluent on chlorpyrifos sorption by soils. *Journal of Environmental Quality*, 30:1258-1265
- Huber A., Bach M., Frede H.G. (2000)** Pollution of surface waters with pesticides in Germany: Modeling non-point source inputs. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 80:191-204
- Husby J. (2010)** The biobed workshops and biobeds in the world. 3rd European Biobed Workshop Program, August-September, Piacenza, Italy
- Huston P.L. and Pignatello J.J. (1999)** Degradation of selected pesticide active ingredients and commercial formulations in water by the photo-assisted Fenton reaction. *Water Research*, 33:1238-1246
- McKinzi A.M. and Dichristina T.J. (1999)** Microbially driven Fenton reaction for transformation of pentachlorophenol. *Environmental Science and Technology*, 33:1886-1891
- Hyzak D.L. and Zimdahl R.L. (1974)** Rate of degradation of metribuzin and two analogs in soil. *Weed Science*, 22:75-79

- Iglesias-Jimenez E., Poveda E., Sanchez-Martin M.J., Sanchez-Camazano M. (1997)** Effect of the nature of exogenous organic matter on pesticide sorption by the soil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 33:117-124
- Jaeken P. and Debaer C. (2005)** Risk of water contamination by plant protection products (PPP) during pre- and post treatment operations. *Annual Review of Agricultural Engineering*, 4:93-114
- James T.K., Rahman A., Holland P.T., McNaughton D.E., Heiermann M. (1998)** Degradation and movement of terbuthylazine in soil. proc. 51st new zealand plant protection conference pp. 157-161
- Jarvis N.J., Larson M., Fogg P., Carter A.A. (1995)** Validation of the dual-porosity model Macro for assessing pesticide fate and mobility in soils. In: Proceedings of the BCPC Symposium No. 62: Pesticide Movement to Water
- Jia Z., Li Y., Lu S., Peng H., Ge J., Chen S. (2006)** Treatment of organophosphate-contaminated wastewater by acidic hydrolysis and precipitation. *Journal of Hazardous Materials*, 129:234-238
- Joergensen R.G. and Brookes P.C. (1990)** Ninhydrin reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5 M K₂SO₄ soil extracts. *Soil Biology and Biochemistry*, 22:1023-1027
- Johann S., Oliveira V.L., Pizzolatti M.G., Schripsema J., Braz-Filho R., Branco A., Smania Jr.A. (2007)** Antimicrobial activity of wax and hexane extracts from Citrus spp. peels. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102:681-685
- Johnson A.B. (2001)** Adsorption and degradation of metolachlor and metribuzin in a no-till system under three winter crop covers. *Soil and Sediment Contamination*, 10:525-537
- Jones K.C. and Vogt P.D. (1999)** Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environment Pollution*, 100:209-221
- Jones R.L., Gatzweiler E.G., Guyot C.N., Hardy I.A.J., Higginbotham S., Leake C.R., Arnold D.J.S., Ildstien H., Feyerabend (1999)** Research and monitoring studies of isoproturon movement to surface and ground water in Europe. Proceedings of the XI Symposium Pesticide Chemistry, 11-15 July 1999, pp: 21-27
- 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
- Kearney P.C. and Karns J.S. (1987)** Microbial metabolism. In: Fate of Pesticides in the Environment. Biggar J.W., Seiber J.N. (Eds.) University of California, publication 3320
- Khoury R., Geahchan A., Coste C.M., Cooper J.F., Bobe A. (2003)** Retention and degradation of metribuzin in sandy loam and clay soils of Lebanon. *Weed Research*, 43: 252-259
- Kim J.H. and Feagley S.E. (1998)** Adsorption and leaching of trifluralin, metolachlor and metribuzin in a commerce soil. *Journal of Environmental Science and Health*, B33:529-546
- Kirk T.K. (1988)** Lignin degradation by Phanerochaete chyrosporium. ISI Atlas of Science: Biochemistry, pp. 71-76
- Kirk T.K., Lamar R.T., Glaser J.A. (1992)** The potential of white rot fungi in bioremediation. In: Biotechnology and environmental science—molecular approaches. Proceedings of the international conference on biotechnology and environmental science: molecular approaches, Bangkok, Thailand, pp. 131-138
- Kjaer J., Olsen P., Henriksen T., Ullum M. (2005)** Leaching of metribuzin metabolites and the associated contamination of a sandy danish aquifer. *Environmental Science and Technology*, 39:8374-8381
- Kladivko E.J., van Scoyoc G.E., Monke E.J., Oates K.M., Pask W. (1991)** Pesticide and nutrient movement into subsurface tile drains on a silt loam soil in Indiana. *Journal of Environmental Quality*, 20:264-270
- Konstantinou I.K., Hela D.G., Albanis T.A. (2006)** The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. Part I. Review on occurrence and levels. *Environmental Pollution*, 141:555-70
- Konstantinou I.K., Sakellarides T.M., Sakkas V.A., Albanis T.A. (2001)** Photocatalytic degradation of selected s-triazine herbicides and organophosphorus insecticides over aqueous TiO sub(2) suspensions. *Environmental Science and Technology*, 35:398-405

- Kordel W. and Klein M. (2006)** Prediction of leaching and groundwater contamination by pesticides. *Pure Applied Chemistry*, 78:1081-1090
- Koskinen W.C. and Cheng H.H. (1983)** Effects of experimental variables on 2,4,5-T adsorption-desorption in soil. *Journal of Environmental Quality*, 12:325-330
- Kravvariti K., Tsiropoulos N.G. Karpouzias D.G. (2010)** Degradation and adsorption of terbuthylazine and chlorpyrifos in biobed biomixtures from composted cotton crop residues. *Pest Management Science*, 66:1122-1128
- Kreuger J. and Nilsson E. (2001)** Catchment scale risk-mitigation experiences—key issues for reducing pesticide transport to surface waters. In: Proceedings of the BCPC Symposium No. 78: Pesticide Behaviour in Soil and Water, pp. 319–324
- Kreuger J. and Tornqvist L. (1998)** Multiple regression analysis of pesticide occurrence in streamflow related to pesticide properties and quantities applied. *Chemosphere*, 37:189–207
- Kullman S.W. and Matsumura F. (1996)** Metabolic pathways utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan. *Applied and Environmental Microbiology*, 62:593-600
- Kuo W.S. and Regan R.W.Sr. (1992)** Degradation of carbaryl and 1-naphthol by spent mushroom compost microorganisms. *Water Science and Technology*, 26:1-12
- Kuo W.S. and Regan R.W.Sr. (1998)** Aerobic carbamate bioremediation aided by compost residuals from the mushroom industry: Laboratory studies. *Compost Science and Utilization*, 6:19-29
- Kyriakopoulos G. and Doulia D. (2006)** Adsorption of Pesticides on Carbonaceous and Polymeric Materials from Aqueous Solutions: A Review. *Separation and Purification Reviews*, 35:97-191
- Ladlie J.S., Meggitt W.F., Penner D. (1976)** Effect of soil pH on microbial degradation, adsorption, and mobility of metribuzin. *Weed Science*, 24:477-481
- Lamar R.T. (2001)** Final Report: Biobeds for containment and destruction of pesticides at agricultural mixing and loading facilities. Earthfax Development Corporation, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, National Center for Environmental Research, Science to Achieve Results (STAR) Program.
- Lambropoulou D.A., Sakkas V.A., Hela D.G., Albanis T.A. (2002)** Application of solid-phase microextraction in the monitoring of priority pesticides in the Kalamas River (N.W. Greece). *Journal of Chromatography A*, 963:107-116
- Landgraf M.D., da Silva S.C., de Rezende M.O. (1998)** Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid samples from peat and vermicompost. *Analytica Chimica Acta*, 368:155-164
- Lang E., Eller G., Zadrazil F. (1997b)** Lignocellulose decomposition and production of ligninolytic enzymes during interaction of white rot fungi with soil microorganisms. *Microbial Ecology*, 34:1-10
- Lang E., Kleeberg I., Zadrazil F. (1997a)** Competition of *Pleurotus sp.* and *Dichomitus squalens* with soil microorganisms during lignocellulose decomposition. *Bioresource Technology*, 60:95-99
- Lang E., Nerud F., Zadrazil F. (1998)** Production of ligninolytic enzymes by *Pleurotus sp.* and *Dichomitus squalens* in soil and lignocellulose substrate as influenced by soil microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 167:239-244.
- Lankinen P. (2004)** Ligninolytic enzymes of the basidiomycetous fungi *Agaricus bisporus* and *Phlebia radiata* on lignocellulose-containing media. PhD Thesis, University of Helsinki
- Larson S.J., Capel P.D., Goolsby D.A., Zaugg S.D., Sandstrom M.W. (1995)** Relation between pesticide use and riverine flux in the Mississippi river basin. *Chemosphere*, 31:3305-3321
- Lau K.L., Tsang Y.Y., Chiu S.W. (2003)** Use of spent mushroom compost to bioremediate PAH-contaminated samples. *Chemosphere*, 52:1539-1546
- Law W.M., Lau W.N., Lo K.L., Wai L.M., Chiu S.W. (2003)** Removal of biocide pentachlorophenol in water system by the spent mushroom compost of *Pleurotus pulmonarius*. *Chemosphere*, 52:1531-1537
- Lawrence J.R., Eldan M., Sonzogni W.C (1993)** Metribuzin and Metabolites in Wisconsin (U.S.A.) Well Water. *Water Research*, 27:1263-1268

- LeBoeuf E.J. and Weber J.W.Jr. (1997)** A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments: Identification of a humic acid glass transition and a logic for invoking polymer sorption theory. *Environmental Science and Technology*, 3:1697-1702
- Lechon Y. (1997)** Laboratory and field studies on metribuzin persistence in soil and its prediction by simulation models. *Toxicology and Environmental Chemistry*, 63:47–61
- Lee J.L., Roh J.R., Kim H.S. (1994)** Metabolic engineering of *Pseudomonas putida* for the simultaneous biodegradation of benzene, toluene, and p-xylene mixture. *Biotechnology and Bioengineering*, 43:1146-1152
- Leu C., Singer H., Stamm C., Muller S.R., Schwarzenbach R.P. (2004)** Simultaneous assessment of sources, processes, and factors influencing herbicide losses to surface waters in a small agricultural catchment. *Environmental Science and Technology*, 38:3827–3834
- Loague K. and Corwin D.I. (2005)** Point and nonpoint source pollution. In: Encyclopedia of hydrological sciences, water quality and biogeochemistry. Anderson M.G. (Eds.) John Wiley and Sons, Ltd
- Locke M.A. and Harper S.S. (1991)** Metribuzin degradation in soil: I. Effects of soybean residue amendment, metribuzin level, and soil depth. *Pesticide Science*, 31: 221-237
- Ma L., Southwick L.M., Willis G.H., Selim H.M. (1993)** Hysteretic characteristics of atrazine adsorption-desorption by a Sharkey soil. *Weed science*, 41:627-633
- Maaskant M. (1993)** The Carbo-Flo/Sentinel process for the treatment of water contaminated by pesticides, results of a 3-year evaluation in the Netherlands. ANPP-BCPC 2nd International Symposium Pesticide Applications Techniques, Strasbourg, 18 p.
- Macalady D.L. and Wolfe N.L. (1983)** New perspectives on the hydrolytic degradation of the organophosphorothioate insecticide chlorpyrifos. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31:1139-1147
- Majumdar K. and Singh N. (2007)** Effect of soil amendments on sorption and mobility of metribuzin in soils. *Chemosphere*, 66:630-637
- Margat J. (1968)** Vulnerability of groundwater to pollution. BRGM Publication, 68 SGL 198 HYD, Orleans
- Margoum C., Malessard C., Gouy V. (2006)** Investigation of various physicochemical and environmental parameter influence on pesticide sorption to ditch bed substratum by means of experimental design. *Chemosphere*, 63:1835-1841
- Martínez A.T., Camarero S., Guillen F., Gutierrez A., Munoz C., Varela E., Martínez M.J., Barrasa J., Ruel K., Pelayo J. (1994)** Progress in biopulping of non woody materials: Chemical, enzymatic and ultrastructural aspects of wheat straw delignification with ligninolytic fungi from the genus *Pleurotus*. *FEMS Microbiology Reviews*, 13:265-273
- Mason P. (2003)** Point source contamination of surface water by pesticides. Ph.D. Dissertation. Coventry University in Collaboration with ADAS and Horticulture Research International, UK, 365 p.
- 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. Proceedings of XI Pesticide Chemistry Conference, Cremona, Italy, September 1999, pp. 405-412
- Matsubara M., Lynch J.M., De Leij F.A.A.M. (2006)** A simple screening procedure for selecting fungi with potential for use in the bioremediation of contaminated land. *Enzyme and Microbial Technology*, 39:1365-1372
- Matsumura F. (1989)** Biotic degradation of pollutants ecotoxicology and climate. Bourdeau P., Haines J.A., Klein W., Krishna C.R. (Eds.) John Wiley & Sons Ltd
- McCall P.J. (1986)** Hydrolysis of chlorpyrifos in dilute aqueous solution. DowElanco, Indianapolis, IN, USA
- Mckinlay R.G. and Kasperek K. (1999)** Observations on decontamination of herbicide polluted waters by marsh plant systems. *Water Research*, 33:505-511
- Meallier P. (1998)** Photodegradation of pesticides in aqueous solution. In: Environmental photochemistry. Boule P. (Eds.) Springer-Verlag, Berlin

- Mele P. and Carter M.R. (1996)** Estimation of microbial biomass by ninhydrin-reactive N using liquid chloroform. *Canadian Journal of Soil Science*, 37:40
- Mellor S. (2003)** 14C-DPX-MP062 (a 3:1 mixture of DPX-KN128 and IN-KN127): Aerobic soil metabolism. DuPont-8516. E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE
- Menne H.J. and Berger B.M. (2001)** Influence of straw management, nitrogen fertilization and dosages rates on the dissipation of five sulfonylureas in soil. *Weed Research*, 41:229-244
- Mercadier C., Vega D., Bastide J. (1997)** Iprodione degradation by isolated soil microorganisms. *FEMS Microbiology Ecology*, 23:207-215
- Mester T. and Tien M. (2000)** Oxidation mechanism of ligninolytic enzymes involved in the degradation of environmental pollutants. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 46:51-59
- Mokbel M.S. and Sukanuma T. (2006)** Antioxidant and antimicrobial activities of the methanol extracts from pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) fruit albedo tissues. *European Food Research and Technology*, 224:39-47
- Molina C., Honing M., Barcel D. (1994)** Determination of organophosphorus pesticides in water by solid-phase extraction followed by liquid chromatography high-flow pneumatically assisted electrospray mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 66:4444-4449
- Montgomery H.J., Monreal C.M., Young J.C., Seifert K.A. (2000)** Determination of soil fungal biomass from soil ergosterol analyses. *Soil Biology and Biochemistry*, 32:1207-1217
- Moorman T., Cowan J., Arthur E., Coats J. (2001)** Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils. *Biology and Fertility of Soils*, 33: 541-545
- Moorman T.B. and Harper S.S. (1989)** Transformation and mineralization of metribuzin in surface and subsurface horizons of a Mississippi delta soil. *Journal of Environmental Quality*, 18:302-306
- Morgan P., Lee S.A., Lewis S.T., Sheppard A.N., Watkinson R.J., (1993)** Growth and biodegradation by white-rot fungi inoculated into soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 25:279-287
- Morris R.C., Morrison D.P., Rose S.C., Basford W.D. (2004)** Agricultural pesticide handling and washdown areas. Proceeding Crop Protection in Northern Britain, 2004
- Morrison I.M. (1972)** Semi-micro method for the determination of lignin and its use in predicting the digestibility of forage crops. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23:455-463
- Mougin C., Laugero C., Asther M., Chaplain V. (1997)** Biotransformation of s-triazine herbicides and related degradation products in liquid cultures by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Pest Management Science*, 49:169-177
- Mueller T.C., Moorman T.B., Snipes C.E. (1992)** Effect of concentration, sorption, and microbial biomass on degradation of the herbicide fluometuron in surface and subsurface soils *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40:2517-2522
- Muller K., Deurer M., Hartmann H., Bach M., Spiteller M., Frede H.G. (2003)** Hydrological characterisation of pesticide loads using hydrograph separation at different scales in a German catchment. *Journal of Hydrology*, 273:1-17
- Muller K., Magesanb G.N., Bolane N.S. (2007)** A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. *Agricultural Ecosystems and Environment*, 120:93-116
- Muszkat L., Feigelson L., Bir L., Muszkat K.A. (1998)** Reaction patterns in photooxidative degradation of two herbicides. *Chemosphere*, 36:1485-1492
- Navarro S., Vela N., García C., Navarro G. (2003)** Persistence of simazine and terbuthylazine in a semiarid soil after organic amendment with urban sewage sludge. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:7359-7365
- Nelson D.W. and Sommers L.E. (1982)** Total carbon, organic carbon and organic matter. In: Page, A.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis Part II: American Society of Agronomers, Madison*, pp. 539-579
- Nerantzis E.T. and Tataridis P. (2006)** Integrated enology- utilization of winery by-products into high added value products. *Journal of Science and Technology*, 3:1-12
- Neumann M., Liess, M., Schulz R. (2003)** A qualitative sampling method for monitoring water quality in temporary channels or point sources and its application to pesticide contamination. *Chemosphere*, 51:509-513

- Niklasch H. and Joergensen R.G. (2001)** Decomposition of peat, biogenic municipal waste compost, and shrub/grass compost added in different rates to a silt loam. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164:365-369
- Novak J.M., Jayachandran K., Moorman T.B., Weber J.B. (1995)** Sorption and binding of organic compounds in soil and their relation to bioavailability. In: Bioremediation: Science and Applications. Skipper H.D., Turco R.F. (Eds.) Soil Science Society of America, pp. 13–31
- Novotny C., Erbanova P., Sasek V., Kubatova A., Cajtham L. T., Lang E., Krahl J., Zadrazil F. (1999)** Extracellular oxidative enzyme production and PAH removal in soil by exploratory mycelium of white rot fungi. *Biodegradation*, 10:159-168
- O'Connor D. and Connolly J. (1980)** The effect of concentration of adsorbing solids on the partition coefficient. *Water Research*, 14:1517-1523
- OECD (2001)** Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) guidelines for testing of chemicals. Adsorption/desorption using a batch equilibrium method. Test No. 106
- OECD (2002)** Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 3: Degradation and Accumulation. Test No. 307: Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil
- Ortelli D., Edder P., Rapin F., Ramseier S. (2008)** Metals and organic micropollutants in Geneva lake waters. Rapport de la Commission Internationale pour la Protection des Eaux du Léman, Campagne 2008, pp. 59-71
- Papadopoulou-Mourkidou E., Karpouzas D.G., Patsias J., Kotopolou A., Milothridou A., Kintzikoglou K., Vlachou P. (2004)** The potential of pesticides to contaminate the groundwater resources of the Axios river basin in Macedonia, Northern Greece. Part II. Monitoring study in the south part of the basin. *Science of the Total Environment*, 321:147-164
- Papadopoulou-Mourkidou E., Karpouzas D.G., Patsias J., Kotopolou A., Milothridou A., Kintzikoglou K., Vlachou P. (2004)** The potential of pesticides to contaminate the groundwater resources of the Axios river basin. Part II. Monitoring study in the south part of the basin. *Science of the Total Environment*, 321:147-164
- Papastergiou A. and Papadopoulou-Mourkidou E. (2001)** Occurrence and Spatial and Temporal Distribution of Pesticide Residues in Groundwater of Major Corn-Growing Areas of Greece (1996–1997). *Environmental Science and Technology*, 35:63–69
- Pereira A.P., Ferreira I.C., Marcelino F., Valentao P., Andrade P.B., Seabra R., Estevinho L., Bento A., Pereira J.A. (2007)** Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. *Cobrançosa*) leaves. *Molecules*, 12:1153-62
- Petrovic A.M., Barrett W.C., Larsson-Kovach I.M., Reid C.M., Lisk D.J. (1996)** The influence of a peat amendment and turf density on downward migration of matalaxyl fungicide in creeping bentgrass sand lysimeter. *Chemosphere*, 33:2335-2340
- Pettygrove D.R. and Naylor D.V. (1985)** Metribuzin degradation kinetics in organically amended soil. *Weed Science*, 33:267-270
- Philip C., Kearney M., Muldoon T., Somich C.J., Ruth J.M., Voaden D.J. (1988)** Biodegradation of ozonated atrazine as a wastewater disposal system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36: 1301-1306
- Philippoussis A. and Zervakis G. (2000a)** Cultivation of edible mushrooms in Greece: Presentation of the current status and analysis of future trends. Proceedings of the XVth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi, Van Griensven, L.J.L.D. (Eds.), Balkema Publishing, Rotterdam, The Netherlands, pp. 843-848
- Philippoussis A. and Zervakis G. (2000b)** Management of agro-industrial wastes through the cultivation of edible mushrooms. Proceedings of IV Forum on Innovation in waste management, Milan, Italy
- Pietrantoni B. (2004)** Promoting development of biobeds/Phytobacs by Bayer CropScience in France. European Biobed Workshop, Bayer CropScience, Malmo, Sweden.
- Pigeon O., De Vleeschouwer C., Cors F., Weickmans B., Huyghebaert, B., Planchon V., Pussemier L., Culot M. (2006)** Biofilters to treat the pesticides wastes from spraying applications: Results after 4 years of study. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71:9-19

- Pointing S.B. (2001)** Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57:20-33
- Pozo C., Martinez-Toledo M.V., Salmeron V., Rodelas B., Gonzalez-Lopez J. (1995)** Effect of chlorpyrifos on soil microbial activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14:187-192
- Pramauro E., Prevot A.B., Vincenti M., Brizzolesi G. (1997)** Photocatalytic degradation of carbaryl in aqueous solutions containing TiO₂ suspensions. *Environmental Science and Technology*, 31:3126-3131
- Prevot A.B., Pramauro E., de la Guardia M. (1999)** Photocatalytic degradation of carbaryl in aqueous TiO sub(2) suspensions containing surfactants. *Chemosphere*, 39:493-502
- Printz H., Mittelstaedt W., Führ F. (1995)** Effect of maize straw amendment on formation and translocation of residues of methabenzthiazuron in an orthic luvisol. *Journal of environmental science and health*, B30: 269-288
- Protzman R.S., Pak-Hing L., Ong S.K., Moorman T.B. (1999)** Treatment of formulated atrazine rinsate by agrobacterium radiobacter J14a in a sequencing batch biofilm reactor. *Water Research*, 33:1399-1404
- Pussemier L. and Elsen Y.V. (1998)** Herbicide degradation and leaching potential in biobed material. Proceedings from the 9th International Congress Pesticide Chemistry. The Food-Environment Challenge, 2-7 August 1998, 6A-003.
- Racke K.D. (1989)** Fate of organic contaminants during sewage sludge composting. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 42:526-533
- Racke K.D., Coats J.R., Titus K.R. (1988)** Degradation of Chlorpyrifos and Its Hydrolysis Product, 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol, in Soil. *Journal of Environmental Science and Health*, B23:527-539
- Racke K.D., Laskowski D.A., Scultz M.R. (1990)** Resistance of chlorpyrifos to enhanced biodegradation in soil. *J. Agric. Food Chem.* 38, 1930–1936.
- Racke K.D., Steele K.P., Yoder R.N., Dick W.A., Avidov E. (1996)** Factors affecting the hydrolytic degradation of chlorpyrifos in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44:1582-1592
- Rajarathnama S., Shashirekha M.N.U., Banoa Z. (1998)** Biodegradative and biosynthetic capacities of mushrooms: present and future strategies. *Critical Reviews in Biotechnology*, 18:91-236
- Ramwell C.T., Johnson P.D., Boxall 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
- Rao P.S. and Davidson J.M. (1980)** Estimation of pesticide retention and transformation parameters required in nonpoint source pollution models. In: Environmental impact of nonpoint source pollution. Overcash, M.R., and Davidson J.M. (Eds.). Annual Arbor Science Publications, MI, pp. 23-67
- Rao P.S., Hornsby G, Jessup R.E. (1985)** Indices for ranking the potential for pesticide contamination of groundwater. Proceedings of the Soil and Crop Science Society of Florida, 44:1-8
- Readman J.W., Albanis T.A., Barcelo D., Galassi S., Tronczynski J., Gabrielides G.P. (1997)** Fungicide Contamination of Mediterranean estuarine waters: Results from a MED POL pilot survey. *Marine Pollution Bulletin*, 34:259-263
- Reddy C. and Mathew Z. (2001)** Bioremediation potential of white rot fungi. In: Fungi in bioremediation. Gadd G. (Eds.) Cambridge University Press. Cambridge, U.K
- Regan R.W.Sr. (1994)** Use of SMS as a Compost Matrix to Degrade Pesticide Residuals. SMS Symposium Proceedings. American Mushroom Association.
- Reichenberger S., Bach M., Skitschak A., Frede H.G. (2006)** State-of-the-art review on mitigation strategies and their effectiveness. Report DL#7 of the FP6 EU-funded FOOTPRINT project, 76 p.
- Reichenberger S., Bach M., Skitschak A., 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
- Revitt D.M., Shutes R.B.E., Llewellyn N.R., Worrall P. (1997)** Experimental reedbed systems for the treatment of airport runoff. *Water Science and Technology*, 36:385-390
- Reynolds G., Graham N., Perry R., Rice R.G. (1989)** aqueous ozonation of pesticides: a review. *Science and Engineering*, 11:339-382

- Rigas F., Dritsa V., Marchant R., Papadopoulou K., Avramides E.J., Hatzianestis I. (2005)** Biodegradation of lindane by *Pleurotus ostreatus* via central composite design. *Environment International*, 31:191-196
- Robertson B.K. and Alexander M. (1994)** Growth-linked and cometabolic biodegradation: possible reason for occurrence or absence of accelerated pesticide biodegradation. *Pesticide Science*, 41: 311-318
- Rodriguez E., Nuero O., Guillen F., Martinez A.T., Martinez M.J. (2004)** Degradation of phenolic and non-phenolic aromatic pollutants by four *Pleurotus* species: the role of laccase and versatile peroxidase. *Soil Biology and Biochemistry*, 36:909-916
- Rodriguez-Cruz S., Andares M., Sanchez-Camazano M., Sanchez-Martin M. (2007)** Relationship between the adsorption capacity of pesticides by wood residues and the properties of wood and pesticides. *Environmental Science and Technology*, 41:3613-3619
- Romyen S., Luepromchai E., Hawker D., Karnchanasest B. (2007)** Potential of agricultural by-product in reducing chlorpyrifos leaching through soil. *Journal of Applied Science*, 7:2686-2690
- Ropke B., Bach M., Frede H.G. (2004)** DRIPS – a DSS for estimating the input quantity of pesticides for German river basins. *Environmental Modelling and Software*, 19:1021-1028
- Rose S.C., Basford W.D., Carter A.D. (2003)** On-farm bioremediation systems to limit point source pesticide pollution. XII Symposium on Pesticide Chemistry, Piacenza, Italy, pp. 20-24
- Rouchaud J., Gustin F., Benoit F., Ceustermans N., Gillet J., Van de Steene F., Pelerents C. (1992)** Influence of cow manure and composts on the effects of chlorfenvinphos on field crops. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 22:122-129
- Rouchaud J., Gustin F., Gillet J. Benoit F., Ceustermans N., van de Steene F., Pelerents C. (1991)** Chlorpyrifos soil and plant metabolisms in cauliflower crops grown on cow manure and composts soil fertilized fields. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 33:31-43
- Sabatini D.A. and Austin T.A. (1990)** Sorption and transport of pesticides in ground water: critical review. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 116:3-15
- Saethre M.G., Orpen H.M., Hofsvang T. (1999)** Action programmes for pesticide risk reduction and pesticide use in different crops in Norway. *Crop Protection*, 18:207-215
- Sahid I.B. and Teoh S.S. (1994)** Persistence of Terbutylazine in Soils. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 52:226-230
- Sakkas V.A. and Albanis T.A. (2003)** Photocatalyzed degradation of the biocides chlorothalonil and dichlofluanid over aqueous TiO₂ suspensions, *Applied Catalysis B: Environmental*, 46:175-188
- Sanchez M., Estrada I., Martinez O., Martin-Villacorta J., Aller A., Moran A. (2004)** Influence of the application of sewage sludge on the degradation of pesticides in the soil. *Chemosphere*, 57:673-679
- Sardar D. and Kole R.K. (2005)** Metabolism of chlorpyrifos in relation to its effect on the availability of some plant nutrients in soil. *Chemosphere*, 61:1273-1280.
- Savage K.E. (1976)** Adsorption and mobility of metribuzin in soil. *Weed Science*, 24:525-528
- Schnoor J.J. (1991)** Fate of Pesticides and Chemicals in the Environment. (Eds.) John Wiley & Sons, New York
- Schnurer J. and Rosswall T. (1982)** Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied Environmental Microbiology*, 43:1256-1261.
- Schoen S.R. and Winterlin W.L. (1987)** The effects of various soil factors and amendments on the degradation of pesticide mixtures. *Journal of Environmental Science and Health*, B22:347-377
- Scow K.M., Fan S., Johnson C., Ma G.M. (1995)** Biodegradation of sorbed chemicals in soil. *Environmental Health Perspectives*, 103:93-95
- Scrivasan C., D'Souza T.M., Boominathan K., Reddy C.A. (1995)** Demonstration of laccase in the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F1767. *Applied and Environmental Microbiology*, 61:424-4277
- Seiber J.N. (2002)** Environmental fate of pesticides. In: Pesticides in Agriculture and the Environment. Wheeler B.W. (Eds.) Marcel Dekker Press, New York, 36 p.

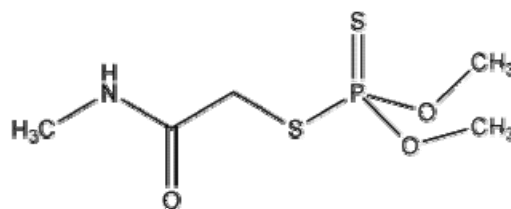
- Semple K.T., Watts N.U., Fermor T.R. (1998)** Factors affecting the mineralization of [U-¹⁴C] benzene in spent mushroom substrate. *FEMS Microbiology Letters*, 164:317-321
- Simunek J., Jarvis N. J., van Genuchten M. T., Gardenas A. (2003)** Review and comparison of models for describing nonequilibrium and preferential flow and transport in the vadose zone. *Journal of Hydrology*, 272:14-35
- Singh B.K., Walker A., Morgan J.A.W., Wright D.J. (2003)** Effects of soil pH on the biodegradation of chlorpyrifos and isolation of a chlorpyrifos-degrading bacterium. *Applied Environmental Microbiology*, 69:5198–5206
- Singh N. (2002)** Sorption behavior of triazole fungicides in Indian soils and its correlation with soil properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:6434-6439
- Singh N. (2008)** Biocompost from sugar distillery effluent: effect on metribuzin degradation, sorption and mobility. *Pest Management Science*, 64:1057-1062
- Somasundaram L., Coats J.R., Racke K.D., Stahr H.M. (1990)** Application of the Microtox system to assess the toxicity of pesticides and their hydrolysis metabolites. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 44: 254-259
- Somasundaram L., Coats J.R., Racke K.D. (1989)** Degradation of pesticides in soil as influenced by the presence of hydrolysis metabolites. *Journal of Environmental Science and Health*, B24:457-478
- Soulas G. and Lagacherie B. (2001)** Modelling of microbial degradation of pesticides in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 33:551–557
- Spanoghe P., Maes A., Steurbaut W. (2004)** Limitation of point source pesticide pollution: Results of bioremediation system. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 69:719–732.
- Spliid N.H. and Koppen B. (1998)** Occurrence of pesticides in Danish shallow ground water. *Chemosphere*, 37:1307-1316.
- Spliid N.H., Helweg, A., Heinrichson K. (2006)** Leaching and degradation of 21 pesticides in a full-scale model biobed. *Chemosphere*, 65:2223-2232.
- Stenberg B., Castillo, M.d.P., Torstensson L. (1994)** Biobeds minimise environmental risks when filling agricultural spray equipment. 7th International Congress Bacteriology and Applied Microbiology, 3-8 July 1994
- Suett D.L., Jukes A.A., Phelps K. (1993)** Stability of accelerated degradation of soil-applied insecticides: laboratory behaviour of aldicarb and carbofuran in relation to their efficacy against cabbage root fly (*Delia radicum*) in previously treated field soils. *Crop Protection*, 12:431-442
- Swain T. and Hillis W.E. (1959)** The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10:63-68
- Tanabe A., Mitobe H., Kawata K., Sakai M. (2000)** New monitoring system for ninety pesticides and related compounds in river water by solid-phase extraction with determination by gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 83, no. 1
- Thom E., Ottow J.C., Benckiser G. (1997)** Degradation of the fungicide difenoconazole in a silt loam soil as affected by pretreatment and organic amendment. *Environmental Pollution*, 96: 409-14
- Tolosa I., Readman J.W., Mee L.D., 1996** Comparison of the performance of solid-phase extraction techniques in recovering organophosphorus and organochlorine compounds from water. *Journal of Chromatography*. A725:93-106
- Torang L. (2003)** Biodegradation rates of chemicals in surface water and groundwater assessed in batch simulation tests. PhD thesis, Lyngby
- Torstensson L. (2000)** Experiences of biobeds in practical use in Sweden. *Pesticide Outlook*, 206-211
- Torstensson L. and Castillo M.d.P. (1996)** Biobeds minimise environmental risks when filling agricultural spraying equipment. Proceedings of COST 66 Workshop, Stratford-upon-Avon, 223-224
- Torstensson L. and Castillo M.d.P. (1997)** Use of biobeds in Sweden to minimise environmental spillages from agricultural spray equipment. *Pesticide Outlook*, 24-27
- Tortella G., Diez M., Duran N. (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. Biobed workshop, Ghent, Belgium.
- Tuomela M. (2002)** Degradation of lignin and other ¹⁴C-labelled compounds in compost and soil with an emphasis on white-rot fungi. PhD Thesis, University of Helsinki
- Tuomela M., Vikman M., Hatakka A., Itavaara M. (2000)** Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology*, 72:169-183
- Van Eerd L.L., Hoagland R.E., Zablutowicz R.M., Hall J.C. (2003)** Pesticide metabolism in plants and microorganisms. *Weed Science*, 51:472-495
- Van Genuchten M.T., Leij F.J., Wu L. (1999)** Characterisation and measurement of the hydraulic properties of unsaturated porous media. Proceedings of the international workshop. University of California, Riverside
- Vanderheyden V., Debongnie P., Pussemier L. (1997)** Accelerated degradation and mineralization of atrazine in surface and subsurface soil materials. *Pesticide Science*, 49:237-242
- Vieuble-Gonod L., Benoit P., Cohen N., Houot S. (2009)** Spatial and temporal heterogeneity of soil microorganisms and isoproturon degrading activity in a tilled soil amended with urban waste composts. *Soil Biology and Biochemistry*, 41:2558-2567
- Vighi M. and Funari E. (1995)** Pesticide Risk in Groundwater; CRC Press: Boca Raton, Florida. 275 p.
- Villaverde J., Kah M., Brown C.D. (2008)** Adsorption and degradation of four acidic herbicides in soils from southern Spain. *Pest Management Science*, 64:703-10
- Vincent, D.R., McCooey K.T., Ruhl J.C. (1997)** Field soil dissipation of DPX-JW062 (racemic mixture of DPX-128 [insecticidally active enantiomer] and IN-KN127) following application of DPX-JW062 experimental insecticide to bare ground. DuPont Report No. AMR 3402-95. E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.
- Vischetti C., Capri E., Trevisan M., Casucci C., Perucci P. (2004)** Biomassbed: A biological system to reduce pesticide point contamination at farm level. *Chemosphere*, 55:823-828
- Vischetti C., Coppola L., Monaci E., Cardinali A., Castillo M.d.P. (2007)** Microbial impact of the pesticide chlorpyrifos in Swedish and Italian biobeds. *Agronomy of Sustainable Development*, 27:267-272
- Vischetti C., Leita L., Marucchini C., Porzi G. (1998)** Simulation of movement and persistence of some s-triazine herbicides in Umbrian soils. *Agronomy*, 18:131-137
- Vischetti C., Monaci E., Cardinali A., Casucci C., Perucci P. (2008)** The effect of initial concentration, co-application and repeated applications on pesticide degradation in a biobed mixture. *Chemosphere*, 72:1739-1743
- Voroney R.P., Winter J.P., Beyaert R.P. (1993)** Soil microbial biomass C and N. In: Carter, M.R., (Ed.), Soil Sampling and Methods of Analysis, Lewis, Boca Raton, pp. 277-286.
- Vryzas Z., Vassiliou G., Alexoudis C., Papadopoulou-Mourkidou E. (2009)** Spatial and temporal distribution of pesticide residues in surface waters in northeastern Greece. *Water Research*, 43:1-10
- Vymazal J. (2006)** Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment*, 30:48-65
- Wagenet R.J. and Rao P.S.C. (1990)** Modelling pesticide fate in soils. In: Pesticides in the soil environment: Processes, impacts and modelling. Chen H.H. (Eds.) SSSA Book Ser. 2. SSSA, Madison, WI
- Walker A. (1987)** Further observations on the enhanced degradation of iprodione and vinclozolin in soil. *Pesticide Science*, 21:219-231
- Walker A., Brown P.A., Entwistle A.R. (1986)** Enhanced degradation of iprodione and vinclozolin in soil. *Pest Management Science*, 17:183-193
- Wang H., Li Y., Wei G., Wang X. (2007)** Imazaquin degradation and metabolism in a sandy loam soil amended with farm litters. *Journal of Environmental Sciences*, 19:1108-1113
- Wanner U., Fuhr F., Burauel P. (2005)** Influence of the amendment of corn straw on the degradation behaviour of the fungicide dithianon in soil. *Environmental Pollution*, 133:63-70

- Wauchope R.D. (1978)** The pesticide content of surface water draining from agricultural fields — a review. *Journal of Environmental Quality*, 7:459–472
- Wauchope R.D., Yeh S., Linders J.B., Kloskowski R., Tanaka K., Rubin B., Katayama A., Kordel W., Gerstl Z., Lane M., Unsworth J.B. (2002)** Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Management Science*, 58:419-445
- Weber W.J.Jr., Huang W., Yu H. (1998)** Hysteresis in the sorption and desorption of hydrophobic organic contaminants by soils and sediments 2. Effects of soil organic matter heterogeneity. *Journal of Contaminant Hydrology*, 31:149-165
- Weber W.J.Jr., McGinley P.M., Katz L.E. (1991)** Sorption Phenomena in Subsurface Systems - Concepts, Models and Effects on Contaminant Fate and Transport. *Water Research*, 25:499-528
- Weber W.J.Jr., McGinley P.M., Katz L.E. (1992)** A Distributed Reactivity Model for Sorption by Soils and Sediments. 1. Conceptual Basis and Equilibrium Assessments. *Environmental Science and Technology*, 26:1955-1962.
- Winterlin W.L., Schoen S.R., Mourer C.R. (1984)** Disposal of pesticide wastes in lined evaporation beds. In, Treatment of disposal of pesticide waste. Krueger R.F. and Seiber J.N. (Eds.) American Chemical Society symposium series 259, 97-116
- Wolfaardt G.M. (1995)** Bioaccumulation of the herbicide diclofop in extracellular polymers and its utilization by a biofilm community during starvation. *Applied Environmental Microbiology*, 61:152-158
- Woodrow J.E. and Seiber J.N. (1997)** Correlation techniques for estimating pesticide volatilization flux and downwind concentrations. *Environmental Science and Technology*, 31:523-529
- Xiao Y., 1997** Dissipation and leachability of formulated chlorpyrifos and atrazine in organically-amended soils. PhD Dissertation, December, 1997. Blacksburg, Virginia
- Zar J.H. (1996)** Biostatistical Analysis, 3rd Edition, Prentice-Hall Rio de Janeiro, Brasil.
- Zimdahl R., Cranmer B. K., Stroup W. (1994)** Use of empirical equations to describe dissipation of metribuzin and pendimethalin. *Weed Science*, 42:241-248
- Zmora-Nahuma S., Hadarb Y., Chen Y. (2007)** Physico-chemical properties of commercial composts varying in their source materials and country of origin. *Soil Biology and Biochemistry*, 39:1263-1276.
- Γεωργιάδης Ι. (2006)** Κομποστοποίηση υπολειμμάτων εκοκκισμένου βάμβακος και καλλιέργεια κηπευτικών σε υπόστρωμα κομπόστας βάμβακος. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών. Μεταπτυχιακή διατριβή, σ. 101
- Δρίτσα Β. (2006)** Μελέτη της αποδόμησης τοξικών ουσιών με λιγνινολυτικούς μύκητες. Εθνικό Μετσόβειο Πολυτεχνείο, Σχολή Χημικών Μηχανικών. Διδακτορική διατριβή, σ. 354
- Ισραηλίδης Κ.Ι. (2001)** Αξιοποίηση στερεών οργανικών αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων, <http://kallithea.hua.gr/compost.net/Israilidis%201.doc>
- Παπαδοπούλου-Μουρκίδου Ε. (2001)** Συνοπτική Έκθεση Προγράμματος INTERREG I & II: Ρύπανση του ποταμού Αξιού και επιδράσεις από και προς την Γεωργία, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσ/νίκης, Εργαστήριο Γεωργικών Φαρμάκων
- Παπαδοπούλου-Μουρκίδου Ε. (2002)** Πρόγραμμα Ελέγχου Ποιότητας Επιφανειακών Υδάτων στη Μακεδονία-Θράκη Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Εργαστήριο Γεωργικών Φαρμάκων, Θεσσαλονίκη
- Φιλιππούσης Α. και Διαμαντοπούλου Π. (2001)** Δυνατότητες οικολογικής διαχείρισης λιγνοκυτταρινούχων γεωργικών υπολειμμάτων και αποβλήτων με την καλλιέργεια μανιταριών – σύνοψη αποτελεσμάτων των ερευνών στο ΙΓΕΜΚ (ΕΘΙΑΓΕ), <http://kallithea.hua.gr/compost.net/filipousis-%202001.doc>

Dimethoate

| | | | | |
|---|--|--|---|--|
| Όνομα (IUPAC) | 2-dimethoxyphosphinothioylthio- <i>N</i> -methylacetamide | | | |
| Περιγραφή | Εντομοκτόνο, οργανοφωσφορικό | | | |
| Μοριακό βάρος | 229,3 | | | |
| Μορφή | άχρωμη κρυσταλλική | | | |
| Πίεση ατμών (mPa @ 25°C) | 0,25 | | | |
| K_{ow} logP | 0,704 | | | |
| Ειδικό βάρος (g·mL⁻¹) | 1,277 | | | |
| Υδατοδιαλυτότητα (mg·L⁻¹) | 29800 | | | |
| Σταθερότητα | Σχετικά σταθερό σε υδατικά μέσα pH 2-7. Υδρολύεται σε αλκαλικά διαλύματα (DT ₅₀ 12 ημέρες @ pH 9) | | | |
| pKa | — | | | |
| Αποδόμηση στο έδαφος¹ | Αγρό | 7,2 (4,6-9,8) | | |
| | Εργαστήριο (20°C) | 2,6 (2-4,1) | | |
| Φωτόλυση στο νερό¹ | 175 | | | |
| Υδατική υδρόλυση¹ | 68 | | | |
| Μεταβολίτες | Omethoate | | | |
| GUS index | 1,05 | | | |
| K_{oc} (mL·g⁻¹) | 30 | | | |
| WHO/EPA ταξινόμηση | U / II | | | |
| Οικοτοξικολογικά δεδομένα | BCF: | Πτηνά LD₅₀²: | Ψάρια LC₅₀³: | Μέλισσες LD₅₀⁴: |
| | — | 10,5 | 30,2 | 0,12 |
| Τοξικότητα στον άνθρωπο | Στόματος LD₅₀²: | Δέρματος LD₅₀²: | ADI⁵: | ARfD⁵: |
| | 245 | >2000 | 0,001 | 0,01 |
| | AOEL ⁵ :0,0003 | | | |
| Καλλιέργειες | Αρακάς, βαμβάκι, ελιά, ζαχαρότευτλα, καλλωπιστικά υπαίθρια, καπνός, κερασία, κουνουπίδι, κρεμμύδι, λάχανο, μαρούλι θερμοκηπίου, μαρούλι υπαίθριο, μελιτζάνα υπαίθρια, πατάτα, πατζάρι, ραπάνι, σπαράγγι, τομάτα υπαίθρια | | | |
| Τυποποίηση | 40 EC | | | |
| Δόση εφαρμογής | 62,5-150 mL·100 L ⁻¹ νερού | | | |



Αποδόμηση στο έδαφος

Η βιοαποδόμηση είναι ο καθοριστικότερος παράγοντας καθορισμού της τύχης της ουσίας στο έδαφος, γεγονός που προκύπτει από την μεγάλη διαφορά μεταξύ των ρυθμών αποδόμησης σε αποστειρωμένα και μη αποστειρωμένα εδάφη. Οι τυπικοί χρόνοι ημιζωής του μορίου είναι 4-16 ημέρες ενώ έχει αναφερθεί και χρόνος ημιζωής που αγγίζει τις 122 ημέρες. Ο χρόνος ημιζωής του μορίου στο έδαφος είναι 4 έως 122 ημέρες με αντιπροσωπευτικότερη τιμή τις 20 ημέρες. Λόγω της ταχείας αποδόμησης του μορίου του από μικροοργανισμούς του εδάφους αναμένεται να

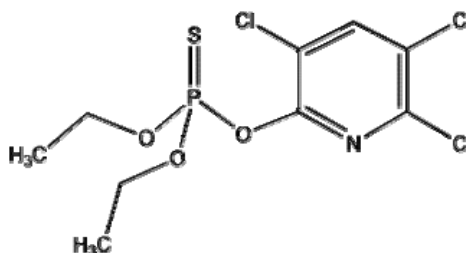
αποδομείται ταχύτερα σε εδάφη με υψηλή υγρασία. Επίσης αποδομείται ως ένα βαθμό και αβιοτικά μέσω υδρόλυσης, ιδιαίτερα σε αλκαλικά εδάφη (με τιμή DT_{50} μεταξύ 3,7 και 118 ημέρες σε τιμές pH 9 και 7 αντίστοιχα). Το κυριότερο προϊόν διάσπασης του μορίου είναι το omethoate που σχηματίζεται με την οξείδωση του μητρικού μορίου (Howard, 1989).

Συμπεριφορά στο έδαφος Η μεγάλη διαλυτότητα του dimethoate στο νερό και η ασθενής προσρόφηση του στα συστατικά του εδάφους αυξάνουν τη πιθανότητα κάθετης μετακίνησης του μορίου στο έδαφος. Όμως το dimethoate εμφανίζει μέτρια πιθανότητα έκπλυσης λόγω της ταχύτατης αποδόμησης του στο έδαφος. Ο συντελεστής προσρόφησης K_{oc} του dimethoate υπολογίστηκε μεταξύ 16,25 (αμμώδες) και 51,88 (αμμοπηλώδες έδαφος). Η πτητικοποίηση μπορεί να αποτελέσει σημαντική διεργασία μείωσης των υπολειμμάτων με απώλειες της τάξης των 23 έως 40,4% να έχουν αναφερθεί σε εδάφη με διαφορετική περιεκτικότητα σε οργανική ουσία ενώ η φωτοδιάσπαση δεν επηρεάζει σημαντικά την τύχη του μορίου στο έδαφος και στο νερό.

Τοξικότητα Το dimethoate είναι μέτρια έως πολύ τοξικό σε πτηνά (τα πτηνά εμφανίζουν μικρότερη ικανότητα μεταβολισμού του dimethoate σε σχέση με τα θηλαστικά). Επίσης είναι μετρίως τοξικό σε ψάρια και πολύ τοξικό σε μέλισσες. Είναι μετρίως τοξικό σε θηλαστικά όταν εισέρχεται δια του στόματος, δέρματος ή δια της αναπνευστικής οδού (τιμή οξείας τοξικότητας για πρόσληψη δια του στόματος είναι LD_{50} 180 έως 330 $mg \cdot kg^{-1}$ (δοκιμές σε ποντίκια). Μπορεί να προκαλέσει τερατογενέσεις και γονιδιακές αλλοιώσεις (δοκιμές σε ποντίκια και γάτες) (Hallenbeck, 1985)

Chlorpyrifos

| | | | |
|---|---|--|--|
| Όνομα (IUPAC) | O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate | | |
| Περιγραφή | Εντομοκτόνο, οργανοφωσφορικό | | |
| Μοριακό βάρος | 350,6 | | |
| Μορφή | Αχρωμη κρυσταλλική | | |
| Πίεση ατμών (mPa @ 25°C) | 2,5 | | |
| K_{ow} logP | 4,7 | | |
| Ειδικό βάρος (g·mL⁻¹) | 1,51 | | |
| Υδατοδιαλυτότητα (mg·L⁻¹) | 1,05 | | |
| Σταθερότητα | Η υδρόλυση αυξάνεται με το pH | | |
| pKa | — | | |
| Αποδόμηση στο έδαφος¹ | Αγρό | 21 | |
| | Εργαστήριο (20°C) | 76 | |
| Φωτόλυση στο νερό¹ | 29,6 | | |
| Υδατική υδρόλυση¹ | 25,5 | | |
| Μεταβολίτες | 3,5,6-trichloro-2-pyridinol | | |
| GUS index | 0,15 | | |
| K_{oc} (mL·g⁻¹) | 8151 | | |
| WHO/EPA ταξινόμηση | — / II | | |
| Οικοτοξικολογικά δεδομένα | BCF: 1374 | Πτηνά LD₅₀²: 13,3 | Ψάρια LC₅₀³: 0,0013 Μέλισσες LD₅₀⁴: 0,0059 |
| Τοξικότητα στον άνθρωπο | Στόματος LD₅₀²: 66 | Δέρματος LD₅₀²: >1250 | ADI⁵: 0,01 ARfD⁵: 0,1 AOEL⁵: 0,01 |
| Καλλιέργειες | Αγγούρι, αγκινάρα, αραβόσιτος, αχλαδιά, βαμβάκι, γκρέιπ φρουτ, δαμασκηλιά, καπνός, καρότο, καρπούζι, κολοκύθι, κρεμμύδι, κυδωνιά, λεμονιά, μανταρινιά, μελιτζάνα, μηλιά, νεκταρινιά, πατάτα, πιπεριά, πορτοκαλιά, ραπάνι, ροδακινιά, σέλινο, σιτάρι, σπορεία, σπανάκι, τομάτα, τριφύλλι | | |
| Τυποποίηση | EC, GR, CS, WG, WP | | |
| Δόση εφαρμογής | 80-520 mL σκευάσματος ανά στρέμμα | | |



¹ ημέρες

² mg·kg⁻¹

³ mg·L⁻¹

⁴ g ανά μέλισσα

⁵ mg·kg⁻¹·day⁻¹

Αποδόμηση στο έδαφος Με την απελευθέρωση του στο έδαφος το chlorpyrifos μπορεί να διασπαστεί με ένα συνδυασμό χημικής υδρόλυσης και μικροβιακής αποδόμησης, με τη τιμή του εδαφικού pH να συσχετίζεται σημαντικά με την τιμή του ρυθμού αποδόμησης. Σε ορισμένα μάλιστα αλκαλικά εδάφη η υδρόλυση αποτελεί το κύριο μεταβολικό μονοπάτι. Η χημική υδρόλυση που καταλύεται από άργιλο του εδάφους και μπορεί να συμβεί τόσο σε υγρά όσο και σε στεγνά εδάφη. Επίσης η πτητικοποίηση του chlorpyrifos από την επιφάνεια του εδάφους αναμένεται να συμβάλει στην απομάκρυνση του από το έδαφος. Γενικά το chlorpyrifos είναι μετρίως επίμονο στο έδαφος. Οι ρυθμοί αποδόμησης κυμαίνονται μεταξύ 92 έως 341 ημέρες σε ουδέτερα-όξινα εδάφη και 2-200 ημέρες σε αλκαλικά. Ο κύριος μεταβολίτης που σχηματίζεται είναι ο 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) ο

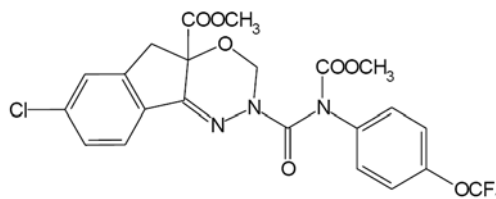
οποίος διασπάται περαιτέρω προς 3,5,6- trichloro-2-methoxy pyridine (TMP). Η ουσία TCP εμφανίζει αντιμικροβιακή δράση και η παρουσία της σε υψηλές συγκεντρώσεις στο έδαφος περιορίζει τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών-αποδόμητων της μητρικής ουσίας. Ο χρόνος ημιζωής του μεταβολιτών 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP), 3,5,6- trichloro-2-methoxy pyridine (TMP), chlorpyrifos οχον υπολογίζεται μεταξύ 2 και 56 ημερών. Υψηλές εδαφικές θερμοκρασίες, χαμηλή περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα και αλκαλικές συνθήκες εδαφικού pH αυξάνουν την αποδόμηση του chlorpyrifos. Η φωτόλυση δεν επηρεάζει σημαντικά τη συγκέντρωση των υπολειμμάτων της ουσίας (Howard, 1989).

Συμπεριφορά στο έδαφος Το chlorpyrifos ανήκει στην κατηγορία των ουσιών με μικρή κινητικότητα στο έδαφος. Η υψηλή τιμή K_{oc} (4381-13600) του chlorpyrifos υποδεικνύει ισχυρή πρόσδεση στα συστατικά του εδάφους και επομένως μεγαλύτερο χρόνο παραμονής του στο έδαφος. Προηγούμενες δοκιμές αγρού πάνω στην δυνατότητα έκπλυσης του chlorpyrifos έδειξε ότι η ουσία αυτή δεν μπορεί πρακτικά να εκπλυθεί σε βάθος μεγαλύτερο των 30 cm. Επίσης έχει αποδειχθεί ότι η μορφή του σκευάσματος με την οποία εφαρμόζεται το chlorpyrifos στο έδαφος είναι σε θέση να επηρεάσει σημαντικά την γενική συμπεριφορά προσρόφησης της ουσίας. Η ποσότητα που προσροφάται από τα συστατικά του εδάφους υπόκειται σε αποδόμηση από υπεριώδη ακτινοβολία, χημική υδρόλυση καθώς και βιοτική διάσπαση του μορίου από μικροβιακούς πληθυσμούς του εδάφους. Ο μεταβολίτης TCP προσροφάται ασθενώς στα συστατικά του εδάφους και εμφανίζεται μετρίως κινητικό και χημικά σταθερό στο έδαφος

Τοξικότητα Το chlorpyrifos είναι μετρίως τοξικό στους ανθρώπους. Η δηλητηρίαση μπορεί να επηρεάσει το κεντρικό νευρικό σύστημα το καρδιαγγειακό και το αναπνευστικό σύστημα. Η προσρόφηση όμως της ουσίας δια του δέρματος όμως είναι περιορισμένη σε σχέση με άλλα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα. Η δια του δέρματος LD_{50} , υπολογισμένη σε ποντίκια είναι μεγαλύτερη από $2000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ και η δια του στόματος εμφανίζει τιμή 82 to $270 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Το chlorpyrifos δεν εμφάνισε σε καμία δοκιμή καρκινογόνο, μεταλλαξιογόνο ή τερατογόνο δράση. Είναι μετρίως έως πολύ τοξικό σε πτηνά ενώ εμφανίζει μεγάλη τοξικότητα σε ψάρια, υδρόβια ασπόνδυλα και συσσωρεύεται στους ιστούς των υδρόβιων οργανισμών. Το κυριότερο προϊόν του μεταβολισμού της ουσίας στους οργανισμούς αυτούς είναι το 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP). Η γενική χρήση του chlorpyrifos μπορεί να θεωρηθεί εξαιρετικά δηλητηριώδης στις μέλισσες

Indoxacarb

| | | | | |
|---|--|---|--|--|
| Όνομα | methyl (S)-N-[7-chloro-2,3,4a,5-tetrahydro-4a-(methoxycarbonyl) indeno[1,2-e] = [1,3,4]oxadiazin -2-ylcarbonyl] -4' - (trifluoromethoxy) carbanilate | | | |
| Περιγραφή | Εντομοκτόνο, οξαδιαζίνη | | | |
| Μοριακό βάρος | 527,8 | | | |
| Μορφή | Λευκή σκόνη. Το indoxacarb είναι ρακεμικό μίγμα R και S ισομερών (25:75). Μόνο όμως το S ισομερές εμφανίζει εντομοκτόνο δράση | | | |
| Πίεση ατμών (mPa @ 25°C) | 2,5 x 10 ⁻⁵ | | | |
| K_{ow} logP | 4,65 | | | |
| Ειδικό βάρος (g·mL⁻¹) | 1,44 | | | |
| Υδατοδιαλυτότητα (mg·L⁻¹) | 0,20 | | | |
| pK_a | — | | | |
| Αποδόμηση στο έδαφος¹ | Αγρό | 20 (10-27) | | |
| | Εργαστήριο (20°C) | 5 (2-11) | | |
| Φωτόλυση στο νερό¹ | 3 | | | |
| Υδατική υδρόλυση¹ | 22 | | | |
| Μεταβολίτες | IN-JT333, IN-KG433, IN-MK638 | | | |
| GUS index | 0,23 | | | |
| K_{oc} (mL·g⁻¹) | 6450 | | | |
| WHO/EPA ταξινόμηση | NL / III | | | |
| Οικοτοξικολογικά δεδομένα | BCF:520 | Πτηνά LD₅₀²: 98 | Ψάρια LC₅₀³: 0,65 | Μέλισσες LD₅₀⁴: 0,094 |
| Τοξικότητα στον άνθρωπο | Στόματος LD₅₀²: 268 | Δέρματος LD₅₀²: >5000 | ADI⁵: 0,006 | ARfD⁵: 0,125 |
| | AOEL⁵: 0,004 | | | |
| Καλλιέργειες | | | | |
| Τυποποίηση | SC, WG | | | |
| Δόση εφαρμογής | | | | |



¹ ημέρες

² mg·kg⁻¹

³ mg·L⁻¹

⁴ g ανά μέλισσα

⁵ mg·kg⁻¹·day⁻¹

Αποδόμηση Η απομάκρυνση του indoxacarb από το έδαφος είναι συνδυασμός αποδόμησης, ενσωμάτωσης στο οργανικό κλάσμα του εδάφους και ανοργανοποίησης με σχηματισμό CO₂ (Mellor, 2003). Η μικροβιακή αποδόμηση είναι η σημαντικότερο μονοπάτι απομάκρυνσης του indoxacarb. Κάτω από αερόβιες συνθήκες το κυριότερο προϊόν υδρόλυσης του, το INJT333 σχηματίζεται ταχύτατα. Ο μεταβολίτης αυτός είναι περισσότερο τοξική ουσία από τη μητρική (Brugger, 1997). Η απομάκρυνση του indoxacarb από το έδαφος παρουσιάζεται έντονα διφασική, με τον ταχύ αρχικό ρυθμό αποδόμησης να ακολουθείται από μια περίοδο μειωμένου ρυθμού αποδόμησης, γεγονός που δυσκολεύει την εκτίμηση του χρόνου ημιζωής της φ.ο. (Hetrick et al., 2005). Το indoxacarb γενικά θεωρείται μετρίως επίμονο και η περίοδος ημιζωής του σε αερόβιες συνθήκες κυμαίνεται από 17 έως 114 ημέρες (Vincent et al., 1997). Σε αναερόβιες συνθήκες όμως ο ρυθμός αποδόμησης είναι μικρότερος. Επίσης οι ρυθμοί αποδόμησης ποικίλουν ανάλογα με την εποχή του χρόνου, με τις

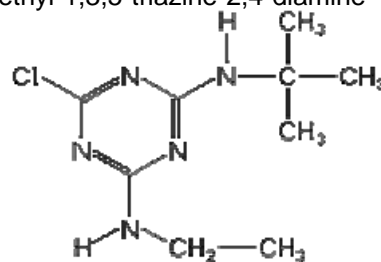
θερινές εφαρμογές να εμφανίζουν μεγαλύτερο ρυθμό αποδόμησης σε σχέση με τις φθινοπωρινές ή χειμερινές. Επίσης δεν έχει παρατηρηθεί καμία συσχέτιση μεταξύ της τιμής του εδαφικού pH και του ρυθμού αποδόμησης. Οι χρόνοι ημιζωής των μεταβολιτών του indoxacarb στο έδαφος ποικίλει από 2,4 ημέρες (IN-KG433) έως 235,2 ημέρες (IN-MK643)

Συμπεριφορά στο έδαφος Το indoxacarb είναι μετρίως υδρόφοβη ουσία με χαμηλή διαλυτότητα στο νερό και υψηλό δείκτη κατανομής σε σύστημα οκτανόλης /νερού. Οι τιμές αυτές σε συνδυασμό με την υψηλή τιμή συντελεστή προσρόφησης του (K_{oc} 2200-9400) αποδεικνύουν τη σχετικά μικρή πιθανότητα έκπλυσης του indoxacarb σε υπόγεια ύδατα. Αν και μερικοί από τους κυριότερους μεταβολίτες του indoxacarb είχαν πολύ μικρές τιμές K_{oc} , εμφάνισαν ταυτόχρονα χαμηλές τιμές χρόνου ημιζωής, με αποτέλεσμα ο κίνδυνος απομάκρυνσης τους από τα άνω στρώματα του εδάφους μέσω έκπλυσης να είναι μειωμένος (Dias, 2006)

Τοξικότητα Όσο αφορά τα θηλαστικά εμφανίζει τιμή οξείας τοξικότητας $179 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Η τιμή της χρόνιας (NOEC) και της υπο-χρόνιας τοξικότητας είναι $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ και $8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ αντίστοιχα. Το indoxacarb είναι μετρίως τοξικό σε πτηνά ενώ ο μεταβολίτης JT333 είναι ελάχιστα τοξικός στους ίδιους οργανισμούς. Η ουσία αυτή εμφανίζει επίσης μεγάλη τοξικότητα μελισσοτοξικότητα. Τόσο η μητρική ουσία όσο και οι μεταβολίτες θεωρούνται μετρίως έως πολύ τοξικοί στα ψάρια και στα ασπόνδυλα

Terbuthylazine

| | | | |
|---|--|---|--|
| Όνομασία μορίου | 6-chloro- <i>N</i> -(1,1-dimethylethyl)- <i>N</i> '-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine | | |
| Περιγραφή | Ζιζανιοκτόνο, τριαζίνη | | |
| Μοριακό βάρος | 229,7 | | |
| Μορφή | Άχρωμη σκόνη | | |
| Πίεση ατμών (mPa @25°C) | 0,15 | | |
| K_{ow} logP (pH 7, 20°C) | 3,21 | | |
| Ειδικό βάρος (g·mL⁻¹) | 1,188 | | |
| Υδατοδιαλυτότητα (mg·L⁻¹) | 8,5 | | |
| pK_a | 2 | | |
| Αποδόμηση στο έδαφος¹ | <i>Αγρό</i> | 46 | |
| | <i>Εργαστήριο (20°C)</i> | 88 | |
| Φωτόλυση στο νερό¹ | — | | |
| Υδατική υδρόλυση¹ | 84 | | |
| Μεταβολίτες | Desethyl-terbuthylazine, Hydroxy-terbuthylazine | | |
| GUS index | 2,74 | | |
| K_{oc} (mL·g⁻¹) | 220 | | |
| WHO/EPA ταξινόμηση | U | | |
| Οικοτοξικολογικά δεδομένα | BCF:34 | Πτηνά LD ₅₀ ² : >1236 | Ψάρια LC ₅₀ ³ :2,2 Μέλισσες LD ₅₀ ⁴ : >22,6 |
| Τοξικότητα στον άνθρωπο | Στόματος LD ₅₀ ² :>1000 Δέρματος LD ₅₀ ² : >2000 ADI ⁵ :0,004 ARfD ⁵ :0,008 AOEL ⁵ :0,004 | | |
| Καλλιέργειες | Αραβόσιτος | | |
| Τυποποίηση | SC, WG | | |
| Δόση εφαρμογής | | | |



¹ ημέρες

² mg·kg⁻¹

³ mg·L⁻¹

⁴ g ανά μέλισσα

⁵ mg·kg⁻¹·day⁻¹

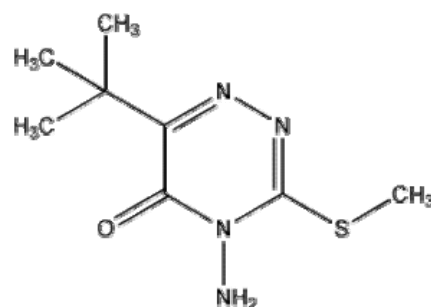
Αποδόμηση στο έδαφος Το terbuthylazine εμφανίζει μέτριο έως σημαντικό χρόνο ημιζωής τόσο σε μετρήσεις στον αγρό όσο και σε εργαστηριακά πειράματα. Ο χρόνος ημιζωής της μητρικής ουσίας ποικίλει μεταξύ 30 και 180 ημέρες σε διάφορες εργασίες (Dousset et al., 1997). Οι κυριότεροι μηχανισμοί αποδόμησης του αρχικού μορίου είναι η βιοτική οξειδωτική N- απαλκυλίωση με σχηματισμό desethyl- terbuthylazine καθώς και η βιοτική ή αβιοτική αποχλωρίωση του αρχικού μορίου ή του απαλκυλιωμένου παραγώγου προς το σχηματισμό 2-hydroxy terbuthylazine και 2-hydroxydesethyl terbuthylazine αντίστοιχα (Caracciolo, 2005). Το μόριο του terbuthylazine είναι σταθερό σε υδρολυτικές και φωτολυτικές διεργασίες διάσπασης, ενώ ο χρόνος ημιζωής στο υπέδαφος εμφανίζεται μεγαλύτερος σε σχέση με το επιφανειακό εδαφικό στρώμα⁴ Τα απαλκυλιωμένα παράγωγα εμφανίζουν μεγαλύτερη υδατοδιαλυτότητα και χημική σταθερότητα από τη μητρική ουσία (Guzzella et al., 2003)

Συμπεριφορά στο έδαφος Το terbuthylazine προσροφάται σχετικά ισχυρά στο έδαφος με τυπικές τιμές K_{oc} 162-278 και K_d 2,2-25 για ελαφρά-μεσαία εδάφη. Η ικανότητα προσρόφησης του terbuthylazine στο έδαφος αυξάνεται με αύξηση της περιεκτικότητας σε οργανική ουσία. Όμως παρά τη σχετικά μεγάλο συντελεστή προσρόφησης του στο έδαφος το terbuthylazine και ο κύριος

μεταβολίτης του desethyl-terbutylazine εμφανίζονται συχνά σε υπόγεια ύδατα σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Metribuzin

| | | | |
|---|--|---|---|
| Όνομα (IUPAC) | 4-amino-6-tert-butyl-4,5-dihydro-3-methylthio-1,2,4-triazin-5-one | | |
| Περιγραφή | Ζιζανιοκτόνο, τριαζίνη | | |
| Μοριακό βάρος | 214,28 | | |
| Μορφή | Λευκή, κρυσταλλική ουσία | | |
| Πίεση ατμών (mPa @ 25 °C) | 0.121 | | |
| K_{ow} logP | 1.6021 | | |
| Ειδικό βάρος (g·mL⁻¹) | 1,26 | | |
| Υδατοδιαλυτότητα (mg·L⁻¹) | 1165 | | |
| pKa | 13 | | |
| Αποδόμηση στο έδαφος¹ | Αγρό | 19 | |
| Φωτόλυση στο νερό¹ | Εργαστήριο (20°C) | 11,5 (5,3-17) | |
| Υδατική υδρόλυση¹ | Σταθερό | | |
| Μεταβολίτες | Diketo(DK), Desamino(DA), Desaminodiketo (DADK) | | |
| GUS index | 2,57 | | |
| K_d | 0,959 (0,018-1,9) | | |
| K_{oc} (mL·g⁻¹) | 38 (3,14-81,5) | | |
| WHO/EPA ταξινόμηση | II / III | | |
| Οικοτοξικολογικά δεδομένα | BCF¹:10 | Πτηνά LD₅₀²: 164 | Ψάρια LC₅₀³:74,6 Μέλισσες LD₅₀⁴: 53 |
| Τοξικότητα στον άνθρωπο | Στόματος LD₅₀²:32 Δέρματος LD₅₀²: >5000 ADI⁵:0,013 ARfD⁵:0,02 AOEL⁵:0,02 | | |
| Καλλιέργειες | Καρτότο, υπαίθρια τομάτα, πατάτα, σόγια, μηδική, κριθάρι, σπαράγγι | | |
| Τυποποίηση | 48 SC, 70 WP, 70 WG | | |
| Δόση εφαρμογής | Ψεκασμός εδάφους επιφανειακά ή ψεκασμός φυλλώματος (μεταφυτρωτικά) σε δόση 40-100 g ανά στρέμμα | | |



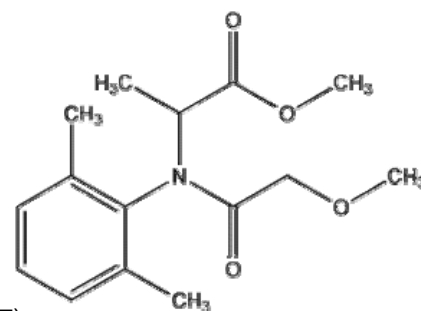
Αποδόμηση στο έδαφος Οι μέσες τιμές χρόνου ημιζωής του metribuzin σε συνθήκες αγρού είναι 19 ημέρες. Οι κύριοι οδοί μεταβολισμού του metribuzin και των κύριων μεταβολιτών του στο έδαφος diketo metribuzin (DK) και deaminated diketo metribuzin (DADK) είναι η μικροβιακή αποδόμηση και η φωτολυτική αποδόμηση. Σε ορισμένες περιπτώσεις ευνοείται η απαμίνωση του αρχικού μορίου και ο σχηματισμός του μεταβολίτη deaminated metribuzin (DA). Επίσης οι ρυθμοί φωτοδιάσπασης είναι πολύ υψηλοί με αναμενόμενο χρόνο ημιζωής τις 2,5 ημέρες σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 31°C. Επειδή όμως μόνο τα πρώτα 1mm του επιφανειακού εδάφους εκτίθεται στην άμεση ηλιακή ακτινοβολία, η μεταβολική αυτή οδός ίσως δεν έχει ιδιαίτερη σημασία στην απομάκρυνση του μορίου στο έδαφος. Επίσης το μόριο χαρακτηρίζεται από σταθερότητα στην αβιοτική υδρόλυση σε όξινες, ουδέτερες και αλκαλικές τιμές του pH. Απώλειες λόγω πτητικοποίησης δεν αναμένεται να είναι σημαντικές. Ο ρυθμός μικροβιακής αποδόμησης αυξάνεται με αύξηση της τιμής του pH

Συμπεριφορά στο έδαφος Το metribuzin έχει μικρή έως μέτρια σταθερότητα στο εδαφικό περιβάλλον. Στα περισσότερα εδάφη προσκολλάται ασθενώς στα συστατικά του εδάφους που σε συνδυασμό με την υψηλή διαλυτότητα του στο νερό καθιστούν την ουσία αυτή στις πιθανές για έκπλυση σε μεγάλο εύρος εδαφών (EPA, 1998b). Η κινητικότητα του μορίου στο έδαφος επηρεάζεται από την ποσότητα της οργανικής ουσίας, την κατανομή του μεγέθους των συστατικών του εδάφους, το πορώδες, τη δόση εφαρμογής και το ύψος των βροχοπτώσεων. Υψηλή κινητικότητα στο έδαφος παρατηρείται εκτός από τη μητρική ουσία και στους δύο κύριους μεταβολίτες DK και DADK. Επομένως το metribuzin αναμένεται να εκπλύνεται εύκολα σε ελαφρά αμμώδη εδάφη με μικρή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία. Άλλα εδαφικά χαρακτηριστικά όπως χαμηλή εδαφική υγρασία, χαμηλή θερμοκρασία και όξινες συνθήκες μπορούν να αυξήσουν την προσρόφηση και εμμόνη των τριαζινών. Η αύξηση στην ικανότητα προσρόφησης με μείωση της τιμής του pH οφείλεται σε πρωτονίωση της αμινομάδας του μορίου του και σε συνακόλουθη αύξηση της προσρόφησης του στην οργανική ουσία με τη μορφή αυτή (Landgraf, 1997)

Τοξικότητα Μελέτες οξείας τοξικότητας έδειξαν χαμηλή τοξικότητα του metribuzin. Είναι ελαφρώς τοξικό σε πρόσληψη δια του στόματος και δεν έχει καρκινογενετική, τερατογενετική και μεταλαξιογόνο δράση. Επίσης είναι ελάχιστα έως μέτρια τοξικό σε πουλιά και ελάχιστα τοξικό σε ψάρια. Επίσης δεν εμφανίζεται τοξικό στις μέλισσες

Metalaxyl-M

| | | | |
|---|--|--|--|
| Όνομα (IUPAC) | methyl <i>N</i> -(methoxyacetyl)- <i>N</i> -(2,6-xylyl)- <i>D</i> -alaninate | | |
| Περιγραφή | Μυκητοκτόνο, ακυλαλανίνη | | |
| Μοριακό βάρος | 279.33 | | |
| Μορφή | Άχρωμη, κρυσταλλική μορφή | | |
| Πίεση ατμών (mPa @25°C) | 3,3 | | |
| K_{ow} logP | 1,71 | | |
| Ειδικό βάρος (g·mL⁻¹) | 1,13 | | |
| Υδατοδιαλυτότητα (mg·L⁻¹) | 26000 | | |
| Αποδόμηση στο έδαφος¹ | <i>Αγρό</i> | 39 (20-87) | |
| | <i>Εργαστήριο (20°C)</i> | 33 (7-58) | |
| Φωτόλυση στο νερό¹ | Σταθερό | | |
| Υδατική υδρόλυση¹ | Σταθερό | | |
| pKa | — | | |
| Μεταβολίτες | <i>N</i> -(2,6-dimethylphenyl)- <i>N</i> -(methoxyacetyl)alanine | | |
| GUS index | 1,88 | | |
| K_{oc} (mL·g⁻¹) | 660 (20-1299) | | |
| WHO/EPA ταξινόμηση | II / III | | |
| Οικοτοξικολογικά δεδομένα | BCF:15 | Πτηνά LD ₅₀ ² : 981 | Ψάρια LC ₅₀ ³ : >100 |
| | Μέλισσες LD ₅₀ ⁴ : >127 | Στόματος LD ₅₀ ² : 375 | Δέρματος LD ₅₀ ² : >2000 |
| Τοξικότητα στον άνθρωπο | ADI ⁵ : 0,08 | | |
| | ARfD ⁵ : 0,5 | | |
| Καλλιέργειες | Αραβόσιτος, βαμβάκι, ζαχαρότευτλα | | |
| Ευρωπαϊκά MRLs (μg·kg⁻¹) | 0,02-2 | | |
| Τυποποίηση | 35 WS, 350 ES, 48 EC, 48 SL | | |
| Δόση εφαρμογής | εφαρμογή στο έδαφος 100-120 mL ανά στρέμμα | | |



¹ ημέρες ² mg·kg⁻¹ ³ mg·L⁻¹ ⁴ g ανά μέλισσα ⁵ mg·kg⁻¹·day⁻¹

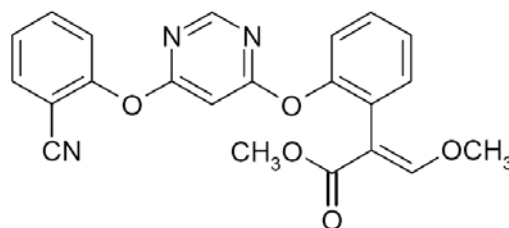
Αποδόμηση στο έδαφος Σε συνθήκες αγρού το metalaxyl-M έχει ημιζωή 7-170 ημέρες στο έδαφος, με αντιπροσωπευτική τιμή σε υγρά εδάφη περίπου 70 ημέρες. Ο κύριος μεταβολίτης του προκύπτει από τη υδρόλυση του μεθυλεστέρα του μορίου του. Αυξημένη ηλιοφάνεια μπορεί να αυξήσει το ρυθμό αποδόμησης στο έδαφος

Συμπεριφορά στο έδαφος Το metalaxyl-M προσροφάται ελαφρώς στα συστατικά του εδάφους και εμφανίζει μεγάλη υδατοδιαλυτότητα. Τα χαρακτηριστικά αυτά σε συνδυασμό με τη μακρά παραμονή του μορίου στο έδαφος δείχνουν μεγάλο δυνητικό κίνδυνο μόλυνσης των υπόγειων υδάτων. Εκπλύνεται εύκολα σε αμμώδη εδάφη ενώ αυξημένη περιεκτικότητα σε οργανική ουσία μειώνει την πιθανότητα έκπλυσης

Τοξικότητα Δεν είναι τοξικό στα πουλιά, στις μέλισσες και στα κυριότερα είδη ωφέλιμων εντόμων. Είναι όμως πολύ τοξικό για τα ψάρια και τους υδρόβιους οργανισμούς. Υπάρχει ελαφρά τάση για βιοσυσσώρευση στο εδώδιμο τμήμα των ψαριών. Είναι πρακτικά μη τοξικό σε ψάρια και μέλισσες και ελαφρώς τοξικό σε ασπώνδυλα

Azoxystrobin

| | | | |
|---|--|---|--|
| Όνομα (IUPAC) | methyl (<i>E</i>)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yloxy]phenyl}-3-methoxyacrylate | | |
| Περιγραφή | Μυκητοκτόνο, Στρομπιλουρία | | |
| Μοριακό βάρος | 403,4 | | |
| Μορφή | Στερεή κρυσταλλική σκόνη χωρίς χαρακτηριστική οσμή | | |
| Πίεση ατμών (mPa @25°C) | 1,1 x 10 ⁻⁰⁷ | | |
| K_{ow} logP | 2,5 | | |
| Ειδικό βάρος (g·mL⁻¹) | 1,34 | | |
| Υδατοδιαλυτότητα (mg·L⁻¹) | 6,7 | | |
| pKa | — | | |
| Αποδόμηση στο έδαφος¹ | Αγρό | 21 (3-39) | |
| | Εργαστήριο (20°C) | 279 | |
| Φωτόλυση στο νερό¹ | 11 | | |
| Υδατική υδρόλυση¹ | Σταθερό | | |
| Μεταβολίτες | N-(2,6-dimethylphenyl)-N-(methoxyacetyl)alanine | | |
| GUS index | 2,53 | | |
| K_f | 13,8 | | |
| K_{oc} (mL·g⁻¹) | 423 | | |
| WHO/EPA ταξινόμηση | | | |
| Οικοτοξικολογικά δεδομένα | BCF: - | Πτηνά LD₅₀²: >2000 | Ψάρια LC₅₀³: >0,47 Μέλισσες LD₅₀⁴: >25 |
| Τοξικότητα στον άνθρωπο | Στόματος LD₅₀²: >5000 Δέρματος LD₅₀²: >2000 ADI⁵: 0,2 ARfD⁵: - AOEL⁵: 0,2 | | |
| Καλλιέργειες | | | |
| Τυποποίηση | | | |
| Δόση εφαρμογής | | | |



¹ ημέρες

² mg·kg⁻¹

³ mg·L⁻¹

⁴ g ανά μέλισσα

⁵ mg·kg⁻¹·day⁻¹

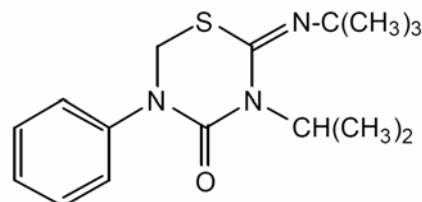
Αποδόμηση στο έδαφος Η απομάκρυνση του μορίου σε πραγματικές συνθήκες φαίνεται να οφείλεται ταυτόχρονα σε φωτοδιάσπαση και μικροβιακή αποδόμηση. Είναι μόριο μετρίως έμμοно στο έδαφος με παρατηρούμενες μέσες τιμές ημιζωής μεταξύ 54 και 135 ημερών κάτω από αερόβιες συνθήκες ενώ σε αναερόβια περιβάλλοντα εμφανίζει μικρότερες τιμές ημιζωής (χρόνος ημιζωής 36-45 ημέρες). Η αποδόμηση του μορίου σχετίζεται σημαντικά με την τιμή του εδαφικού pH. Το azoxystrobin είναι σταθερό σε υδρόλυση (χρόνος ημιζωής 267 ημέρες σε pH 9) ενώ φωτοδιασπάται με αναμενόμενο χρόνο ημιζωής 11 ημέρες σε εδαφικά περιβάλλοντα. Οι κυριότεροι μεταβολίτες του είναι ο N-(3,5-dichlorophenyl)3-isopropyl-2,4-dioxoimidazoline-1-carboxamide (RP-30228) και ο 1-(3,5-dichlorophenyl)-5-isopropyl biuret (RP-36221). Όλοι οι παραγόμενοι μεταβολίτες εμφανίζονται πολύ μικρότερη τοξικότητα σε σχέση με το μητρικό μόριο.

Προσρόφηση και συμπεριφορά στο έδαφος Το azoxystrobin εμφανίζει μικρή έως μέτρια κινητικότητα στο έδαφος με παρατηρούμενες τιμές K_{oc} μεταξύ 300 και 1690. Επίσης οι μεταβολίτες του azoxystrobin εμφανίζουν μικρή συνάφεια με τα εδαφικά κολλοειδή (τιμές K_d μικρότερες από 5 mL·g⁻¹) και επομένως υπάρχει πιθανότητα έκλυσης τους

Τοξικότητα Γενικά μελέτες οξείας τοξικότητας του μορίου έδειξαν ότι είναι πρακτικά μη-τοξικό σε πουλιά, θηλαστικά και μέλισσες και πολύ έως πάρα πολύ τοξικό σε ψάρια και ορισμένα ασπόνδυλα

Βυπροφεζίν

| | | | |
|---|---|--|---|
| Όνομα (IUPAC) | 2-tert-butylimino-3-isopropyl-5-phenylperhydro-1,3,5-thiadiazin-4-one | | |
| Περιγραφή | Εντομοκτόνο, παράγωγο της θειαδιαζίνης | | |
| Μοριακό βάρος | 305,44 | | |
| Μορφή | Στερεή, κρυσταλλική και λευκή ουσία | | |
| Πίεση ατμών (mPa @ 25°C) | 0,042 | | |
| K_{ow} logP | 4,93 | | |
| Ειδικό βάρος (g·mL⁻¹) | 1,185 g/mL | | |
| Υδατοδιαλυτότητα (mg·L⁻¹) | 0,46 | | |
| pKa | — | | |
| Αποδόμηση στο έδαφος¹ | Αγρό | 45,6 (37,5-63) | |
| | Εργαστήριο (20°C) | 135,4 (32-322) | |
| Φωτόλυση στο νερό¹ | 33 | | |
| Υδατική υδρόλυση¹ | Σταθερό | | |
| Μεταβολίτες | buprofezin sulphoxide | | |
| GUS index | 0,96 | | |
| K_f | 98,35 (10,52-276,82) | | |
| K_{oc} (mL·g⁻¹) | 2722 (854-21208) | | |
| WHO/EPA ταξινόμηση | U / III | | |
| Οικοτοξικολογικά δεδομένα | BCF: 509 | Πτηνά LD₅₀²: >2000 | Ψάρια LC₅₀³: >0,33 |
| | >163,5 | | Μέλισσες LD₅₀⁴: |
| Τοξικότητα στον άνθρωπο | Στόματος LD₅₀²: >2198 | Δέρματος LD₅₀²: >2000 | ADI⁵: 0,01 |
| | AOEL⁵: 0,04 | | ARfD⁵: 0,5 |
| Καλλιέργειες | | | |
| Τυποποίηση | | | |
| Δόση εφαρμογής | | | |



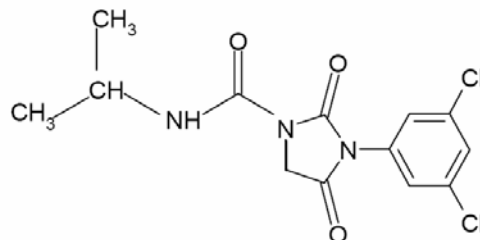
¹ ημέρες ² mg·kg⁻¹ ³ mg·L⁻¹ ⁴ g ανά μέλισσα ⁵ mg·kg⁻¹·day⁻¹

Αποδόμηση στο έδαφος Το buprofezin εμφανίζει μέτρια τάση για πτητικοποίηση και η υδατοδιαλυτότητα του είναι περιορισμένη. Εμφανίζεται σταθερό σε τιμές pH 7-9 ενώ υδρολύεται σε όξινες τιμές pH με αναμενόμενο χρόνο ημιζωής 57,6 ημέρες. Το κυριότερο προϊόν αποδόμησης της ουσίας είναι η 1-isopropyl-3-phenyl urea. Η φωτοαποδόμηση του μορίου σε υδάτινα περιβάλλοντα είναι επίσης περιορισμένη. Η αερόβια αποδόμηση είναι ο σημαντικότερη πορεία απομάκρυνσης της ουσίας στο περιβάλλον. Οι εκτιμώμενοι χρόνοι ημιζωής σε αερόβια εδάφη βρίσκεται μεταξύ 50-70 ημερών ενώ σε αναερόβιες συνθήκες ήταν 36-104 ημέρες.

Προσρόφηση και συμπεριφορά στο έδαφος Το buprofezin εμφανίζει μικρή κινητικότητα στο έδαφος ενώ δεν εμφάνισε σημαντική τάση έκπλυσης ακόμη και σε εδάφη με μικρή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία. Επίσης κανένα από τα προϊόντα αποδόμησης του μητρικού μορίου δεν εκπλύνεται

Iprodione

| | | | | |
|---|--|---|--|--|
| Όνομα (IUPAC) | 3-(3,5-dichlorophenyl)-N-isopropyl-2,4-dioxoimidazolidine-1-carboxamide | | | |
| Περιγραφή | Μυκητοκτόνο δικαρβοξιμιδικό | | | |
| Μοριακό βάρος | 330.17 | | | |
| Μορφή | Άχρωμοι κρύσταλλοι | | | |
| Πίεση ατμών (mPa @25°C) | 0,0005 | | | |
| K_{ow} logP | 3,1 | | | |
| Ειδικό βάρος (g·mL⁻¹) | 1 | | | |
| Υδατοδιαλυτότητα (mg·L⁻¹) | 12.2 | | | |
| pKa | — | | | |
| Αποδόμηση στο έδαφος¹ | Αγρό | 84 (42-126) | | |
| | Εργαστήριο (20°C) | 26 | | |
| Φωτόλυση στο νερό¹ | 67 | | | |
| Υδατική υδρόλυση¹ | 3 | | | |
| Μεταβολίτες | N-(3,5-dichlorophenyl)3-isopropyl-2,4-dioxoimidazoline-1-carboxamide 1-(3,5-dichlorophenyl)-5-isopropyl biuret | | | |
| GUS index | 2,75 | | | |
| K_f | 3,37 (0,2-6,52) | | | |
| K_{oc} (mL·g⁻¹) | 373 | | | |
| WHO/ΕΡΑ ταξινόμηση | U / III | | | |
| Οικοτοξικολογικά δεδομένα | BCF: 70 | Πτηνά LD₅₀²: >2000 | Ψάρια LC₅₀³: >3,7 | Μέλισσες LD₅₀⁴: >25 |
| Τοξικότητα στον άνθρωπο | Στόματος LD₅₀²: >2000 Δέρματος LD₅₀²: >2500 ADI⁵: 0,06 ARfD⁵: - AOEL⁵: 0,3 | | | |
| Καλλιέργειες | | | | |
| Τυποποίηση | | | | |
| Δόση εφαρμογής | | | | |

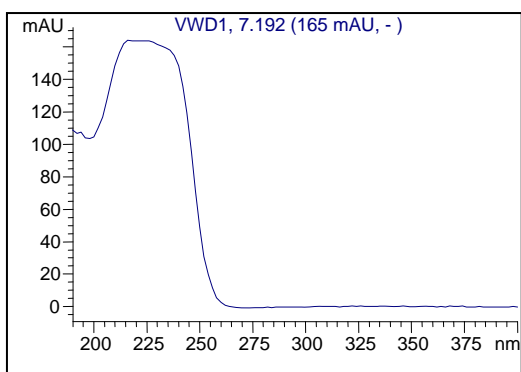
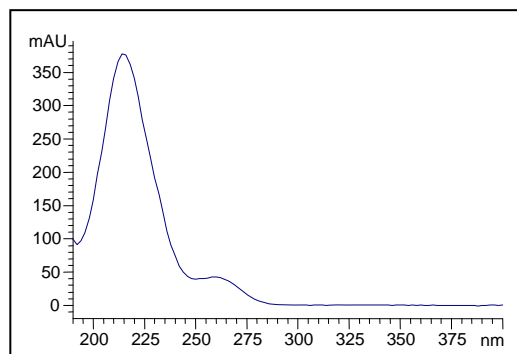
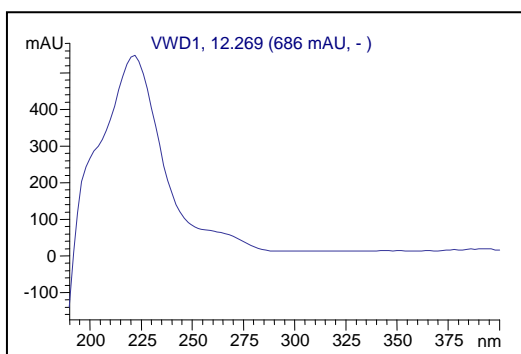


¹ ημέρες ² mg·kg⁻¹ ³ mg·L⁻¹ ⁴ g ανά μέλισσα ⁵ mg·kg⁻¹·day⁻¹

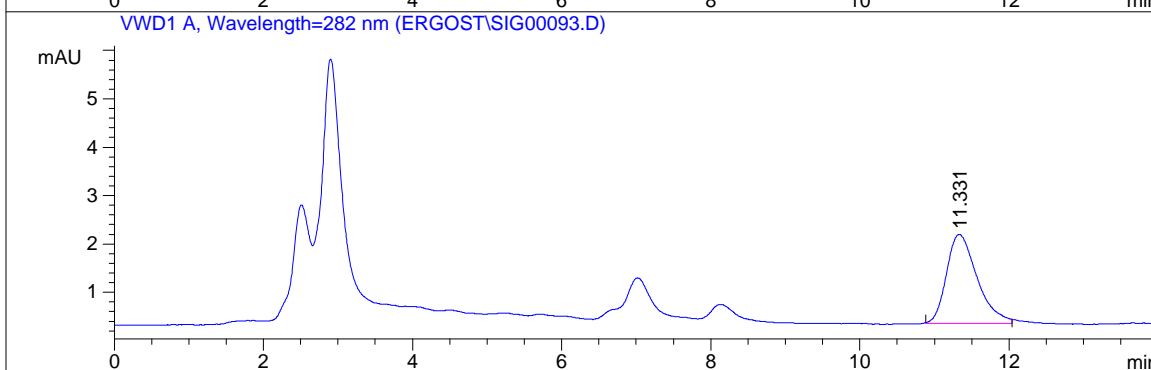
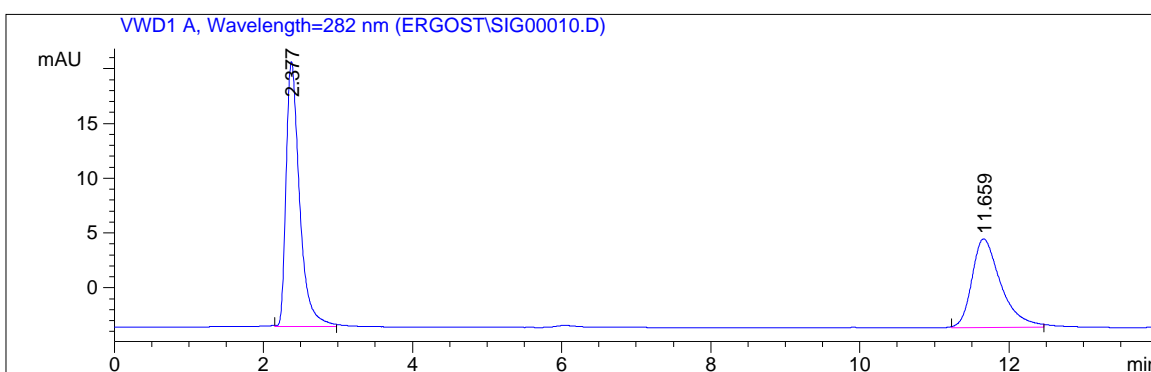
Αποδόμηση στο έδαφος Ο χρόνος ημιζωής του iprodione στο έδαφος βρίσκεται μεταξύ 20 και 160 ημερών (Hartley and Kidd, 1983). Οι ρυθμοί αποδόμησης ποικίλουν με το έδαφος, την οξύτητα, την περιεκτικότητα σε άργιλο και από το ιστορικό εφαρμογής της ουσίας. Επίσης διασπάται έντονα στο νερό κάτω από αερόβιες συνθήκες και σε μικρότερους ρυθμούς κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Επίσης η ουσία αποδομείται εύκολα στην υπεριώδη ακτινοβολία

Προσρόφηση και συμπεριφορά στο έδαφος Το iprodione εμφανίζει ελαφρά υδατοδιαλυτότητα και μέτρια έως ισχυρή προσρόφηση στα περισσότερα εδάφη. Οι ιδιότητες αυτές συνδυασμένες με τη μικρό χρόνο ημιζωής σημαίνουν μικρή πιθανότητα έκπλυσης και ανίχνευσης σε υδάτινους αποδέκτες

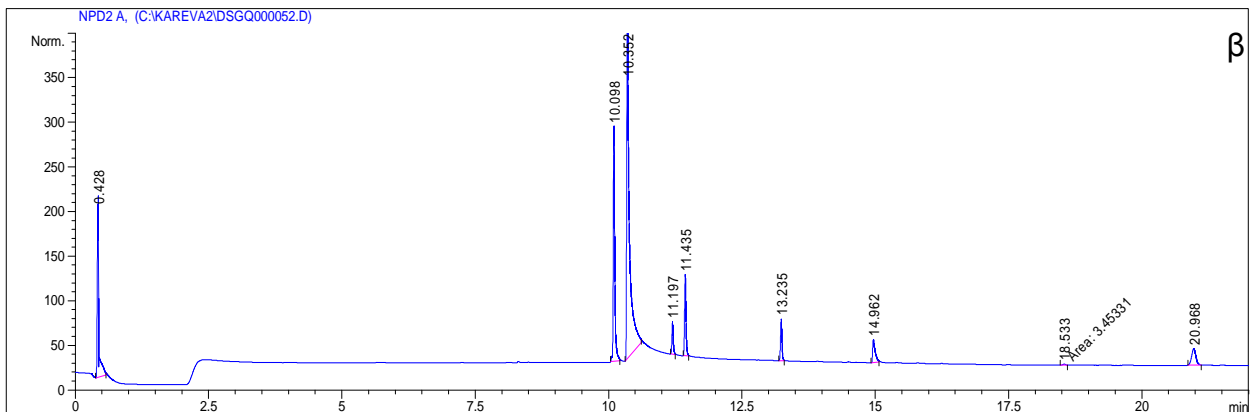
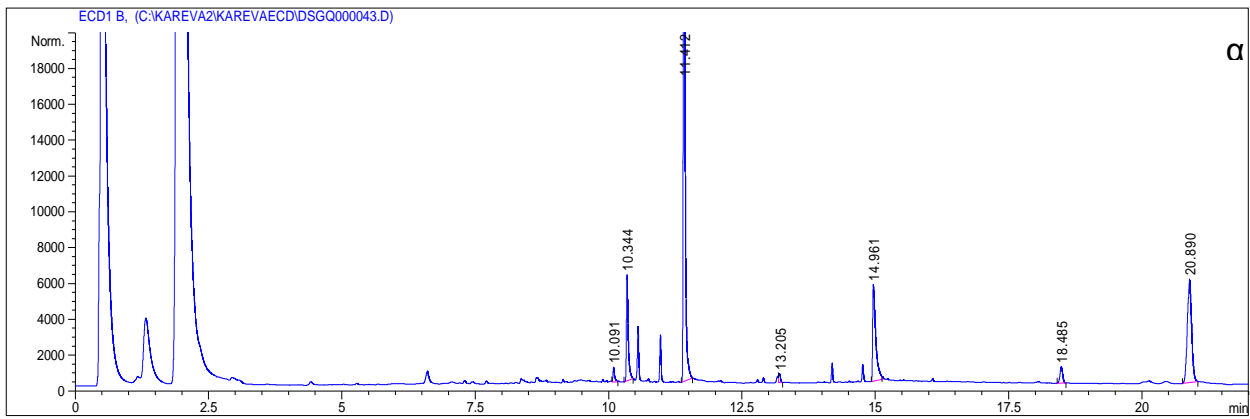
Τοξικότητα Το iprodione είναι ελαφρώς τοξικό στον άνθρωπο μετά από κατάποση ενώ και η τοξικότητα μέσω εισπνοής και δια του δέρματος εισόδου είναι χαμηλή. Δεν εμφανίζει προβλήματα στην αναπαραγωγή ενώ τα μέχρι στιγμής ευρήματα είναι πιθανό καρκινογόνο και πιθανός ενδοκρινικός διαταράκτης. Είναι ελαφρώς τοξικό σε πτηνά και μετρίως τοξικό σε ψάρια, με χαμηλό δείκτη βιοσυσσώρευσης. Επίσης πρακτικά δεν εμφανίζει τοξικότητα στις μέλισσες



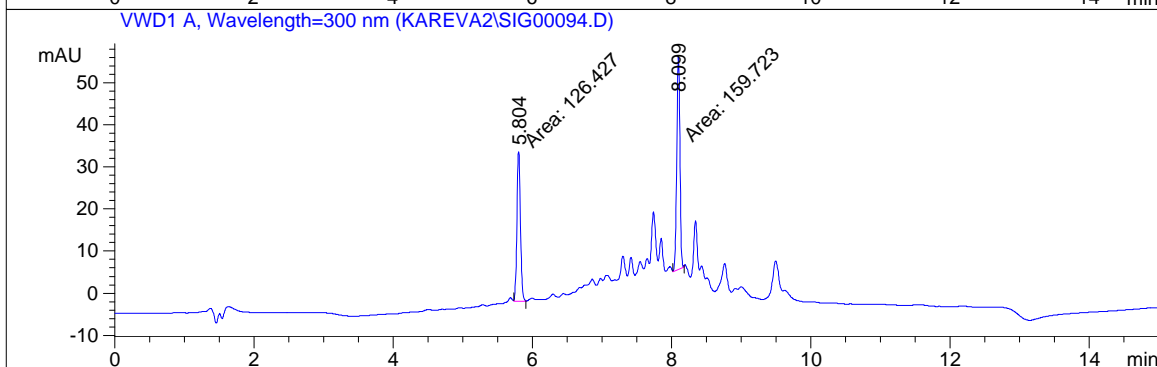
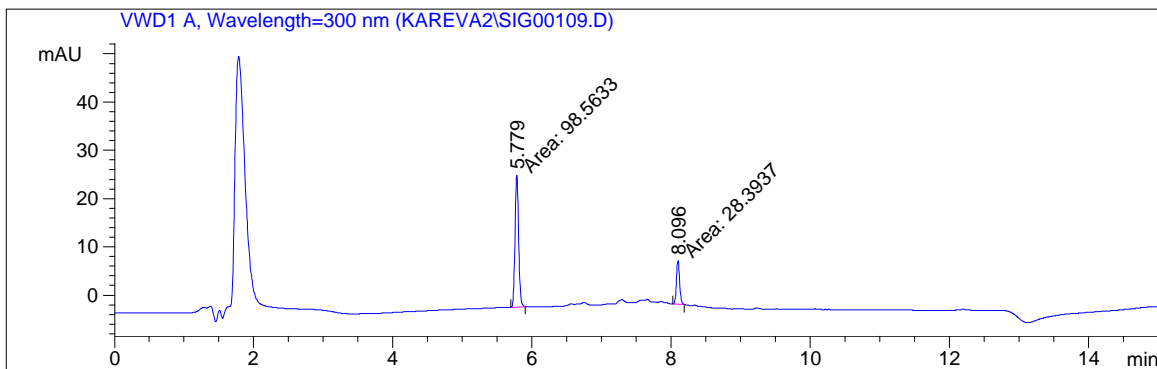
Διάγραμμα Α. Η απορρόφηση του terbutylazine (β) και των μεταβολιτών του desethyl (γ) και hydroxy (α) σε διάφορα μήκη κύματος



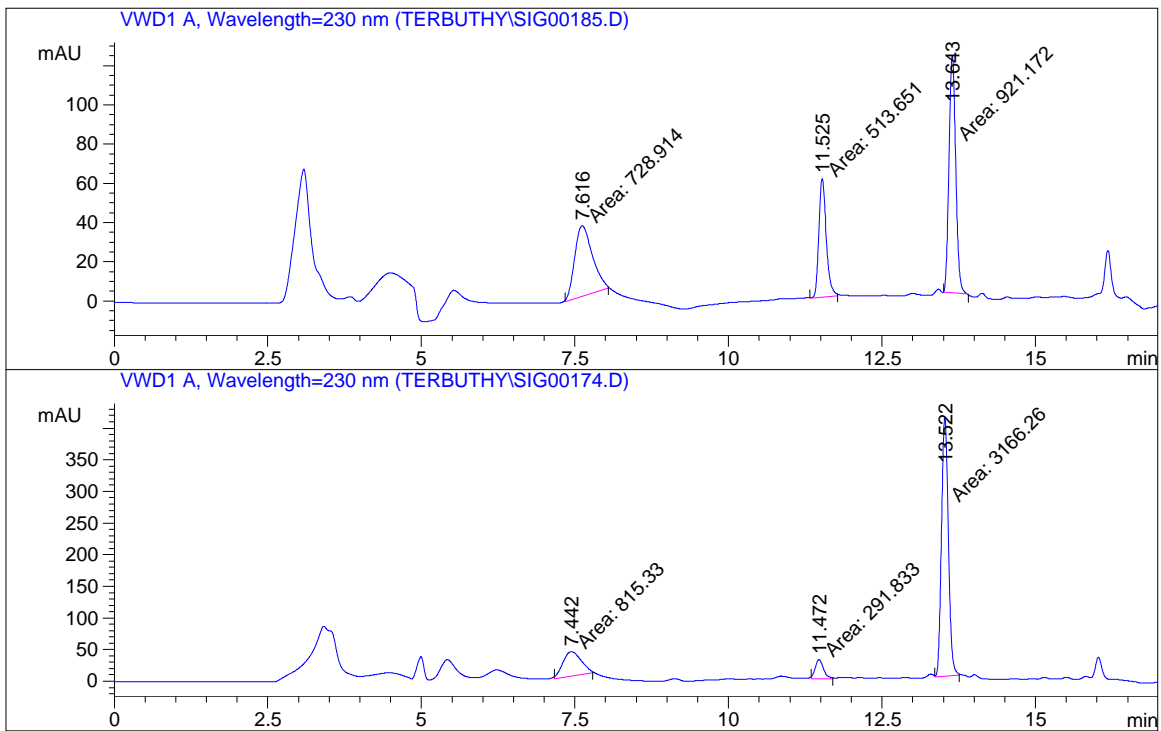
Διάγραμμα Β. Χρωματογραφική ανάλυση πρότυπου διαλύματος της ουσίας ergosterol $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ σε καθαρό διαλύτη (α) και ενός τυπικού δείγματος ελέγχου (υποστρώματα ΒΧ4) (β)



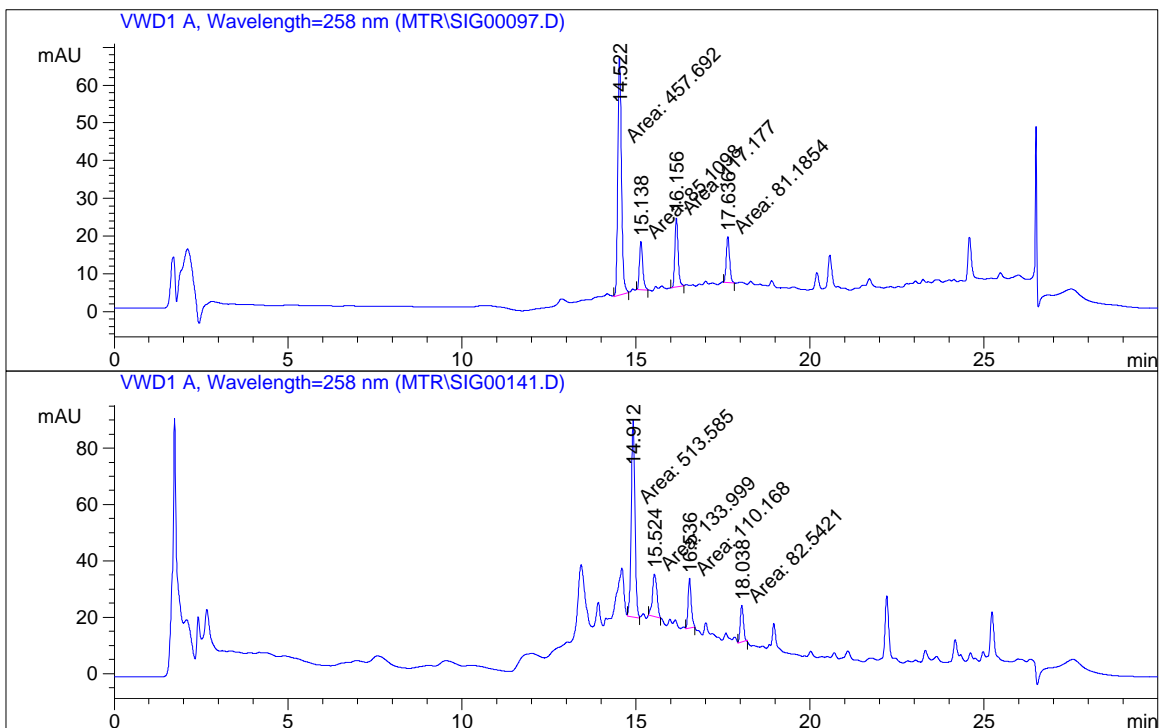
Διάγραμμα Γ. Χρωματογραφική απεικόνιση 8 ουσιών σε συγκέντρωση STD:5, σε εκχύλιση του βιομίγματος ΒΧ2 μετά από ανίχνευση με αέρια χρωματογραφία και τη χρήση ανιχνευτή συλλήψεως ηλεκτρονίων μECD (α) ή εκλεκτικού ανιχνευτή αζώτου-φωσφόρου NPD (β)

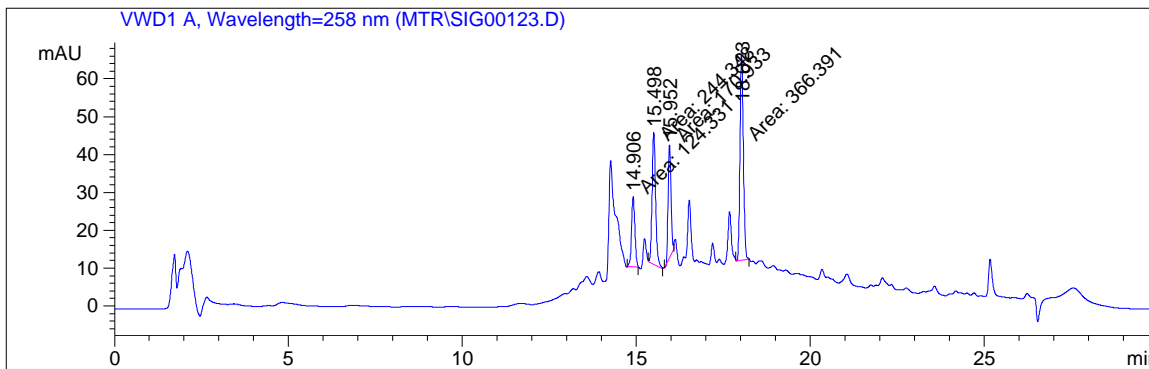


Διάγραμμα Δ. Χρωματογραφική ανάλυση ενός πρότυπου διαλύματος των ουσιών TCP και chlorpyrifos συγκέντρωσης $2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ σε μεθανόλη (α). Επίσης παρουσιάζεται και ένα χαρακτηριστικό χρωματογράφημα από τα δείγματα ελέγχου (βιομίγμα OBX) (β)

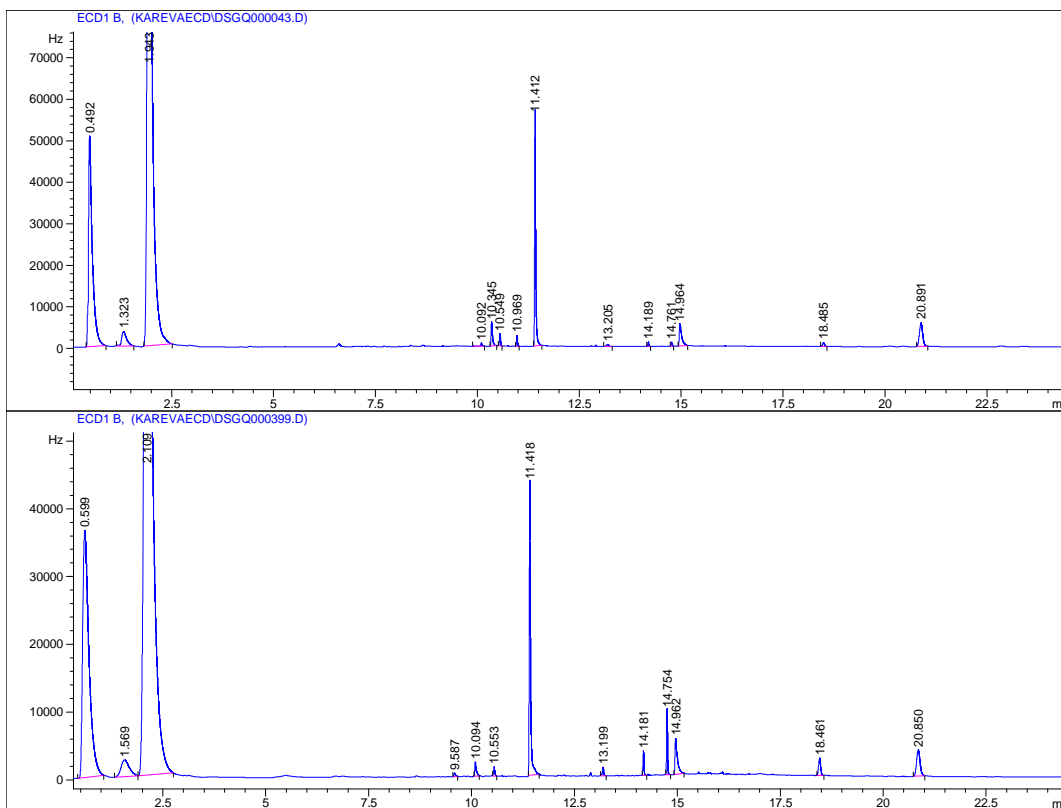


Διάγραμμα Ε. Χρωματογραφική ανάλυση ενός πρότυπου διαλύματος των ουσιών hydroxy-terbutylazine, desethyl terbutylazine και terbutylazine συγκέντρωσης $2,5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ σε καθαρό διαλύτη (α). Επίσης παρουσιάζεται και ένα χαρακτηριστικό χρωματογράφημα από τα δείγματα ελέγχου (βιομίγμα OBX) (β)

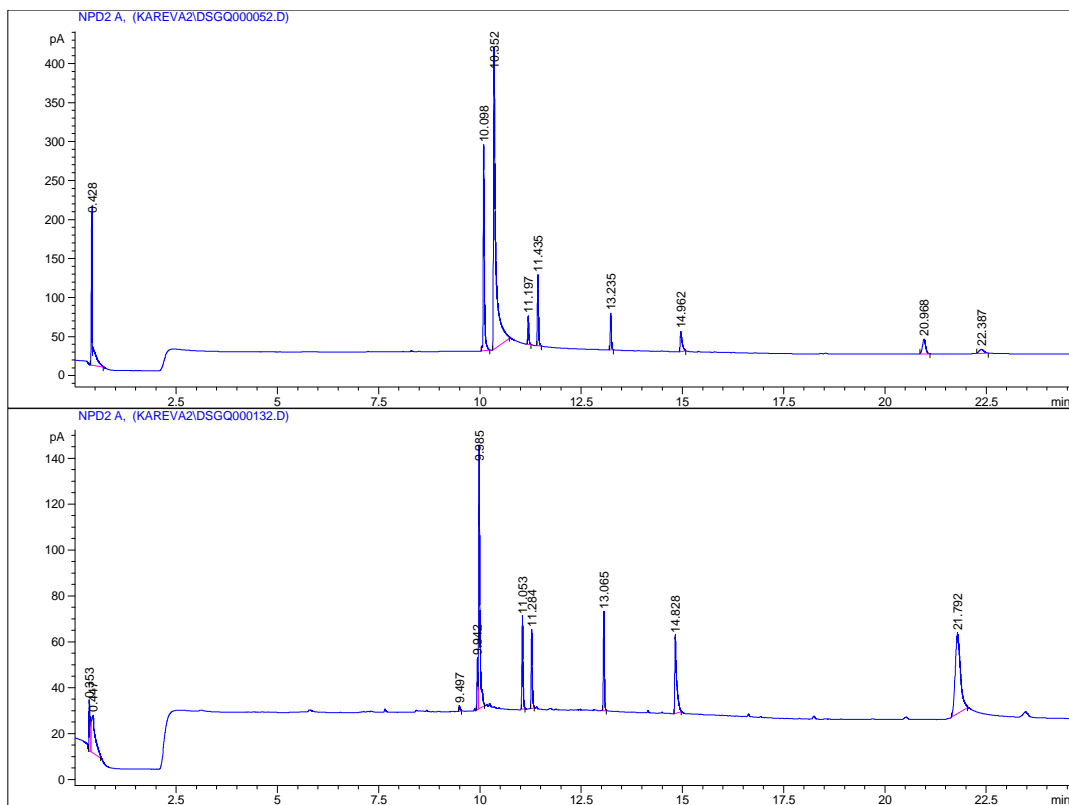




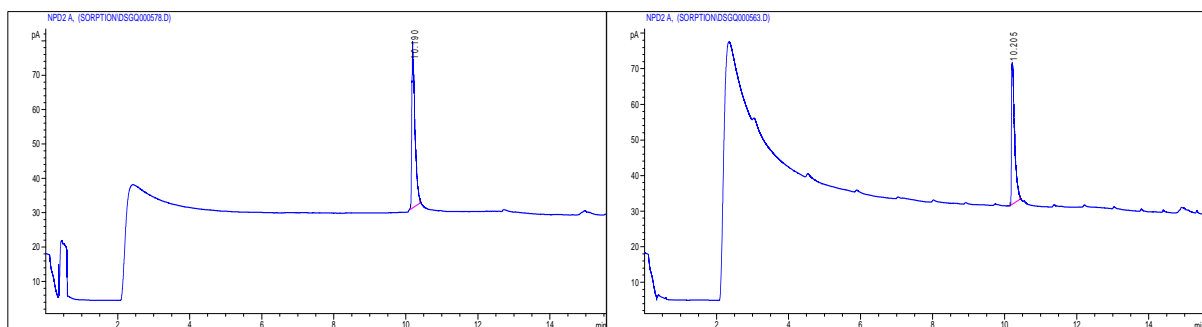
Διάγραμμα ΣΤ. Χρωματογραφική απεικόνιση των ουσιών diketo metribuzin, desaminodiketo metribuzin, desamino-metribuzin και metribuzin συγκέντρωσης $2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, σε καθαρό διαλύτη (α) και σε εκχύλισμα του υποστρώματος OBX (β). Επίσης παρουσιάζεται και ένα χαρακτηριστικό χρωματογράφημα από τα δείγματα ελέγχου (υποστρώμα OBX) (γ)



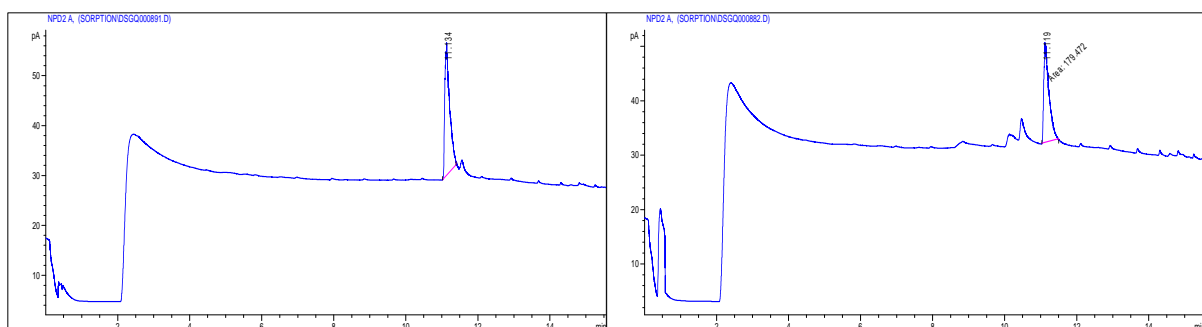
Διάγραμμα Ζ. Χρωματογραφική ανάλυση πρότυπου διαλύματος των ουσιών terbutylazine, dimethoate, metribuzin, buprofezin, iprodione, indoxacarb και azoxystrobin (STD:2) σε εκχύλισμα του υποστρώματος BX1 (α) και ενός τυπικού δείγματος ελέγχου (υποστρώματα BX1- T21) (β)



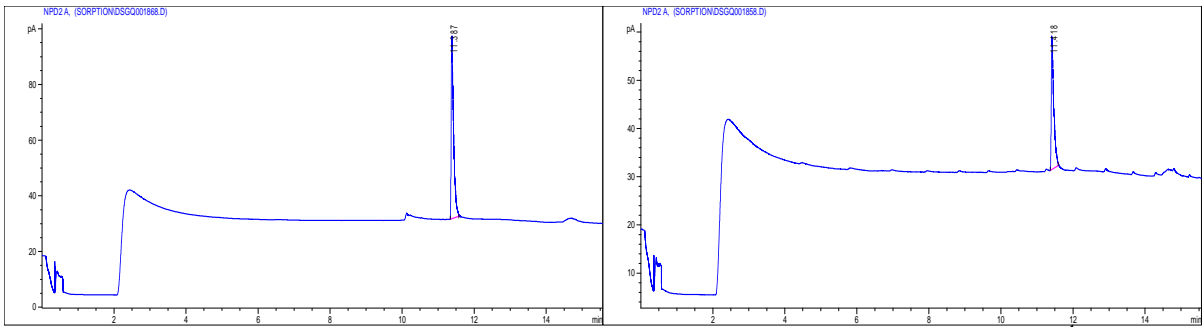
Διάγραμμα Η. Χρωματογραφική ανάλυση πρότυπου διαλύματος των ουσιών terbutylazine, dimethoate, metribuzin, metalaxyl-M, buprofezin, iprodione, imidacarb και azoxystrobin (STD:5) σε εκχύλισμα του υποστρώματος OBX1 (α) και ενός τυπικού δείγματος ελέγχου (υποστρώματα OBX1- T42) (β)



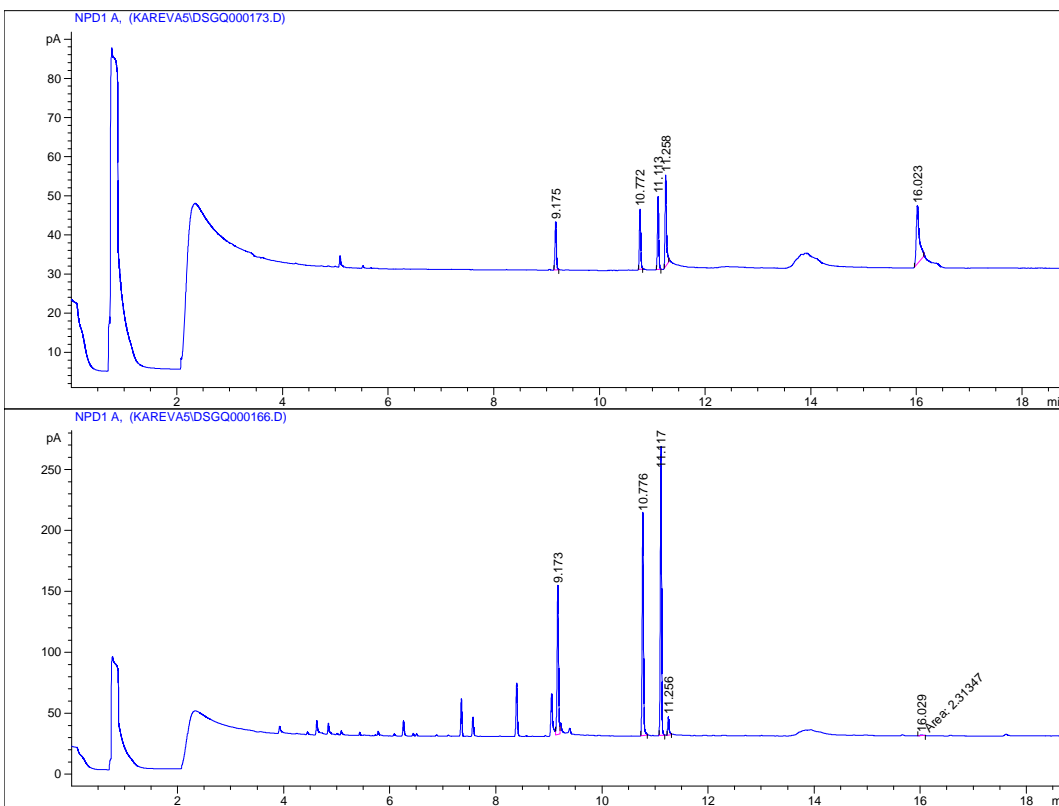
Διάγραμμα Θ. Χρωματογραφική ανάλυση πρότυπου διαλύματος της ουσίας terbutylazine ($2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) σε ακετόνη (α) και ενός τυπικού δείγματος ελέγχου των δοκιμών προσρόφησης-εκρόφησης (υποστρώμα BX5) (β)



Διάγραμμα Ι. Χρωματογραφική ανάλυση πρότυπου διαλύματος της ουσίας metalaxyl-M ($10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) σε ακετόνη (α) και ενός τυπικού δείγματος ελέγχου των δοκιμών προσρόφησης-εκρόφησης (υποστρώμα CCBX) (β)



Διάγραμμα Κ. Χρωματογραφική ανάλυση πρότυπου διαλύματος της ουσίας metribuzin ($6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) σε ακετόνη (α) και ενός τυπικού δείγματος ελέγχου των δοκιμών προσρόφησης-εκρόφησης (υποστρώμα ΒΧ4) (β)



Διάγραμμα Λ. Χρωματογραφική ανάλυση πρότυπου διαλύματος των ουσιών terbutylazine, metribuzin, metalaxyl-M, chlorpyrifos και iprodione (HR:5) σε εκχύλισμα του υποστρώματος LBX (α) και ενός τυπικού δείγματος ελέγχου των δοκιμών έκπλυσης (LBX) (β)

Πίνακας Α. Τιμές tabulated χ^2 για δεδομένη όριο εμπιστοσύνης (α) και για βαθμούς ελευθερίας m

| m | Probabilities α | | | | |
|-----|------------------------|---------------|---------|---------|---------|
| | 0.10 | 0.05 | 0.025 | 0.01 | 0.005 |
| 1 | 2.706 | 3.841 | 5.024 | 6.635 | 7.879 |
| 2 | 4.605 | 5.991 | 7.378 | 9.210 | 10.597 |
| 3 | 6.251 | 7.815 | 9.348 | 11.345 | 12.838 |
| 4 | 7.779 | 9.488 | 11.143 | 13.277 | 14.860 |
| 5 | 9.236 | 11.070 | 12.833 | 15.086 | 16.750 |
| 6 | 10.645 | 12.592 | 14.449 | 16.812 | 18.548 |
| 7 | 12.017 | 14.067 | 16.013 | 18.475 | 20.278 |
| 8 | 13.362 | 15.507 | 17.535 | 20.090 | 21.955 |
| 9 | 14.684 | 16.919 | 19.023 | 21.666 | 23.589 |
| 10 | 15.987 | 18.307 | 20.483 | 23.209 | 25.188 |
| 11 | 17.275 | 19.675 | 21.920 | 24.725 | 26.757 |
| 12 | 18.549 | 21.026 | 23.337 | 26.217 | 28.300 |
| 13 | 19.812 | 22.362 | 24.736 | 27.688 | 29.819 |
| 14 | 21.064 | 23.685 | 26.119 | 29.141 | 31.319 |
| 15 | 22.307 | 24.996 | 27.488 | 30.578 | 32.801 |
| 16 | 23.542 | 26.296 | 28.845 | 32.000 | 34.267 |
| 17 | 24.769 | 27.587 | 30.191 | 33.409 | 35.718 |
| 18 | 25.989 | 28.869 | 31.526 | 34.805 | 37.156 |
| 19 | 27.204 | 30.144 | 32.852 | 36.191 | 38.582 |
| 20 | 28.412 | 31.410 | 34.170 | 37.566 | 39.997 |
| 21 | 29.615 | 32.671 | 35.479 | 38.932 | 41.401 |
| 22 | 30.813 | 33.924 | 36.781 | 40.289 | 42.796 |
| 23 | 32.007 | 35.172 | 38.076 | 41.638 | 44.181 |
| 24 | 33.196 | 36.415 | 39.364 | 42.980 | 45.559 |
| 25 | 34.382 | 37.652 | 40.646 | 44.314 | 46.928 |
| 26 | 35.563 | 38.885 | 41.923 | 45.642 | 48.290 |
| 27 | 36.741 | 40.113 | 43.195 | 46.963 | 49.645 |
| 28 | 37.916 | 41.337 | 44.461 | 48.278 | 50.993 |
| 29 | 39.087 | 42.557 | 45.722 | 49.588 | 52.336 |
| 30 | 40.256 | 43.773 | 46.979 | 50.892 | 53.672 |
| 40 | 51.805 | 55.758 | 59.342 | 63.691 | 66.766 |
| 50 | 63.167 | 67.505 | 71.420 | 76.154 | 79.490 |
| 60 | 74.397 | 79.082 | 83.298 | 88.379 | 91.952 |
| 70 | 85.527 | 90.531 | 95.023 | 100.425 | 104.215 |
| 80 | 96.578 | 101.879 | 106.629 | 112.329 | 116.321 |
| 90 | 107.565 | 113.145 | 118.136 | 124.116 | 128.299 |
| 100 | 118.498 | 124.342 | 129.561 | 135.807 | 140.169 |