



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Πρόσληψη βαρέων μετάλλων από φυτά-βολβούς
καλλιεργούμενα σε ρυπασμένα εδάφη**

**ΣΩΤΗΡΗΣ ΣΤΑΣΙΝΟΣ
ΧΗΜΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΕΜΠ, MSc.**

ΑΘΗΝΑ

ΑΠΡΙΛΙΟΣ 2013

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Πρόσληψη βαρέων μετάλλων από φυτά-βολβούς
καλλιεργούμενα σε ρυπασμένα εδάφη

ΣΩΤΗΡΗΣ ΣΤΑΣΙΝΟΣ

A.M.: 102908

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Ιωάννης Ζαμπετάκης, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ:

Σταμάτης Θεοχάρης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

Σπυρίδων Περγαντής, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης

Ιωάννης Ζαμπετάκης, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Κωνσταντίνος Δημόπουλος, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Σπυρίδων Περγαντής, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης

Σταμάτης Θεοχάρης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

Γιάννης Ζαμπετάκης, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ

Νικόλαος Θωμαΐδης, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ

Ελισάβετ Φραγκοπούλου, Επίκουρη Καθηγήτρια Χαροκόπειου
Πανεπιστημίου

Χαράλαμπος Προεστός, Λέκτορας ΕΚΠΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα βαρέα μέταλλα, υπό συνθήκες, είναι ευκίνητα στοιχεία και μπορούν να προσληφθούν και να βιοσυσσωρευτούν σε βολβούς, μέσω του νερού άρδευσης, του χώματος, των λιπασμάτων και του κόμποστ, οδηγώντας τα φυτά σε οξειδωτικό στρες και προκαλώντας, μετά από χρόνια κατανάλωση βολβών, προβλήματα υγείας στους ανθρώπους. Ο σκοπός της παρούσας διδακτορικής εργασίας ήταν να διερευνήσει την πιθανή πρόσληψη χρωμίου και νικελίου από καρότα (*Daucus carota* L.), κρεμμύδια (*Allium cepa* L.) και πατάτες (*Solanum tuberosum* L.) καθώς και τις πιθανές επιπτώσεις αυτών των βαρέων μετάλλων στη δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάση (CAT, E.C.1.11.1.6) και υπεροξειδάση (POX, E.C.1.11.1.7) στα κρεμμύδια και στις πατάτες. Πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε θερμοκήπιο, στα οποία προσομοιώθηκαν, όσο το δυνατόν, οι συνθήκες άρδευσης που επικρατούν στις περιοχές με τη μεγαλύτερη παραγωγή βολβών στη χώρα (Ασωπός, Μεσσαπία).

Τα πειράματα περιελάμβαναν καλλιέργεια βολβών σε δύο περιόδους, διάρκειας 4 μηνών έκαστη, με παράλληλες γραμμές άρδευσης, κάθε μία από τις οποίες παρείχε στα φυτά υδατικό διάλυμα διαφορετικής συγκέντρωσης Cr(VI) και Ni(II). Συνολικά, τα διαλύματα μετάλλων που χρησιμοποιήθηκαν, στις δύο περιόδους ήταν: 0 μg/L (control), 10 μg/L, 20 μg/L, 50μg/L, 100 μg/L, 250 μg/L, 500 μg/L και 1.000 μg/L. Για την καλλιέργεια των φυτών χρησιμοποιήθηκε χώμα, από βιολογικά πιστοποιημένο θερμοκήπιο, το οποίο δεν είχε ρυπανθεί στο παρελθόν με βαρέα μέταλλα.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το νερό ποτίσματος που περιέχει Cr(VI) και Ni(II) μπορεί να προκαλέσει διασταυρούμενη επιμόλυνση (cross-contamination) σε κρεμμύδια και πατάτες. Δεν βρέθηκαν αντίστοιχες αποδείξεις για τα καρότα. Επίσης, βρέθηκε ότι η συγκέντρωση Cr στις πατάτες σχετίζεται θετικά με τη συγκέντρωση Cr και Ni στο νερό ποτίσματος.

Επίσης, στα κυριότερα ευρήματα αυτής της εργασίας περιλαμβάνεται η θετική συσχέτιση ανάμεσα: (i) στις συγκεντρώσεις Cr και Ni στα καρότα, (ii) στις συγκεντρώσεις Cr και Ni στις πατάτες, (iii) στη συγκέντρωση Cr και στη δραστικότητα καταλάσης στις πατάτες και (iv) στη συγκέντρωση Ni και στη δραστικότητα υπεροξειδάσης στα φύλλα κρεμμυδιών.

Τέλος, παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στη συγκέντρωση Cr και Ni στους κορμούς κρεμμυδιών.

Παρά το γεγονός ότι δεν έχουν τεθεί όρια για το Cr και το Ni στα λαχανικά, για λόγους προφύλαξης, συνιστάται το νερό άρδευσης να είναι, ει δυνατόν, απαλλαγμένο από τα συγκεκριμένα βαρέα μέταλλα, έτσι ώστε να προστατεύεται η υγεία των ευπαθών ομάδων του πληθυσμού από ενδεχόμενο κίνδυνο.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Ασφάλεια Τροφίμων

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: άρδευση, πρόσληψη, χρώμιο, νικέλιο, καταλάση, υπεροξειδάση, καρότα, κρεμμύδια, πατάτες, τοξικότητα

ABSTRACT

Heavy metals, under specific conditions, are mobile elements and can be uptaken and accumulated in bulbs, by irrigating water, soil, fertilizers and compost, leading the plants to oxidation stress and, after long term consumption, the humans to health problems. The scope of this doctorate study was to investigate the potential uptake of chromium and nickel by carrots (*Daucus carota* L.), onions (*Allium cepa* L.) and potatoes (*Solanum tuberosum* L.) as well as the potential impact of these heavy metals on the activities of antioxidant enzymes catalase (CAT, E.C.1.11.1.6) and peroxidase (POX, E.C.1.11.1.7) in onions and potatoes. Greenhouse experiments were conducted, simulating, as much as possible, the irrigating conditions existing in the two biggest tubers' producing regions of Greece (Asopos and Messapia). The studies included cultivation of tubers, for two periods of approximately 4 months each, in parallel irrigation lines, each one supplied by an aqueous solution, containing different levels of Cr(VI) and Ni(II). Overall, the metal concentrations supplied in the two experimental periods, were as follows: 0 µg/L (control), 10 µg/L, 20 µg/L, 50µg/L, 100 µg/L, 250 µg/L, 500 µg/L and 1,000 µg/L. The soil used was obtained from a certified organic greenhouse and was never, anthropogenically, polluted in the past. The results suggested that irrigation water containing Cr and Ni can cross-contaminate onions and potatoes. No such evidence was found for carrots. Also, Cr concentration in potatoes was found to be positively correlated with Cr and Ni concentration in irrigation water.

The main findings of this study include, also, positive correlations between: (i) Cr and Ni concentrations in carrots (ii) Cr and Ni concentrations in potatoes (iii) Cr concentration and catalase activity in potatoes and (iv) Ni concentration and peroxidase activity in onion leaves. Finally, negative correlations have been observed between Cr and Ni concentrations in onion shoots.

Eventhough there are no limits imposed by international organizations for Cr and Ni in vegetables, for precautional reasons, irrigation water should be free, if possible, of these heavy metals, so that the health of vulnerable groups of population is not at any potential risk.

SUBJECT AREA: Food Safety

KEYWORDS: irrigation, uptake, chromium, nickel, catalase, peroxidase, carrots, onions, potatoes, toxicity

Στην Ιωάννα και τη Βέρα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για τη διεκπεραίωση της παρούσας διατριβής, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Ι. Ζαμπετάκη για τη συνεργασία, την καθημερινή συμπαράσταση και, γενικότερα, την πολύτιμη συμβολή του στην ολοκλήρωσή της. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τους καθηγητές κ.κ. Σ. Θεοχάρη και Σ. Περγαντή για τη συνεργασία τους καθώς και τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής κ.κ. Κ. Δημόπουλο, Ν. Θωμαΐδη, Ε. Φραγκοπούλου και Χ.Προεστό για τα σχόλιά τους στην παρούσα εργασία.

Ευχαριστώ, επίσης, ξεχωριστά, τον καθηγητή του Τμήματος Χημείας του ΕΚΠΑ κ. Κ. Δημόπουλο για τη βοήθεια στην εύρεση θερμοκηπίου, την καθηγήτρια του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου κα Κ. Λαζαρίδη για την παραχώρηση χώρου εντός του θερμοκηπίου στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, την καθηγήτρια του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου κα Ε. Φραγκοπούλου για την παραχώρηση του λυοφιλιωτή, τον καθηγητή του ΤΕΙ Ηπείρου κ. Ν. Μαλισιώβα για τη βοήθεια στις αναλύσεις στο χώμα καλλιέργειας, την Δρα Κ. Νασοπούλου και τον Δρα Ι. Πασσιά για την συμπαράσταση και τις συμβουλές τους κατά τη διάρκεια της εργασίας, την Δρα Κ. Κανάκη και τον κ. Μ.Κωστάκη για τη βοήθειά τους στη διενέργεια χημικών αναλύσεων, το βιοκαλλιεργητή-γεωπόνο κ. Β. Φράγκο και τον καθηγητή του ΤΕΙ Αθηνών κ. Δ.Μπέντο για την αμέριστη και αναγκαία βοήθειά τους όποτε τη χρειάστηκα και τον γεωπόνο κ. Π. Τσακυργιάννη για τις πολύτιμες συμβουλές του και τη βοήθειά του σε όλη τη διάρκεια της εργασίας.

Τέλος, ευχαριστώ τη σύζυγό μου Νόνη Αμπλιανίτη για τη συμπαράστασή της, τη βοήθειά της και την υπομονή της κατά τη διάρκεια της παρούσας εργασίας.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ADI: αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη

APX: ασκορβική υπεροξειδάση

CAT: καταλάση

CEC: ικανότητα ανταλλαγής ιόντων

COMA: British Committee on the Medical Aspects of Food and Nutrition Policy

DAFNE: Data Food Network

DGE: German Society of Nutrition

EAI: εκτιμώμενη κατάλληλη δόση

EEA: Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων

ESADDI: εκτιμώμενη ασφαλής και επαρκής ημερήσια διατροφική πρόσληψη

ETAAS: ηλεκτροθερμικός φασματογράφος ατομικής απορρόφησης

FAO/WHO: Food and Agriculture Organisation/World Health Organisation

FNB: US Food and Nutrition Board

ICP-MS: φασματογράφος μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος

IOM: US Institute of Medicine

IQR: ενδοτεταρτημοριακό εύρος

Lowess: τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση

NOAEL: επίπεδο μη εμφανιζόμενης δυσμενούς επίδρασης

NRC: United States National Research Council

OGE: Austrian Society of Nutrition

PMTDI: προσωρινό μέγιστο ανεκτό όριο ημερήσιας πρόσληψης

POX: υπεροξειδάση

p-value: δείκτης στατιστικής αξιοπιστίας αποτελέσματος

RDA: συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη

RfD: δόση αναφοράς τοξικότητας

rho: μη παραμετρικός συντελεστής συσχέτισης του Spearman

ROS: ενεργές μορφές οξυγόνου

SGE: Swiss Society of Nutrition Research

SMR: κανονικοποιημένος λόγος θνησιμότητας

SVE: Swiss Organization of Nutrition

US EPA: United States Environmental Protection Agency

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ. ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ	ΣΤΑ
ΦΥΤΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ		19
1.1	Εξασθενές Χρώμιο. Το χρονικό ενός προαναγγελθέντος καρκίνου;.....	19
1.2	Βαρέα μέταλλα στα φυτά	24
1.3	Παράγοντες που επηρεάζουν τη διαθεσιμότητα μετάλλων στα φυτά	25
1.4	Προσρόφηση, μετακίνηση και συσσώρευση Cr και Ni στα φυτά	27
1.4.1	Προσρόφηση, μετακίνηση και συσσώρευση Cr	27
1.4.2	Προσρόφηση, μετακίνηση και συσσώρευση Ni	29
1.5	Επιπτώσεις Cr, Ni και άλλων βαρέων μετάλλων στα φυτά. Οξειδωτικό στρες. Παραγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων	30
1.6	Καταλάση και υπεροξειδάση. Μηχανισμός κατάλυσης της διάσπασης υπεροξειδίου του υδρογόνου	33
1.7	Πρόσληψη βαρέων μετάλλων από καρότα, πατάτες και κρεμμύδια	34
1.7.1	Πατάτες	34
1.7.2	Καρότα	40
1.7.3	Κρεμμύδια	43
1.8	Καλλιέργεια πατατών, κρεμμυδιών και καρότων με χρήση βαρέων μετάλλων. Επιπτώσεις στη φυσιολογία των φυτών και στη δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης από την πρόσληψη βαρέων μετάλλων.....	50
1.8.1	Πατάτες	50
1.8.2	Κρεμμύδια	54
1.8.3	Καρότα	62
1.9	Επιπτώσεις στη δημόσια υγεία από την κατανάλωση τροφίμων με βαρέα μέταλλα	66
1.9.1	Γενικά	66
1.9.2	Επιπτώσεις από το Ni	66

1.9.3	Επιπτώσεις από το Cr.....	67
1.10	Έρευνα του Εργαστηρίου Τροφίμων και του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του ΕΚΠΑ. Σκοπός της διδακτορικής εργασίας.....	69
2.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	71
2.1	Καλλιέργεια φυτών σε θερμοκήπιο.....	71
2.2	Πρώτη Καλλιεργητική Περίοδος (Σεπτέμβριος 2010 - Ιανουάριος 2011).....	78
2.2.1	Αντιδραστήρια	78
2.2.2	Όργανα	79
2.2.3	Αναλυτική πορεία για φυτά.....	79
2.2.4	Αναλυτική πορεία για χώμα.....	83
2.2.5	Στατιστική επεξεργασία	84
2.3	Δεύτερη Καλλιεργητική Περίοδος (Σεπτέμβριος 2011 - Ιανουάριος 2012).....	86
2.3.1	Γενικά	86
2.3.2	Αντιδραστήρια	87
2.3.3	Όργανα	87
2.3.4	Μετρήσεις δραστηρότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης στα φυτά. Αναλυτική πορεία.	87
2.3.5	Προσδιορισμός χρωμίου και νικελίου στα φυτά. Αναλυτική πορεία	89
2.3.6	Στατιστική επεξεργασία	92
3.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	94
3.1	Πρώτη Καλλιεργητική Περίοδος (Σεπτέμβριος 2010-Ιανουάριος 2011).....	94
3.1.1	Συγκεντρώσεις χρωμίου και νικελίου και φυσικοχημικές ιδιότητες του χώματος.....	94
3.1.2	Έλεγχος αξιοπιστίας των αναλύσεων Cr και Ni στο χώμα και στα φυτά ..	95
3.1.3	Αποτελέσματα και στατιστική ανάλυση	96
3.2	Δεύτερη Καλλιεργητική Περίοδος (Σεπτέμβριος 2011-Ιανουάριος 2012).....	109
3.2.1	Αποτελέσματα και στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων στα φυτά ..	109

3.2.2	Αναλύσεις Cr(VI) και Cr(III) στα φυτά	126
3.3	Σύγκριση συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων στα φυτά των πειραμάτων με φυτά διαφόρων περιοχών στην Ελλάδα.....	128
3.4	Ημερήσια διατροφική πρόσληψη Cr και Ni από καρότα, κρεμμύδια και πατάτες. Πιθανοί κίνδυνοι για τη δημόσια υγεία.....	131
3.4.1	Νικέλιο.....	133
3.4.2	Ολικό χρώμιο	134
3.5	Συμπεράσματα	136
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι.....		139
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ.....		167
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ		174

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1: Υποθετικό μοντέλο μεταφοράς και τοξικότητας Cr στις ρίζες των φυτών.....	29
Σχήμα 1.2: Απεικόνιση καταλασών και υπεροξειδασών. Αίμη στο ενεργό κέντρο και Ένωση I (Compound I).....	34
Σχήμα 3.1: Συγκεντρώσεις Cr στα καρότα και Ni στις πατάτες σε συνάρτηση με τις συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).....	98
Σχήμα 3.2: Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες για το σύνολο των φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).....	106
Σχήμα 3.3: Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr στις πατάτες με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος.....	112
Σχήμα 3.4: Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης στο συνολικό αριθμό των φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).....	118
Σχήμα 4.1: Συγκεντρώσεις Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες σε συνάρτηση με τις συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).....	139
Σχήμα 4.2: Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες, σε επί μέρους κατηγορίες φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).....	142
Σχήμα 4.3: Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni και δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης στα φυτά με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).....	152
Σχήμα 4.4: Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).....	156

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: "Άτυπη βιομηχανική συγκέντρωση" Οινοφύτων.....	21
Εικόνα 2.1: Γενική άποψη εγκατάστασης θερμοκηπίου (1).....	73
Εικόνα 2.2: Γενική άποψη εγκατάστασης θερμοκηπίου (2).....	74
Εικόνα 2.3: Γλάστρα καρότων (λεπτομέρεια).....	74
Εικόνα 2.4: Γλάστρα κρεμμυδιών (λεπτομέρεια).....	75
Εικόνα 2.5: Γλάστρα-κάδος πατατών (λεπτομέρεια).....	75
Εικόνα 2.6: Φυτώριο καρότων (λεπτομέρεια: σπόροι καρότων).....	76
Εικόνα 2.7: Φυτώριο κρεμμυδιών.....	77
Εικόνα 2.8: Φυτώριο πατατών.....	77
Εικόνα 2.9: Λυοφιλιωτής (freeze dryer).....	80
Εικόνα 2.10: Φούρνος μικροκυμάτων πρώτου πειράματος.....	82
Εικόνα 2.11: Φασματογράφος Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS).....	82
Εικόνα 2.12: Φούρνος μικροκυμάτων δεύτερου πειράματος.....	91
Εικόνα 2.13: Ηλεκτροθερμικός φασματογράφος ατομικής απορρόφησης (ETAAS).....	91

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1. Πρόσληψη βαρέων μετάλλων από καρότα, κρεμμύδια και πατάτες όπως αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία.....	46
Πίνακας 1.2. Επιπτώσεις στη φυσιολογία των φυτών και τις δραστικότητες καταλάσης και υπεροξειδασών από την πρόσληψη βαρέων μετάλλων.....	64
Πίνακας 3.1: Συγκέντρωση Cr και Ni στο χώμα που χρησιμοποιήθηκε για την καλλιέργεια των βολβών (n=3 για κάθε συγκέντρωση, τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσος όρος $\pm$ SD, 95% επίπεδο αξιοπιστίας).....	95
Πίνακας 3.2: Επίπεδα Cr και Ni στα φυτά σε συσχέτιση με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος.....	97
Πίνακας 3.3: Συγκρίσεις Cr και Ni στα φυτά που ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις 0 και 250 $\mu\text{g/L}$ Cr και Ni.....	99
Πίνακας 3.4: P- values για τις συγκρίσεις των συγκεντρώσεων Cr και Ni, ανά δύο, μεταξύ των φυτών που ποτίστηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις Cr και Ni και των φυτών-μαρτύρων.....	103
Πίνακας 3.5: Διάμεσες, μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης, και συγκέντρωσης Cr και Ni στα φυτά σε συσχέτιση με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό άρδευσης. Spearman's rho και p-values των συσχετίσεων..	111
Πίνακας 3.6: P-values για τις συγκρίσεις ανά δύο, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης και συγκέντρωσης Cr και Ni, ανάμεσα στις ομάδες φυτών που ποτίστηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II).....	113
Πίνακας 3.7: Συσχετίσεις ανάμεσα στα επίπεδα ολικού χρωμίου και νικελίου και τις δραστικότητες καταλάσης και υπεροξειδάσης, στο συνολικό αριθμό κάθε κατηγορίας φυτών.....	117
Πίνακας 3.8: Αποτελέσματα δειγμάτων τροφίμων του δεύτερου πειράματος για εξασθενές και ολικό χρώμιο.....	127
Πίνακας 3.9. Μέγιστες διάμεσες τιμές φυτών διδακτορικής εργασίας.....	128
Πίνακας 3.10: Συγκέντρωση Cr και Ni σε καρότα, κρεμμύδια και πατάτες από διάφορες Ελληνικές περιοχές.....	130

Πίνακας 3.11:Πρόσληψη ολικού Cr, Cr(VI) και Ni από καρότα, κρεμμύδια και πατάτες. Σύγκριση με όρια διεθνών και εθνικών οργανισμών.....	135
Πίνακας 4.1: Συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ανάμεσα στα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε επί μέρους γλάστρες.....	150
Πίνακας 5.1: Αναλυτικά αποτελέσματα συγκέντρωσης Cr και Ni και δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης διδακτορικής εργασίας.....	167

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ. ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

1.1 Εξασθενές Χρώμιο. Το χρονικό ενός προαναγγεληθέντος καρκίνου;

Βαρέα μέταλλα ορίζονται τα μέταλλα που έχουν ειδικό βάρος μεγαλύτερο από εκείνο του σιδήρου όπως ο μόλυβδος, ο υδράργυρος, ο χαλκός, το κάδμιο, το χρώμιο, το νικέλιο κ.λπ. Ο όρος βαρέα μέταλλα αποδίδεται σε κάθε χημικό στοιχείο που έχει σχετικά μεγάλη πυκνότητα και είναι τοξικό σε χαμηλές συγκεντρώσεις¹.

Το χρώμιο είναι ένα βαρύ μέταλλο που απαντά στη φύση κυρίως στην τρισθενή, μη τοξική του, μορφή. Το εξασθενές χρώμιο, το οποίο θεωρείται τοξικό (καρκινογόνο, μεταλλαξιογόνο, τερατογόνο), χρησιμοποιείται συχνά ως πρώτη ύλη στη βιομηχανία (επιμεταλλωτήρια, χυτήρια, βυρσοδεψεία, βαφεία, βιομηχανίες χρωμάτων κ.λπ.) αλλά μπορεί υπό κατάλληλες συνθήκες να παραχθεί, με φυσικές διεργασίες, στα υπόγεια νερά, από οξείδωση του τρισθενούς χρωμίου που βρίσκεται διαλυμένο σε αυτά.

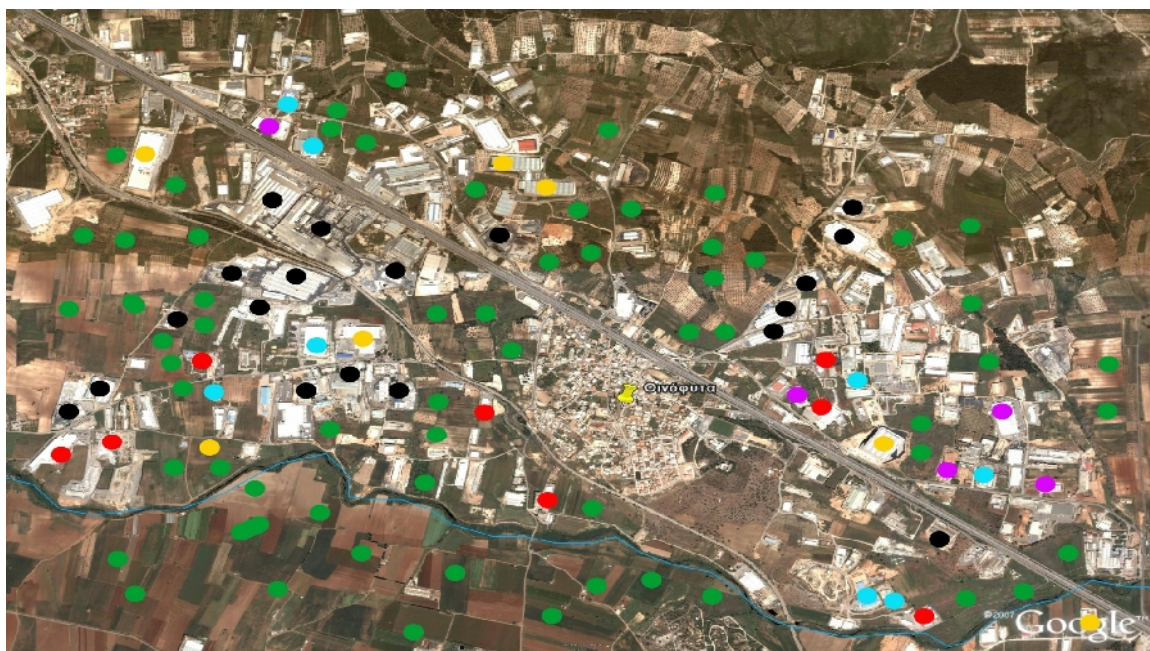
Μέχρι πρόσφατα είχε αποδειχθεί η καρκινογόνος δράση του εξασθενούς χρωμίου μέσω της εισπνοής ενώ πολύ συζήτηση έχει γίνει για την καρκινογόνο δράση μέσω της κατάποσης χωρίς όμως η δράση αυτή να έχει γίνει επισήμως αποδεκτή από τους αρμόδιους φορείς (Ευρωπαϊκή Ένωση, Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ, Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας κλπ). Σημειώνεται, όμως, ότι μετά από ενδελεχή και μακροχρόνια έρευνα στις επιπτώσεις στην υγεία από την κατάποση εξασθενούς χρωμίου, το California EPA² έχει θέσει τιμή στόχο (Public Health Goal) στο νερό ανθρώπινης κατανάλωσης 0,02 µg/L, ενώ αναμένεται να τεθεί νέο όριο εντός του 2013.

Έτσι, θεσμικά, το εξασθενές χρώμιο θεωρείται, για την Ευρωπαϊκή και την Αμερικάνικη Νομοθεσία (εκτός λίγων εξαιρέσεων) ισοδύναμο με τη μη τοξική εκδοχή του, δηλαδή το τρισθενές.

Το όριο, λοιπόν, για το πόσιμο νερό είναι σήμερα 50 $\mu\text{g/L}$ (μικρογραμμάρια στο λίτρο) και αφορά το ολικό (δηλαδή τρισθενές και εξασθενές χρώμιο) χωρίς να γίνεται διάκριση.

Το 2006, ανακαλύφθηκε από τον Α. Παντελόγλου (χημικό βιομηχανίας) η ύπαρξη του εξασθενούς χρωμίου στο πόσιμο νερό του πρώην Δήμου Οινοφύτων, μίας περιοχής που από το 1969 λειτουργεί ως "άτυπη βιομηχανική συγκέντρωση" δηλαδή ένας χώρος που δεν είναι οργανωμένος ως Βιομηχανική Περιοχή (ΒΙΠΕ) (δεν διαθέτει αποχετευτικό δίκτυο, κεντρική μονάδα επεξεργασίας βιομηχανικών υγρών αποβλήτων, Χώρο Υγειονομικής Ταφής Επικινδύνων Αποβλήτων, οργανωμένο οδικό δίκτυο, σχέδιο πόλης κ.λπ.). Το πόσιμο νερό του Δήμου Οινοφύτων, έως και το 2009, προερχόταν από υπόγειες γεωτρήσεις της περιοχής οι οποίες ανακαλύφθηκε ότι είχαν πολύ υψηλές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου, σε πολλές περιπτώσεις πολύ μεγαλύτερες από το όριο των 50 $\mu\text{g/L}$.

Πολλές από τις βιομηχανίες και βιοτεχνίες της περιοχής Οινοφύτων αλλά και της ευρύτερης περιοχής Τανάγρας και Σχηματαρίου είναι διάσπαρτες μέσα στους αγρούς, πολλοί από τους οποίους αρδεύονται και για παραγωγή λαχανικών-βολβών (π.χ. καρότα, κρεμμύδια και πατάτες) (βλ. εικόνα 1.1) όπως και οι περιοχές της λεκάνης της Θήβας και της Μεσσαπίας, Εύβοιας. Πολλοί βολβοί - αν όχι οι περισσότεροι - που διακινούνται σήμερα στα super market προέρχονται από τις παραπάνω περιοχές.



Εικόνα 1.1: "Άτυπη βιομηχανική συγκέντρωση" Οινοφύτων (μαύρο: επιμεταλλωτήρια, κόκκινο: χημικές βιομηχανίες, μπλε: βιομηχανίες καλλυντικών, κίτρινο: αποθήκες, γαλάζιο: βιομηχανίες τροφίμων, πράσινο: καλλιεργούμενοι αγροί)

Πολλή συζήτηση γίνεται σήμερα για την προέλευση του εξασθενούς χρωμίου (γεωγενής ή ανθρωπογενής) το οποίο ανακαλύφθηκε, από το 2006, στους υδροφόρους ορίζοντες πολλών περιοχών της χώρας, όπως επίσης και για το βαθμό επικινδυνότητάς του κατά την κατάποση. Αυτό που όμως δεν μπορεί να αμφισβητηθεί (ανεξαρτήτως της προέλευσής του) είναι ότι η πολιτεία δεν προστάτευσε επαρκώς τους πολίτες, κυρίως του πρώην Δήμου Οινοφύτων Βοιωτίας (και Μεσσαπίων Εύβοιας), καθώς τους προμήθευε με νερό από έναν υδροφόρο ορίζοντα που από το 1978 τουλάχιστον (όσον αφορά το πρώην Δήμο Οινοφύτων) φαινόταν ότι ρυπαίνεται, με τους επιστήμονες να κρούουν, από τότε, τον κώδωνα του κινδύνου.

Οι κάτοικοι των πρώην Δήμων Οινοφύτων Βοιωτίας και Μεσσαπίας, Εύβοιας, προσέφυγαν στα δικαστήρια ζητώντας νερό απαλλαγμένο από βαρέα μέταλλα και δικαιώθηκαν, από τα Πρωτοδικεία Θηβών και Χαλκίδας με τις υπ' αριθμ., 923/2008 και 1158/2010 Αποφάσεις, αντίστοιχα, αναγκάζοντας την πολιτεία να τους το εξασφαλίσει.

Παρακάτω παρατίθεται ένα μικρό χρονικό από τις μελέτες/έρευνες που είδαν το φως της δημοσιότητας για τη Βοιωτία και την Κεντρική Εύβοια και σχετίζονται με την ύπαρξη και την κατάποση εξασθενούς χρωμίου.

Σύμφωνα με τους Δούνα et al.³ η υψηλή συγκέντρωση νιτρικών και νιτρωδών ιόντων υποδήλωνε πιθανή μόλυνση του υπόγειου νερού της λεκάνης Ασωπού από τα απόβλητα της περιοχής. Επίσης, η αξιολόγηση των υδρογεωλογικών και γεωλογικών δεδομένων τους οδήγησε στο συμπέρασμα ότι υπήρχε κίνδυνος ρύπανσης των υπόγειων υδάτων της περιοχής από βιομηχανικά απόβλητα.

Σύμφωνα με το Σταυρόπουλο⁴, από τις χημικές αναλύσεις που έγιναν στα υπόγεια νερά της ευρύτερης περιοχής Οиноφύτων Βοιωτίας, προέκυψε ότι η ποιότητά τους ήταν σημαντικά υποβαθμισμένη, ήδη από το έτος 1990, ενώ η καταλληλότητά τους για ύδρευση, άρδευση και για μερικές βιομηχανικές χρήσεις κρίθηκε από μέτρια έως πολύ κακή. Ο μελετητής, από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η υποβάθμιση της ποιότητας των υπόγειων νερών οφειλόταν στη ρύπανση από ανθρωπογενείς δραστηριότητες, καθώς και από την παντελή έλλειψη μέτρων προστασίας τους, κατά κύριο λόγο, από τα βιομηχανικά απόβλητα.

Σε υδρογεωλογική μελέτη⁵ σημειώθηκε ότι η προέλευση των νιτρικών ιόντων στον υδροφόρο ορίζοντα της λεκάνης του Ασωπού ήταν ως επί το πλείστον αγροτική (αζωτούχα λιπάσματα) ενώ οι συγκεντρώσεις νιτρωδών και αμμωνιακών ιόντων αποδόθηκαν σε αστικές και βιομηχανικές εστίες ρύπανσης. Σε σημειακές και διάχυτες εστίες βιομηχανικής ρύπανσης αποδόθηκαν στην πλειοψηφία τους και οι αυξημένες τιμές ολικού και εξασθενούς χρωμίου, νικελίου, σιδήρου, αρσενικού και μολύβδου.

Σε μελέτη του Τεχνικού Επιμελητηρίου Ελλάδος⁶ για την περιοχή Ασωπού, αναφέρθηκε ότι Ανώτατα Εκπαιδευτικά Ιδρύματα (όπως το Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών και το ΕΜΠ), Επιστημονικοί Φορείς (όπως το ΙΓΜΕ, η Ένωση Ελλήνων Χημικών, η Πανελλήνια Ένωση Ιατρών Δημόσιας Υγείας) και μεγάλος αριθμός μεμονωμένων επιστημόνων που ασχολήθηκαν με το πρόβλημα της ρύπανσης του Ασωπού και των υπόγειων νερών της ευρύτερης περιοχής των Οиноφύτων, συμφώνησαν στο συμπέρασμα ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI) στα υπόγεια νερά της περιοχής Ασωπού οφείλονταν στην επιβάρυνσή των τελευταίων με επικίνδυνα απόβλητα (υγρά, ιλύες και λοιπά επικίνδυνα απόβλητα) από την ανεξέλεγκτη βιομηχανική δραστηριότητα της περιοχής.

Ενοχοποιήθηκαν, δε, κυρίως μονάδες επιμεταλλώσεων και χρωμάτων-χρωστικών. Στην ίδια μελέτη σημειώθηκε ότι σύμφωνα με την Ένωση Ελλήνων Χημικών πέραν των παραπάνω δραστηριοτήτων, ρύπανση των υδάτων με Cr(III) όσο και με Cr(VI) θα μπορούσε επίσης να προκληθεί από βυρσοδεψεία και κλωστούφαντουργεία.

Υδρογεωλογική μελέτη στην περιοχή Μεσσαπίας⁷ κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις πως οι υψηλές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου στα υπόγεια νερά της κεντρικής Εύβοιας οφείλονται όχι μόνο σε φυσική ρύπανση αλλά και σε ανθρωπογενείς δραστηριότητες.

Αξιολογήθηκε η προέλευση της ρύπανσης του υδροφόρου ορίζοντα της Αυλίδας με εξασθενές χρώμιο⁸ και το συμπέρασμα ήταν ότι η ρύπανση με εξασθενές χρώμιο οφείλεται σε ανθρωπογενείς δραστηριότητες και όχι στην επίδραση οφιόλιθων με φυσικές δράσεις ή άλλων γεωγενών παραμέτρων.

Διερευνήθηκαν οι συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb και Zn, στα υπόγεια νερά της λεκάνης του Ασωπού⁹ και διαπιστώθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις ως προς τα στοιχεία Cd, Cr, Mn, Ni, και Pb οι οποίες υπερέβαιναν τα ανώτατα επιτρεπτά όρια της Οδηγίας της ΕΕ που αφορά τα πόσιμα νερά. Οι υψηλές συγκεντρώσεις αποδόθηκαν σε γεωγενείς κυρίως παράγοντες, χωρίς να αποκλειστούν και ανθρωπογενείς επιδράσεις.

Η παρουσία εξασθενούς χρωμίου σε υπόγεια νερά της λεκάνης του Ασωπού ποταμού, σε βάθη μεγαλύτερα των 200 μέτρων αποδόθηκε στην κατ'ευθείαν έγχυση βιομηχανικών υγρών αποβλήτων πλούσιων σε εξασθενές χρώμιο (στον υπόγειο υδροφόρο ορίζοντα) και όχι σε τυχόν αντίδραση μεταξύ του υπόγειου νερού και των πετρωμάτων που περιέχουν χρώμιο¹⁰.

Αξιολογήθηκε, σε επιδημιολογική έρευνα, ο συνολικός αριθμός 474 θανάτων από την περιοχή των Οиноφύτων¹¹. Η σύγκριση στα ποσοστά θανάτων έγινε σε σχέση με το συνολικό πληθυσμό του Ν.Βοιωτίας. Ο Κανονικοποιημένος Λόγος Θνησιμότητας (Standardized Mortality Ratio, SMR) (δηλαδή ο λόγος του πραγματικού αριθμού θανάτων από καρκίνο προς τον αριθμό των αναμενόμενων θανάτων από καρκίνο πολλαπλασιασμένος με 100) ήταν 1.104 (p-value<0,001) για πρωτοπαθή καρκίνο του ήπατος, 145 για καρκίνο του πνεύμονα (P-value=0,047) και 368 για καρκίνο του γεννητικού και

ουροποιητικού συστήματος στις γυναίκες. Και άλλοι αυξημένοι SMR παρατηρήθηκαν, όμως οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (χείλη, στοματική κοιλότητα και φάρυγγας 344, στομάχι 121, στήθους στις γυναίκες 134, προστάτη 128, και λευχαιμία 168). Συμπερασματικά, σημειώθηκε από τους ερευνητές ότι η αυξημένη θνησιμότητα από καρκίνο στα Οινόφυτα, ενισχύει την υπόθεση της καρκινογένεσης μέσω κατάποσης Cr(VI, ενώ, αναφέρθηκε, επίσης, ότι απαιτούνταν περισσότερες μελέτες για να αποδειχθεί η αιτιώδης συνάφεια.

Η ρύπανση του υδροφόρου ορίζοντα κυρίως με Cr(VI), Ni αλλά και άλλα βαρέα μέταλλα (γεωγενής ή ανθρωπογενής) σε περιοχές της Βοιωτίας και της Κεντρικής Εύβοιας, στις οποίες, όπως αναφέρθηκε, παράγονται τα περισσότερα λαχανικά-βολβοί, δημιουργεί ανησυχία σχετικά με το εάν τα μέταλλα μπορούν να επιμολύνουν τα φυτά μέσω του ρυπασμένου νερού ποτίσματος και, αν ναι, τότε σε ποιο βαθμό. Η παρούσα διατριβή επιχειρεί να απαντήσει στο συγκεκριμένο ερώτημα και εστιάζεται στα μέταλλα Cr και Ni και στα φυτά καρότο, φρέσκο κρεμμύδι και πατάτα. Η κατανάλωση αυτών των τροφίμων ξεκινά περίπου στον 7ο μήνα ζωής του ανθρώπου, ενώ, φυσικά, καταναλώνονται και από εγκύους, κατά συνέπεια τυχόν επιμολύνσή τους με βαρέα μέταλλα έχει σημασία για τη δημόσια υγεία.

1.2 Βαρέα μέταλλα στα φυτά

Τα βαρέα μέταλλα είναι στοιχεία τα οποία παραμένουν σταθερά στο περιβάλλον και συσσωρεύονται εύκολα σε τοξικά επίπεδα¹². Οι κυριότερες πηγές ρύπανσης φυτών με βαρέα μέταλλα είναι οι ανθρωπογενείς δραστηριότητες όπως τα απόβλητα εξόρυξης, τα βιομηχανικά και αστικά υγρά απόβλητα και ιλύες, η χρήση λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων στη γη, καθώς και οι ατμοσφαιρικές αποθέσεις¹³⁻¹⁶.

Τα αστικά και τα βιομηχανικά υγρά απόβλητα χρησιμοποιούνται ευρέως, σε πολλές χώρες, για λόγους άρδευσης με χαμηλό κόστος, αλλά, επιπλέον, και ως ένας οικονομικός τρόπος διάθεσης των αποβλήτων αυτών¹⁷ ο οποίος

παράλληλα αποτελεί και μία πηγή θρεπτικών συστατικών (N, P, K) και οργανικής ύλης στα φυτά και το χώμα^{18,19}.

Τα βαρέα μέταλλα βιοσυσσωρεύονται στο χώμα σε τοξικά επίπεδα, ως αποτέλεσμα της μακροχρόνιας εφαρμογής υγρών ανεπεξέργαστων αποβλήτων. Εδάφη που αρδεύονται με λύματα συσσωρεύουν μέταλλα όπως Cr, Zn, Pb, Cd, Ni κλπ στα επιφανειακά χώματα^{12,19-23}.

Παρά το γεγονός ότι η συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα λύματα είναι χαμηλή, σε πολλές περιπτώσεις, ιδίως όταν σε αυτά περιέχονται βιομηχανικά υγρά απόβλητα, η μακροχρόνια χρήση τους για άρδευση οδηγεί σε σημαντική αύξηση των βαρέων μετάλλων στο χώμα²⁴.

Όταν η ικανότητα του εδάφους να συγκρατεί βαρέα μέταλλα μειώνεται, λόγω της μακροχρόνιας χρήσης υγρών αποβλήτων ως νερού άρδευσης, τότε τα μέταλλα διαρρέουν είτε προς χαμηλότερα βάθη (και τελικά τον υδροφόρο ορίζοντα) είτε γίνονται διαθέσιμα για πρόσληψη από τα καλλιεργούμενα φυτά²⁵. Έχει αποδειχθεί ότι η μακροχρόνια χρήση λυμάτων για άρδευση αυξάνει εκείνο το ποσοστό των βαρέων μετάλλων που είναι περισσότερο κινητικό (φυτοδιαθέσιμο)²⁶.

Παρατηρήθηκε ότι η πρόσληψη και η συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα φυτά αυξάνεται με το χρόνο άρδευσης ενός συγκεκριμένου εδάφους, γεγονός το οποίο αποδόθηκε στην αύξηση των ευκόλως διαθέσιμων (κινητικών) ιόντων βαρέων μετάλλων με την πάροδο του χρόνου²².

1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη διαθεσιμότητα μετάλλων στα φυτά

Τα μέταλλα πρέπει να είναι σε διαθέσιμη μορφή για απορρόφηση από τα φυτά ή, αλλιώς, τα φυτά πρέπει να έχουν μηχανισμούς που κάνουν τα μέταλλα βιοδιαθέσιμα. Τα κολλοειδή σωματίδια των χωμάτων και των ιζημάτων αποτελούνται κυρίως από ανόργανα αργιλικά άλατα και οργανικές ουσίες. Είναι, δε, αρνητικά φορτισμένα, λόγω των υδροξυλομάδων και των ηλεκτρονιακών ζευγών του οξυγόνου που περιέχονται στα αργιλικά άλατα καθώς και στις καρβοξυλομάδες και φαινολικές ομάδες των οργανικών ουσιών²⁷. Τα κατιόντα των μετάλλων έλκονται από τα παραπάνω αρνητικά

φορτία. Προσρόφηση ανιόντων λαμβάνει χώρα όταν τα ανιόντα έλκονται από θετικά φορτία στα κολλοειδή του χώματος. Τα ένυδρα οξείδια του Fe και του Al είναι συνήθως θετικά φορτισμένα και αποτελούν τα κύρια σημεία όπου γίνεται η ιοντοανταλλαγή.

Στο νερό, τα μέταλλα είναι επίσης ενωμένα με αρνητικά φορτισμένα, μικρά σωματίδια και κύτταρα και συνήθως σχηματίζουν σύμπλοκα με ανιόντα ή χουμικές ουσίες.

Παράγοντες που επιδρούν στην απομάκρυνση των μετάλλων από τα κολλοειδή επηρεάζουν τη συγκέντρωση των βιοδιαθέσιμων μετάλλων, ενώ υπάρχουν πολλοί αβιοτικοί παράγοντες οι οποίοι σχετίζονται με τη διαθεσιμότητα των μετάλλων στα φυτά.

Η κατανομή των μετάλλων ανάμεσα στη στερεή και την υγρή φάση επηρεάζεται έντονα από τις ιδιότητες του χώματος όπως το pH, η περιεκτικότητα σε οργανικές ουσίες, η περιεκτικότητα του υδατικού διαλύματος του χώματος σε ιόντα, η συγκέντρωση σε οξείδια Mn και Fe, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό και η φύση του χώματος²⁸⁻³³.

Οι παράγοντες που επιδρούν στη διαλυτότητα και βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στα φυτά είναι τα χημικά χαρακτηριστικά των μετάλλων, ο ρυθμός προσθήκης τους στα φυτά, το pH, η ικανότητα ανταλλαγής ιόντων (CEC), το οξειδοαναγωγικό δυναμικό, η σύσταση του εδάφους, η περιεκτικότητα του εδάφους σε άργιλο και σε οργανικές ενώσεις³⁴⁻³⁸. Οι Chang et al.³⁹ βρήκαν ότι η θερμοκρασία του χώματος είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στους καρπούς.

Οι πλέον γνωστοί από τους παράγοντες που επιδρούν στη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων είναι το pH, η CEC, η περιεκτικότητα του εδάφους σε άργιλο και σε οργανικές ενώσεις. Το χαμηλό pH αυξάνει τη βιοδιαθεσιμότητα, καθώς τα ιόντα υδρογόνου έχουν υψηλότερη συγγένεια με τα αρνητικά φορτία των κολλοειδών του χώματος. Έτσι, ο ανταγωνισμός τους με τα μεταλλικά ιόντα οδηγεί στην αντικατάσταση των τελευταίων (ιοντοανταλλαγή) στα κολλοειδή και στην απομάκρυνσή τους από αυτά, κάνοντάς τα, πλέον, βιοδιαθέσιμα. Η υψηλή περιεκτικότητα σε οργανικές ουσίες οδηγεί σε μείωση της κινητικότητας των μετάλλων διότι αυτά ενώνονται π.χ. με τα φουλβικά ή τα χουμικά οξέα του

χώματος. Υψηλή ικανότητα ανταλλαγής ιόντων (CEC) σημαίνει αυξημένη πιθανότητα ένωσης των κατιόντων μετάλλων με αρνητικά φορτία.

Γενικότερα, όσο μεγαλύτερη είναι η περιεκτικότητα του εδάφους σε άργιλο ή/και οργανικές ενώσεις και όσο μεγαλύτερο είναι το pH τόσο πιο ισχυρά είναι συνδεδεμένα τα μέταλλα με αρνητικά φορτισμένες ουσίες στο χώμα και τόσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος παραμονής τους στο χώμα.

1.4 Πρόσρόφηση, μετακίνηση και συσσώρευση Cr και Ni στα φυτά

1.4.1 Πρόσρόφηση, μετακίνηση και συσσώρευση Cr

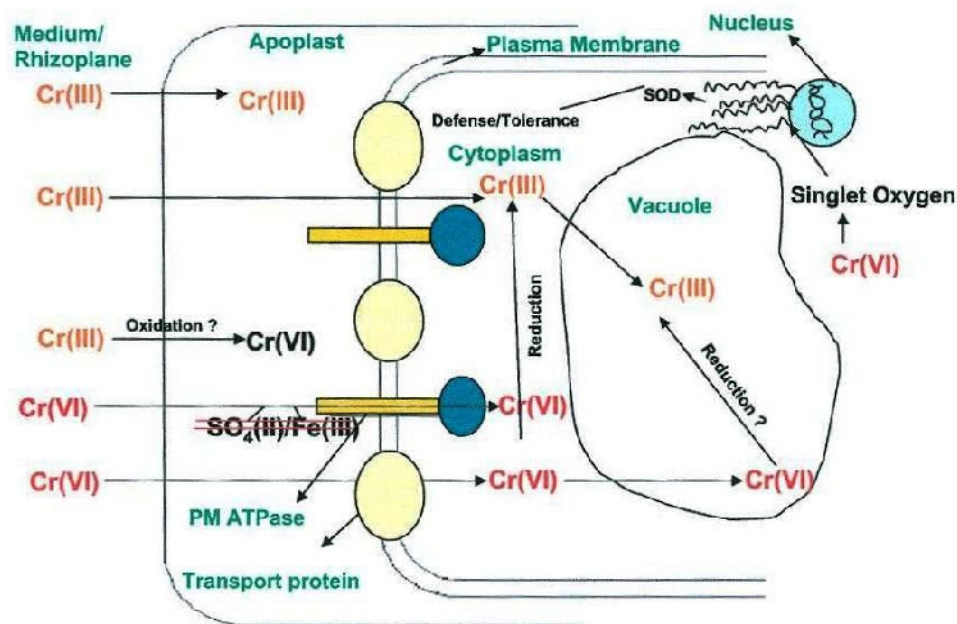
Η πρώτη αλληλεπίδραση του Cr με τα φυτά γίνεται κατά τη διαδικασία πρόσληψής του. Το Cr είναι ένα στοιχείο τοξικό και μη αναγκαίο για τα φυτά. Κατά συνέπεια, τα φυτά δεν διαθέτουν ειδικούς μηχανισμούς για την πρόσληψή του, η οποία γίνεται μέσω μεταφορέων (carriers) που χρησιμοποιούνται για την πρόσληψη αναγκαίων, για τα φυτά, μετάλλων. Οι τοξικές επιπτώσεις του Cr εξαρτώνται από το σθένος του, το οποίο προσδιορίζει και την πρόσληψη, τη μετακίνηση και τη συσσώρευση του στοιχείου, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.1. Το μονοπάτι μεταφοράς του Cr(VI) είναι ένας ενεργός μηχανισμός που περιλαμβάνει, ως μεταφορείς, αναγκαία ανιόντα, όπως τα θειικά⁴⁰. Ο σίδηρος, το θείο και ο φωσφόρος συναγωνίζονται με το Cr για ένωση με τους μεταφορείς⁴¹.

Η πρόσληψη και συσσώρευση Cr από διάφορους καρπούς έχει ερευνηθεί αρκετά. Μηχανισμοί ανεξάρτητης πρόσληψης για το Cr(VI) και το Cr(III) έχουν αναφερθεί για το κριθάρι. Η χρήση μεταβολικών αναστολέων (metabolic inhibitors) διακόπτουν την πρόσληψη Cr(VI) ενώ δεν επηρεάζουν την πρόσληψη Cr(III), γεγονός που καταδεικνύει ότι η πρόσληψη Cr(VI) εξαρτάται από την ενέργεια μεταβολισμού ενώ του Cr(III) όχι⁴².

Στα 7 από τα 10 φυτά που έχουν αναλυθεί, και αναφέρονται στη βιβλιογραφία, περισσότερο Cr συσσωρεύεται όταν αυτά καλλιεργούνται με προσθήκη Cr(VI) παρά με προσθήκη Cr(III)⁴³. Οι Skeffington et al.⁴² κάνοντας χρήση ραδιενεργού ⁵¹Cr ανακάλυψαν ότι το Cr μεταφέρεται κύρια μέσω του ξυλήματος (xylem) των φυτών. Οι Golovatyj et al.⁴⁴ απέδειξαν ότι η κατανομή

του Cr μέσα στα φυτά είναι σταθερή και δεν εξαρτάται από τις ιδιότητες του χώματος και τη συγκέντρωση του Cr σε αυτό. Η μέγιστη ποσότητα του στοιχείου συγκεντρωνόταν πάντοτε στις ρίζες και η ελάχιστη στα βλαστικά (vegetative) και αναπαραγωγικά (reproductive) όργανα. Στα φασόλια, μόνο το 0,1% του Cr που συσσωρεύτηκε βρέθηκε στα σπέρματα (seeds) ενώ το 98% βρέθηκε στις ρίζες⁴⁵.

Η αιτία της υψηλής συγκέντρωσής του στις ρίζες των φυτών μπορεί να είναι ότι το Cr ακινητοποιείται μέσα στα χυμοτόπια (vacuoles) των κυττάρων των ριζών, καθιστώντας το έτσι λιγότερο τοξικό, γεγονός που μπορεί να οφείλεται σε φυσική αντίδραση του φυτού στην τοξικότητα⁴⁶. Καθώς και το Cr(VI) και το Cr(III) πρέπει να περάσουν την ενδοδερμίδα μέσω του συμπλάστη (symplast), το Cr(VI) πιθανόν να ανάγεται εύκολα σε Cr(III) το οποίο συγκρατείται στα κύτταρα του φλοιού (cortex) της ρίζας, όταν οι συγκεντρώσεις του Cr(VI) είναι χαμηλές, το οποίο εξηγεί, εν μέρει, και τη χαμηλότερη τοξικότητα του Cr(III) (βλ. Σχήμα 1.1). Τα ανώτερα αγγειώδη (vascular) φυτά δεν διαθέτουν ένζυμα που ανάγουν το Cr(VI), σε αντίθεση με τα κατώτερα, όπως τα βακτήρια και οι μύκητες⁴⁰.



Medium Rhizoplane = τμήμα της ρίζας των φυτών που βρίσκεται στην επιφάνεια του εδάφους όπου πολλοί μικροοργανισμοί εισχωρούν σε αυτή
 Apoplast = αποπλαστική κίνηση
 Plasma membrane (PM) = κυτταροπλάσματική μεμβράνη
 Nucleus = πυρήνας
 SOD (superoxide dismutase) = υπεροξειδική δισμουτάση (ένζυμο αντιοξειδωτικής προστασίας των κυττάρων)
 Singlet Oxygen = μονοατομικό οξυγόνο
 Vacuole = χυμοτόπιο
 Transport protein = πρωτεΐνη μεταφοράς
 PM ATPase = ΑΤΡάση της πλάσματικής μεμβράνης (ένζυμο υδρόλυσης της ATP, όπου ATP = τριφωσφορική αδενοσίνη)

Σχήμα 1.1: Υποθετικό μοντέλο μεταφοράς και τοξικότητας Cr στις ρίζες των φυτών⁴⁷

1.4.2 Προσρόφηση, μετακίνηση και συσσώρευση Ni

Το νικέλιο έχει αναγνωριστεί ως συστατικό μίας σειράς ενζύμων, μεταξύ των οποίων οι γλυοξυλάσες (οικογένεια I), οι πεπτιδικές δεφορμυλάσες, οι ουρεάσες και μερικές υπεροξειδικές δισμουτάσες και υδρογενάσες^{48,49}. Κατά συνέπεια, το Ni παίζει ρόλο σε μερικές σημαντικές μεταβολικές διεργασίες, μεταξύ των οποίων η ουρεόλυση, ο μεταβολισμός υδρογόνου, η βιογένεση του μεθανίου κ.λπ.⁵⁰⁻⁵³.

Η πρόσληψη του Ni στα φυτά πραγματοποιείται κυρίως από τα ριζικά συστήματα μέσω παθητικής διάχυσης και ενεργού μεταφοράς^{54,55}.

Η αναλογία της πρόσληψης ανάμεσα στην ενεργή και παθητική μεταφορά ποικίλει στα διάφορα είδη των φυτών, τη μορφή στην οποία βρίσκεται το νικέλιο, τη συγκέντρωση του στο χώμα ή στο υδατικό διάλυμα θρεπτικών⁵⁶.

Για παράδειγμα, οι διαλυτές ενώσεις του Ni μπορούν να απορροφηθούν μέσω του συστήματος μεταφοράς κατιόντων. Καθώς ο Cu^{2+} και ο Zn^{2+} εμποδίζουν πλήρως την πρόσληψη του Ni^{2+} , τα τρία αυτά μεταλλικά ιόντα φαίνεται ότι απορροφώνται μέσω του ίδιου συστήματος μεταφοράς⁵⁷⁻⁵⁹. Επιπλέον, οι διαλυτές ενώσεις νικελίου μπορούν να απορροφηθούν και μέσω του συστήματος μεταφοράς ιόντων Mg λόγω της παραπλήσιας αναλογίας σθένους/μέγεθος των δύο ιόντων (Ni και Mg)⁶⁰. Παρά ταύτα, το Mg^{2+} δεν εμποδίζει την απορρόφηση Ni^{2+} ^{57,58}. Ενεργή μεταφορά χηλικού Ni^{2+} είναι επίσης δυνατή μέσω πρωτεϊνών που δεσμεύουν το Ni⁶¹⁻⁶⁶.

Το Ni μεταφέρεται από τις ρίζες στους κορμούς⁶⁷ και τα φύλλα⁶⁸ μέσω του ρεύματος διαπνοής από το ξύλημα (xylem)⁶⁹. Παρέχεται στα μεριστηματικά (meristematic) μέρη των φυτών μέσω αναμετακίνησης (retranslocation) από τα παλιά στα νέα φύλλα και, μέσω του φλοιώματος, παρέχεται στους βλαστούς και τα φρούτα^{51,70-72}. Η μεταφορά αυτή σχετίζεται έντονα με κάποια σύμπλοκα υποκαταστατών με μέταλλα (metal-ligand complexes) και πρωτεΐνες που δεσμεύουν ειδικά το Ni⁷³⁻⁷⁸.

Περισσότερο από το 50% του Ni που απορροφάται από τα φυτά συγκρατείται στις ρίζες⁵⁷. Επίσης, ένα υψηλό ποσοστό (περισσότερο από 80%) του Ni στις ρίζες βρίσκεται στον αγγειακό κύλινδρο (vascular cylinder) των ριζών ενώ λιγότερο από 20% συσσωρεύεται στο φλοιό τους.

1.5 Επιπτώσεις Cr, Ni και άλλων βαρέων μετάλλων στα φυτά. Οξειδωτικό στρες. Παραγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων

Το Ni θεωρείται ανάμεσα στα 23 μέταλλα-ρυπαντές με τη μεγαλύτερη σημασία στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον^{79,80}. Είναι ένα φυσικό συστατικό του χώματος και του νερού, αποτελεί το 0,008% του φλοιού της γης, ενώ είναι το 24^ο περισσότερο εμφανιζόμενο στοιχείο στη φύση^{81,82}.

Το Ni θεωρείται ένα σημαντικό θρεπτικό στοιχείο για τα φυτά, το οποίο έχει πολλές βιολογικές λειτουργίες⁸³ και τα φυτά δεν μπορούν να ολοκληρώσουν τον κύκλο ζωής τους χωρίς την παρουσία του⁸⁴.

Παρά το γεγονός ότι μικρές συγκεντρώσεις Ni είναι αναγκαίες για την κανονική ανάπτυξη των φυτών, υψηλές συγκεντρώσεις έχουν τοξικές επιπτώσεις σε αυτά, με συμπτώματα όπως μειωμένη ανάπτυξη ριζών και κορμών, μειωμένη παραγωγή βιομάζας, χλώρωση και τελικά νέκρωση⁸⁵⁻⁸⁷.

Τα βαρέα μέταλλα, μεταξύ των οποίων και το Ni, προκαλούν οξειδωτικό στρες στα φυτά μέσω της παραγωγής ελευθέρων ριζών^{88,89}.

Υπερβολική ποσότητα Ni οδηγεί σε σημαντικές αυξήσεις των συγκεντρώσεων των ριζών υδροξυλίου, ιόντων υπεροξειδίου, μονοξειδίου του αζώτου και υπεροξειδίου του υδρογόνου⁹⁰⁻⁹².

Το Ni δεν μπορεί να δημιουργήσει, απ' ευθείας, δραστικές μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) καθώς είναι οξειδοαναγωγικά αδρανές μέταλλο⁹³ αλλά αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η καταλάση (CAT) και υπεροξειδάση (POX) διεγείρονται από το στρες νικελίου⁹⁴.

Η καταλάση και η υπεροξειδάση μπορούν να μειώσουν δραστικά υψηλές συγκεντρώσεις H_2O_2 , μετατρέποντάς το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε H_2O και O_2 και έτσι να βοηθήσουν τα φυτά να αντέχουν στις δηλητηριώδεις επιπτώσεις των υπερβολικών επιπέδων νικελίου⁹⁵.

Παρά τη διέγερση των αντιοξειδωτικών ενζύμων και την αύξηση της δραστηρότητάς τους, η περίσσεια νικελίου τελικά μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες όπως έχει αποδειχθεί σε έρευνες από την τελική αύξηση της υπεροξειδωσίας των λιποειδών και της συγκέντρωσης H_2O_2 ⁹⁶.

Το Cr βρίσκεται παντού στο περιβάλλον όπως στον αέρα, το νερό και το έδαφος. Το εξασθενές χρώμιο είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό με ένα υψηλό οξειδοαναγωγικό δυναμικό μεταξύ 1,33-1,38 eV, που οδηγεί σε γρήγορη και υψηλή παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) και κατά συνέπεια σε τοξικότητα⁴⁶.

Οι ενώσεις του Cr είναι ιδιαίτερα τοξικές στα φυτά και επιβλαβείς για την ανάπτυξή τους⁴⁷.

Η ενεργοποίηση της υπεροξειδικής δισμουτάσης και της αντιοξειδωτικής καταλάσης είναι ένας από τους κύριους μηχανισμούς των φυτών για να αποτοξινωθούν από τα μέταλλα⁹⁷.

Η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων αυξάνει σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων αλλά σε υψηλότερες συγκεντρώσεις π.χ. η δραστηριότητα της υπεροξειδικής δισμουτάσης δεν αυξάνεται περισσότερο ενώ η δραστηριότητα της καταλάσης μειώνεται⁹⁸.

Η αύξηση στη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων, η οποία παρατηρείται όταν αυξάνονται τα επίπεδα Cr στα φυτά είναι πιθανόν ανάλογη της παραγωγής ελεύθερων ριζών υπεροξειδίου που οφείλεται στην παρεμπόδιση/αναστολή της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, λόγω του Cr. Η μεγαλύτερη παραγωγή ριζών υπεροξειδίου που παρατηρείται μέσω προσθήκης Cr(VI) σε σχέση με την αντίστοιχη προσθήκη Cr(III) καταδεικνύει ότι το Cr(VI) πιθανόν παράγει περισσότερο ατομικό οξυγόνο σε σχέση με το Cr(III). Το Cr(III), αν είναι παρόν σε υψηλές συγκεντρώσεις, εκτός από την παραγωγή ελεύθερων μορφών οξυγόνου μπορεί να προκαλέσει τοξικές επιπτώσεις στα φυτά, λόγω της δυνατότητάς του να επηρεάζει την παραγωγή διαφόρων οργανικών ενώσεων, γεγονός το οποίο οδηγεί στην παρεμπόδιση κάποιων μεταλλοενζυμικών συστημάτων. Υψηλές συγκεντρώσεις ελεύθερων μορφών οξυγόνου, σε κυτταρικό επίπεδο, εκτός από την πρόκληση οξειδωτικού στρες, μπορούν να λειτουργήσουν ως οξειδωτικό μέσο, με αποτέλεσμα την οξείδωση του Cr(III) σε Cr(VI), μία ενδογενή οξείδωση η οποία δεν μπορεί να αποκλειστεί⁴⁷.

Μία αναπόφευκτη πηγή εισόδου βαρέων μετάλλων στην τροφική αλυσίδα είναι τα λαχανικά και ιδιαίτερα τα φυτά βολβοί, όπως οι πατάτες και τα κρεμμύδια.

Την ίδια στιγμή, τα λαχανικά θεωρούνται πολύ καλές πηγές αντιοξειδωτικών για την ανθρώπινη υγεία. Η κατανάλωση πλήρων τροφών, πλούσιων σε φυσικά αντιοξειδωτικά, συμπεριλαμβανομένων των θρεπτικών (π.χ. βιταμίνες) και τα φυτο-χημικά (π.χ. πολυφαινόλες) προτείνεται ευρέως από πολλούς Οργανισμούς υγείας. Ο ανθρώπινος οργανισμός δεν είναι δυνατόν να συνθέσει αυτές τις αντιοξειδωτικές ενώσεις *de novo* ενώ οι φυτικές τροφές, όπως οι πατάτες και τα κρεμμύδια, αποτελούν καλές φυσικές πηγές⁹⁹.

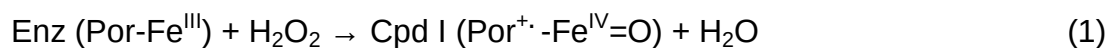
Έτσι, ένα σημαντικό θέμα που πρέπει να εξεταστεί είναι η επίπτωση αυξημένων συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων στην ποιότητα των λαχανικών.

1.6 Καταλάση και υπεροξειδάση. Μηχανισμός κατάλυσης της διάσπασης υπεροξειδίου του υδρογόνου

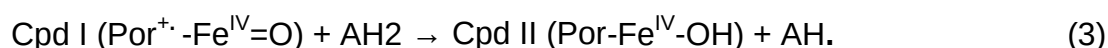
Οι καταλάσες και υπεροξειδάσες (KatGs) είναι αιμοπρωτεΐνες που ανήκουν στην κατηγορία I (class I) της οικογένειας των υπεροξειδασών (φυτά, μύκητες και βακτήρια)¹⁰⁰.

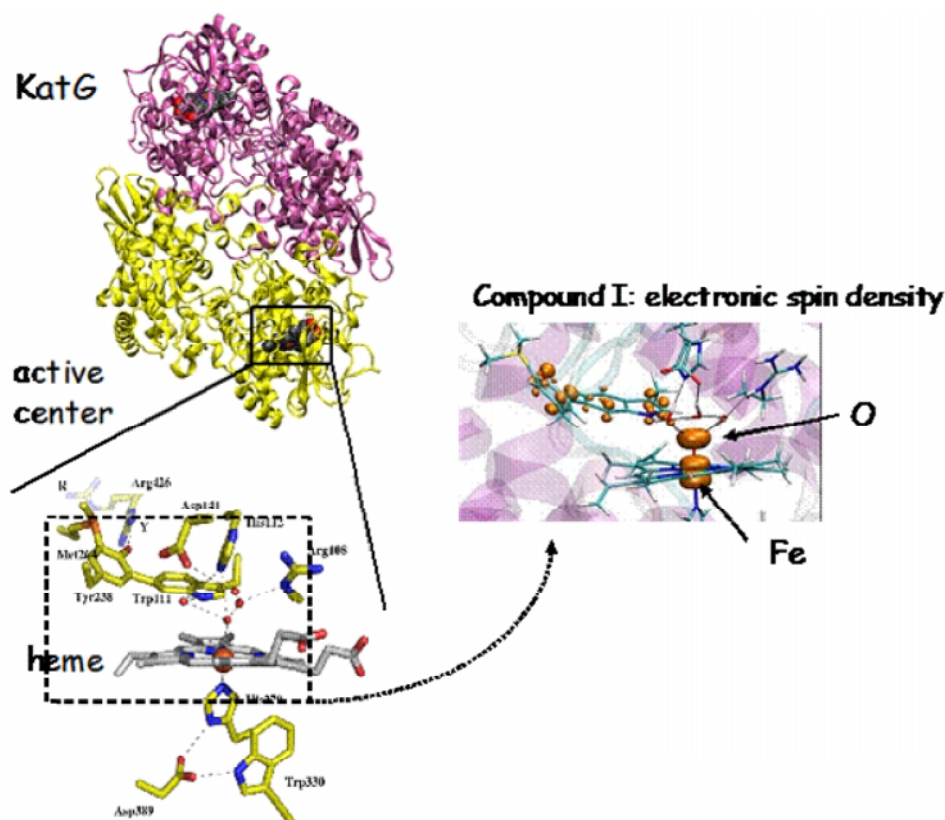
Οι αντιδράσεις και των δύο ενζύμων (καταλάση, υπεροξειδάση) περιέχουν κοινό το πρώτο στάδιο, κατά το οποίο οξειδώνεται ο σίδηρος της αίμης, με χρήση ενός μορίου H_2O_2 ως υπόστρωμα αντίδρασης, για το σχηματισμό ενός σωματιδίου (oxoferryl) με ένα οξειδωτικό ισοδύναμο στο σίδηρο και ένα δεύτερο οξειδωτικό ισοδύναμο στην κατιονική ρίζα της αίμης (Compound I, Cpd I) (αντίδραση 1).

Όσον αφορά τη δράση των διαφόρων ειδών καταλάσης ισχύουν τα εξής: το δεύτερο στάδιο της αντίδρασης, δηλαδή της αναγωγής της Ένωσης I (Cpd I) περιλαμβάνει ένα δεύτερο μόριο υπεροξειδίου του υδρογόνου, ως δότη δύο ηλεκτρονίων που παρέχει δύο οξειδωτικά ισοδύναμα (αντίδραση 2).



Στην περίπτωση των διαφόρων ειδών υπεροξειδάσης υπάρχει διαφοροποίηση όσον αφορά την αντίδραση 2. Έτσι, η Ένωση I (Cpd I) δέχεται, συνολικά τα δύο ηλεκτρόνια, σε δύο διαδοχικά στάδια (αντιδράσεις 3 και 4), συνήθως μέσω κάποιας οργανικής ένωσης, ως δότη ηλεκτρονίων, και περιλαμβάνει το σχηματισμό μίας ενδιάμεσης ένωσης καλούμενης ως Ένωση 2 (Cpd II)¹⁰¹.





Σχήμα 1.2: Απεικόνιση καταλασών και υπεροξειδασών. Αίμη στο ενεργό κέντρο και Ένωση I (Compound I)¹⁰².

1.7 Πρόσληψη βαρέων μετάλλων από καρότα, πατάτες και κρεμμύδια

Παρακάτω, παρατίθενται δεδομένα, από τη διεθνή βιβλιογραφία, που αφορούν την πρόσληψη βαρέων μετάλλων από πατάτες, καρότα και κρεμμύδια.

Σύνοψη των δεδομένων παρατίθεται και στον Πίνακα 1.1

1.7.1 Πατάτες

Εξετάστηκε η πρόσληψη βαρέων μετάλλων σε πατάτες μετά από μακροχρόνια χρήση λιπασμάτων (N, P και K, άχυρα και κοπριά χοίρων) στην Τσεχία. Το μεταλλικό περιεχόμενο των βολβών πατάτας δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την χρήση λιπασμάτων σε σχέση με το αντίστοιχο περιεχόμενο στα φυτά μάρτυρες. Οι συγκεντρώσεις Cd και As στους βολβούς κυμάνθηκαν μεταξύ 0,02 και 0,07 mg/kg και μεταξύ 0,03 και 0,07 mg/kg,

αντίστοιχα, ενώ οι συγκεντρώσεις Cu, Mn και Zn κυμάνθηκαν μεταξύ 3,5 και 5,7 mg/kg, 5,8 και 9,3 mg/kg και 13,6 και 24,5 mg/kg, αντίστοιχα. Η συγκέντρωση Pb κυμάνθηκε μεταξύ 0,49 και 1,37 mg/kg και υπερέβη το όριο που ισχύει στην Τσεχία (0,61 mg/kg) στο 83% των δειγμάτων πλην, όμως, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση του Pb από τη χρήση λιπασμάτων¹⁰³.

Εξετάστηκε η εξυγίανση εδάφους ρυπασμένου με βαρέα μέταλλα με χρήση ηλεκτροκινητικής εξυγίανσης και φυτοεξυγίανσης. Οι βολβοί καλλιεργήθηκαν σε θερμοκήπιο, μέσα σε πλαστικές γλάστρες, στις οποίες προστέθηκε χώμα ρυπασμένο με Zn, Pb, Cu και Cd. Σε τρεις από τις γλάστρες εφαρμόστηκε ηλεκτρικό πεδίο συνεχούς ρεύματος (DC), σε τρεις ηλεκτρικό πεδίο εναλλασσόμενου ρεύματος (AC) και σε τρεις δεν εφαρμόστηκε ηλεκτρικό πεδίο και χρησιμοποιήθηκαν ως γλάστρες μάρτυρες. Η παραγωγή ήταν κατά 72% μεγαλύτερη στις γλάστρες που εφαρμόστηκε εναλλασσόμενο ρεύμα και 27% μικρότερη στις γλάστρες που εφαρμόστηκε συνεχές, σε σχέση με τις γλάστρες μάρτυρες. Οι συγκεντρώσεις μετάλλων ήταν γενικά υψηλότερες στις ρίζες των φυτών που εφαρμόστηκε ηλεκτρικό πεδίο σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες ενώ στους κορμούς των φυτών οι μικρότερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκαν στα φυτά που επεξεργάστηκαν με συνεχές ρεύμα, ακόμη και σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση Zn στους κορμούς με χρήση AC (419,2 mg/kg ξηρού βάρους) ήταν μεγαλύτερη σε σχέση τους κορμούς των φυτών μαρτύρων (345,1 mg/kg) και του αντίστοιχους κορμούς με χρήση DC (254,0 mg/kg), παρά το γεγονός ότι η πρόσληψη Zn και Cu από τις ρίζες φυτών με χρήση AC (822,5 mg/kg, 58,9 mg/kg, αντίστοιχα) και DC (787,8 mg/kg, 59,6 mg/kg, αντίστοιχα) ήταν σχεδόν ίδια, ενώ και οι δύο ήταν μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις στα φυτά μάρτυρες (552,8 mg/kg, 51,8 mg/kg, αντίστοιχα). Η συγκέντρωση Cd στις ρίζες φυτών και στις τρεις περιπτώσεις εφαρμογής ήταν μεγαλύτερη από αυτήν στο χώμα των γλαστρών (2-17 mg/kg), ενώ τα επίπεδα Pb στις ρίζες και τους κορμούς ήταν χαμηλότερα από αυτά του χώματος που καλλιεργήθηκαν (721-1.275 mg/kg)¹⁰⁴.

Αξιολογήθηκε η συσχέτιση μεταξύ διαφόρων φυσικοχημικών παραμέτρων του χώματος και της πρόσληψης βαρέων μετάλλων σε φυτά, μεταξύ των οποίων

και οι πατάτες, τα οποία καλλιεργήθηκαν σε εδάφη διαφορετικού τύπου. Τα εδάφη αυτά ήταν: α) Alfisols, αργιλικά εδάφη με $pH < 5,5$, τα οποία συναντώνται στην Καρδίτσα, β) Endisols, αμμώδη εδάφη με $pH = 6,5-7,5$, τα οποία συναντώνται στα Τρίκαλα και γ) Vertisols, αργιλικά εδάφη με υψηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου, τα οποία συναντώνται στη Λάρισα. Μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις Zn, Cu, Cr και Ni στα καλλιεργούμενα φυτά. Οι πατάτες που καλλιεργήθηκαν σε χώμα τύπου Alfisol είχαν το υψηλότερο μεταλλικό περιεχόμενο. Συγκεκριμένα, η μέση συγκέντρωση Zn στις πατάτες χώματος Alfisol ήταν $0,222 \mu g/g$, ενώ οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις σε πατάτες χώματος Endisol και Vertisol βρέθηκαν $0,201 \mu g/g$ και $0,185 \mu g/g$, αντίστοιχα. Η μέση συγκέντρωση Cu στις πατάτες χώματος Alfisol ήταν $0,144 \mu g/g$, ενώ στις πατάτες Endisol και Vertisol ήταν $0,101 \mu g/g$ και $0,122 \mu g/g$, αντίστοιχα. Η μέση συγκέντρωση Cr στις πατάτες χώματος Alfisol ήταν $0,115 \mu g/g$ σε σύγκριση με $0,089 \mu g/g$ και $0,101 \mu g/g$ στα φυτά χώματος Endisol και Vertisol, αντίστοιχα, ενώ η μέση συγκέντρωση Ni στις πατάτες χώματος Alfisol ήταν $0,100 \mu g/g$ και ήταν $0,057 \mu g/g$ και $0,081 \mu g/g$ για Endisol και Vertisol, αντίστοιχα. Οι παράμετροι του χώματος που επηρέασαν τη διαλυτότητα και κινητικότητα των μετάλλων και τη μετέπειτα πρόσληψή τους από τα φυτά ήταν το pH και το αργιλικό περιεχόμενο¹⁰⁵.

Η συσσώρευση και κατανομή του Cd εντός του φυτού της πατατιάς ερευνήθηκε σε δύο ποικιλίες πατάτας ("Wilwash" and "Kennebec") οι οποίες είχαν διαφορετικές συγκεντρώσεις Cd στους βολβούς τους. Τα φυτά καλλιεργήθηκαν σε χώμα το οποίο ήταν ρυπασμένο με Cd. Η κατανομή της συγκέντρωσης Cd μέσα στο φυτό βρέθηκε ότι ακολουθεί την εξής σειρά: ρίζες > κορμοί > βολβοί, ενώ η αύξηση της συγκέντρωσης Cd στους βολβούς οδηγούσε και σε αντίστοιχη αύξηση του συνολικού Cd στο φυτό. Η συγκέντρωση Cd στην ποικιλία "Wilwash" βρέθηκε $9,0 \mu g/g$, ενώ στην ποικιλία "Kennebec" ήταν $2,7 \mu g/g$. Επίσης, βρέθηκε ότι διαφορές στη συγκέντρωση Cd μεταξύ των δύο ποικιλιών υπήρχε και στα διαφορετικά μέρη του φυτού¹⁰⁶.

Αξιολογήθηκε το περιεχόμενο των πατατών σε βαρέα μέταλλα στα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε χώμα που βρίσκεται στην κοίτη ρυπασμένου ποταμού, ο οποίος κατά περιόδους πλημμυρίζει και τα αρδεύει. Τα επίπεδα Cd, Zn, Pb,

Cu και As στο ίζημα (καθιζάνουσα λάσπη) του ποταμού ήταν σημαντικά υψηλότερα (82%, 51%, 42%, 36% και 17%, αντίστοιχα) σε σύγκριση με το υποκείμενο χώμα στον πυθμένα του ποταμού. Οι συγκεντρώσεις Cd στις πατάτες κυμάνθηκαν μεταξύ 0,02 και 0,12 mg/kg νωπού βάρους. Οι συγκεντρώσεις χαλκού κυμάνθηκαν μεταξύ 1,36 και 1,65 και μεταξύ 1,8 και 6,1 mg/kg νωπού βάρους, αντίστοιχα, ενώ οι συγκεντρώσεις Pb ήταν μικρότερες από το όριο ανίχνευσης¹⁰⁷.

Μετρήθηκε η πρόσληψη Cd, Pb, και Zn σε πατάτες καλλιεργημένες σε χώμα ρυπασμένο με σκόνη προερχόμενη από αέριους ρύπους χυτηρίου. Το χώμα είχε υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (Cd 3,2-106 mg/kg, Pb 146-3.452 mg/kg και Zn 465-11.375 mg/kg). Στο χώμα είχε, επίσης, προστεθεί και ποσότητα σκόνης από χυτήριο που περιείχε Pb και Zn (2 και 66,8 kg ανά 10 m² επιφάνεια). Οι ποσότητες Cd στους βολβούς πατάτας αυξάνονταν ανάλογα με την ποσότητα εφαρμοζόμενης σκόνης χυτηρίου. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις Cd στους βολβούς κυμάνθηκαν μεταξύ 0,37 και 3,21 mg/kg (ξηρό βάρος), ενώ στις ξεφλουδισμένες πατάτες ήταν μεταξύ 0,42 και 1,67 mg/kg για καλλιέργεια βολβών στο ρυπασμένο χώμα σε σύγκριση με τις μέσες τιμές Cd 0,15 mg/kg και 0,16 mg/kg, αντίστοιχα, για βολβούς που καλλιεργήθηκαν σε καθαρό χώμα. Η σύγκριση στις συγκεντρώσεις Cd ανάμεσα στις ξεφλουδισμένες και μη πατάτες έδειξε ότι το 50% του Cd οφείλεται στις ρυπασμένες με Cd φλούδες πατάτας, λόγω της επαφής τους με το χώμα. Οι συγκεντρώσεις Zn στις μη ξεφλουδισμένες πατάτες κυμάνθηκαν μεταξύ 40 και 172 mg/kg, ενώ στις ξεφλουδισμένες μεταξύ 32 και 55 mg/kg, στο ρυπασμένο χώμα, ενώ οι μέσες συγκεντρώσεις στα φυτά-μάρτυρες ήταν 25 mg/kg και 23 mg/kg, αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις Pb στις μη ξεφλουδισμένες πατάτες κυμάνθηκαν μεταξύ 0,6 και 15,4 mg/kg, ενώ στις ξεφλουδισμένες μεταξύ 0,2 και 0,9 mg/kg, στα φυτά του ρυπασμένου χώματος, ενώ οι μέσες συγκεντρώσεις στα φυτά μάρτυρες ήταν 0,2 mg/kg για ξεφλουδισμένους και μη βολβούς. Η μειωμένη παραγωγή καρπών στα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε ρυπασμένο χώμα, σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες, οφείλεται μάλλον σε έλλειψη θρεπτικών και όχι στην φυτοτοξικότητα λόγω υψηλών συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων στο χώμα¹⁰⁸.

Ερευνήθηκε η συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης Cd από τις πατάτες και του pH του εδάφους, σε δύο είδη εδαφών στα οποία έγινε προσθήκη δευτεροβάθμιας ιλύος από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων. Η παραγωγή πατάτας αυξήθηκε σημαντικά με παράλληλη αύξηση του pH του εδάφους με βέλτιστο pH μεταξύ 6,5 και 7. Οι συγκεντρώσεις Cd στις φλούδες πατάτας ήταν σημαντικά μεγαλύτερες σε σχέση με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις στις ξεφλουδισμένες πατάτες. Ειδικότερα, οι συγκεντρώσεις Cd στους βολβούς ήταν από 0,26 έως 0,16 mg/kg και από 0,11 έως 0,07 mg/kg, ενώ στις φλούδες ήταν από 0,96 έως 0,40 mg/kg και από 0,21 έως 0,14 mg/kg, για τιμές pH 5 και 7, αντίστοιχα¹⁰⁹.

Ερευνήθηκε η πρόσληψη As από πατάτες που καλλιεργήθηκαν σε αλκαλικά εδάφη ρυπασμένα με As. Η συγκέντρωση του As στο νερό και στο ρυπασμένο χώμα ήταν από <0,005 έως 1,014 mg/L, και από 6,1 έως 16,7 mg/kg, αντίστοιχα. Η συγκέντρωση του As στα διάφορα μέρη του φυτού ακολούθησε την εξής σειρά ρίζες>καρποί>φύλλα>βολβοί, ενώ η μεγαλύτερη συγκέντρωση As βρέθηκε στις ρίζες και ήταν 0,79 mg/kg ξηρού βάρους και προήλθε από πότισμα με νερό συγκέντρωσης As 1,014 mg/L¹¹⁰.

Ερευνήθηκε η πρόσληψη Cd σε πατάτες και άλλα φυτά τα οποία καλλιεργήθηκαν σε αμμώδη και αμμοαργιλώδη εδάφη. Η συγκέντρωση Cd στις πατάτες παρουσίασε εκθετική αύξηση όσο το βάθος καλλιέργειας της πατάτας, στο χώμα, ήταν μεγαλύτερο, λόγω και της αύξησης της συγκέντρωσης Cd στο χώμα σε μεγαλύτερα βάθη. Οι συγκεντρώσεις Cd κυμάνθηκαν μεταξύ 0,17 και 0,72 mg/kg και μεταξύ 0,09 και 0,76 mg/kg (ξηρό βάρος) σε πατάτες που καλλιεργήθηκαν σε αμμώδη και αμμοαργιλώδη εδάφη, αντίστοιχα¹¹¹.

Σε άλλη ερευνητική εργασία αποδείχθηκε ότι η κάλυψη ρυπασμένων χωμάτων με ένα στρώμα μη ρυπασμένου αργιλικού χώματος οδηγεί σε μείωση της πρόσληψης βαρέων μετάλλων από τα φυτά. Στην αρχική καλλιέργεια οι πατάτες που καλλιεργήθηκαν στο ρυπασμένο έδαφος είχαν συγκεντρώσεις ξηρού βάρους 0,47 mg/kg Cd, 12,5 mg/kg Cu και 24,4 mg/kg Zn, σε σύγκριση με 0,07 mg/kg, 3,81 mg/kg και 13,7 mg/kg, αντίστοιχα, για τις πατάτες που καλλιεργήθηκαν σε μη ρυπασμένο έδαφος. Σε επόμενη καλλιέργεια οι πατάτες που καλλιεργήθηκαν στο ρυπασμένο έδαφος είχαν

συγκεντρώσεις ξηρού βάρους 0,22 mg/kg Cd, 11,2 mg/kg Cu και 24 mg/kg Zn, σε σύγκριση με 0,06 mg/kg, 8,4 mg/kg και 16 mg/kg, αντίστοιχα, για τις πατάτες που καλλιεργήθηκαν σε μη ρυπασμένο έδαφος. Δοκιμάστηκε η προσθήκη καθαρού χώματος από 0 έως 100 cm. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι για πρόσθετο στρώμα καθαρού χώματος, ύψους 55 cm ή μείωση στην πρόσληψη Zn, Cu και Cd στις πατάτες, σε σχέση με τις πατάτες που καλλιεργήθηκαν σε ρυπασμένα εδάφη, ήταν αντίστοιχα 35%, 65% και 85%. Περαιτέρω αύξηση του ύψους προστιθέμενου χώματος, έως και τα 100 cm, επέφερε την πλήρη κάλυψη του ρυπασμένου χώματος, όσον αφορά την πρόσθετη πρόσληψη των παραπάνω βαρέων μετάλλων¹¹².

Ερευνήθηκαν οι επιπτώσεις από την εφαρμογή επεξεργασμένων υγρών αστικών αποβλήτων στην καλλιέργεια πατατών, καρότων και άλλων λαχανικών. Η άρδευση με επεξεργασμένα λύματα οδήγησε σε ρύπανση του εδάφους και σε επόμενη πρόσληψη βαρέων μετάλλων στα φυτά. Το περιεχόμενο σε Cd, Cr και Ni στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με επεξεργασμένα λύματα ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο από το αντίστοιχο στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με καθαρό νερό από τον υδροφόρο ορίζοντα. Η συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα φύλλα ήταν μεγαλύτερη από αυτήν στα αποθηκευτικά όργανα των φυτών κατά 140% έως 280%¹¹³.

Ερευνήθηκαν οι επιπτώσεις από τη μακροχρόνια εφαρμογή λιπασμάτων (κοπριά βοοειδών, $N_4P_2K_2$ και συνδυασμός των δύο) στην συγκέντρωση βαρέων μετάλλων σε ξεφλουδισμένες πατάτες και στις αντίστοιχες φλούδες. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις As, Cd, Cr, Cu, Mn, Pb, Ni και Zn μεταξύ των φυτών που καλλιεργήθηκαν με χρήση των παραπάνω λιπασμάτων. Οι συγκεντρώσεις Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, και Zn στις φλούδες πατάτας ήταν στατιστικά μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες στις ξεφλουδισμένες πατάτες¹¹⁴.

Έρευνα διεξήχθη στη λεκάνη της Θήβας προκειμένου να προσδιοριστεί η ρύπανση των χωμάτων από βαρέα μέταλλα και η συνακόλουθη πρόσληψή τους από τα φυτά, μεταξύ των οποίων και οι πατάτες. Οι συγκεντρώσεις ολικού Cr στους βολβούς (ανηγμένες σε ξηρό βάρος) κυμάνθηκαν μεταξύ 1,7 και 4,1 mg/kg (μέση τιμή 2,2 mg/kg), ενώ του εξασθενούς χρωμίου κυμάνθηκαν μεταξύ 0,15 και 0,27 mg/kg (μέση τιμή 0,23 mg/kg). Τα επίπεδα

Ni κυμάνθηκαν μεταξύ 1,8 και 8,6 mg/kg (μέση τιμή 4,8 mg/kg, ξηρού βάρους), ενώ οι συγκεντρώσεις Cu και Zn κυμάνθηκαν μεταξύ 2,2 και 8,8 mg/kg (μέση τιμή 5 mg/kg) και από 12 έως 27 mg/kg (μέση τιμή 21 mg/kg), αντίστοιχα. Το αντίστοιχο εύρος τιμών για το Mn ήταν 6 έως 9 mg/kg (μέση τιμή 7,5 mg/kg)¹¹⁵.

Οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων σε πατάτες που καλλιεργήθηκαν στην ευρύτερη περιοχή του Ασωπού, ερευνήθηκαν στο Τμήμα Χημείας (Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων και Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας) του ΕΚΠΑ, προκειμένου να συσχετιστούν με την ρύπανση του υδροφόρου ορίζοντα της περιοχής. Τα επίπεδα Ni στις πατάτες από τη Βοιωτία ήταν στατιστικά υψηλότερα από αυτά των πατατών που καλλιεργήθηκαν σε μη ρυπασμένες περιοχές. Η μέση συγκέντρωση Ni (νωπό βάρος) στις πατάτες Βοιωτίας ήταν 800 μg/kg, δηλαδή έως και 9 φορές μεγαλύτερη από την αντίστοιχη στα φυτά-μάρτυρες (78 μg/kg). Η μέση συγκέντρωση Cr στις πατάτες Βοιωτίας ήταν 63 μg/kg, ενώ στα δείγματα - μάρτυρες ήταν μη ανιχνεύσιμη (<10 μg/kg)¹¹⁶.

1.7.2 Καρότα

Η άρδευση καρότων με υγρά απόβλητα προκάλεσε αλλαγές στις φυσικοχημικές ιδιότητες του χώματος και στη συνέχεια οδήγησε σε αύξηση της πρόσληψης των βαρέων μετάλλων από τα φυτά. Τα καρότα που καλλιεργήθηκαν με χρήση αποβλήτων είχαν στατιστικά σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις Cu (μέση τιμή 16,8 mg/kg) και Zn (μέση τιμή 46,4 mg/kg) σε σχέση με αυτά που καλλιεργήθηκαν με χρήση καθαρού νερού, ενώ η συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στα φυτά ακολούθησε τη σειρά Fe > Zn > Mn > Cu. Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά για τα υπόλοιπα βαρέα μέταλλα που αναλύθηκαν στα καρότα, παρά το γεγονός ότι οι συγκεντρώσεις ήταν μεγαλύτερες στα φυτά που αρδεύτηκαν με υγρά απόβλητα, σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες¹¹⁷.

Σε άλλη μελέτη, καρότα (μεταξύ άλλων φυτών) καλλιεργήθηκαν σε ρυπασμένο ίζημα από τον ποταμό του Illinois και σε καθαρό χώμα. Τα φυτά αναλύθηκαν για 19 ιχνοστοιχεία, μεταξύ των οποίων As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mo,

Ni, Pb, Se, και Zn. Οι ρίζες των καρότων που βλάστησαν σε γλάστρες με ίζημα ποταμού απορρόφησαν σημαντικά υψηλότερες ποσότητες B (36,8 mg/kg), Ba (53,3 mg/kg), Cu (8,5 mg/kg), Mn (10,4 mg/kg) και Ti (12,5 mg/kg) (αναγωγή σε ξηρό βάρος φυτού) από τις ρίζες καρότων που καλλιεργήθηκαν σε γλάστρες με καθαρό χώμα (25,2, 37,0, 6,1, 7,1, 5,0 mg/kg, αντίστοιχα)¹¹⁸.

Μελετήθηκε η πρόσληψη Pb και As σε καρότα και άλλα λαχανικά τα οποία καλλιεργούνται σε ρυπασμένο χώμα. Τα φυτά καλλιεργήθηκαν σε θερμοκήπιο, σε χώμα-μάρτυρα και σε χώμα ρυπασμένο από το Barber Orchard, NC, ΗΠΑ. Οι συγκεντρώσεις Pb και As ήταν κάτω από τα όρια ανίχνευσης του οργάνου μέτρησης (5 μg/g και 15 μg/g, αντίστοιχα) στο χώμα-μάρτυρα και στα αντίστοιχα φυτά. Η μέση συγκέντρωση Pb στο ρυπασμένο χώμα και στα καρότα που καλλιεργήθηκαν σε αυτό ήταν 585 μg/g και 20 μg/g, αντίστοιχα. Παρά το γεγονός ότι η συγκέντρωση As στο ρυπασμένο χώμα ήταν πάνω από το όριο ανίχνευσης του οργάνου (178 μg/g), η συγκέντρωση As στις ρίζες καρότων ήταν κάτω από το όριο αυτό¹¹⁹.

Σύμφωνα με άλλη έρευνα, η συγκέντρωση βαρέων μετάλλων σε καρότα που καλλιεργήθηκαν σε χώμα ρυπασμένο με βιομηχανική σκωρία που περιείχε βαρέα μέταλλα, ήταν σημαντικά αυξημένη σε σχέση με τα καρότα που καλλιεργήθηκαν σε καθαρό χώμα-μάρτυρα. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις As, Cu, Pb, Ti και Zn στα φυτά του καθαρού χώματος ήταν 0,11, 5,1, 0,27, 0,08 και 16 mg/kg (επί ξηρού βάρους), αντίστοιχα, σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές βαρέων μετάλλων 1,2, 7,2, 9,1, 6,5 και 63 mg/kg στα καρότα που καλλιεργήθηκαν σε μίγμα χώματος/κόκκινης σκωρίας και 0,36, 8,1, 4,1, 0,75 και 45 mg/kg στα καρότα που καλλιεργήθηκαν σε μίγμα χώματος/μαύρης σκωρίας (η κόκκινη σκωρία περιείχε σημαντική ποσότητα σιδήρου, ενώ η μαύρη σκωρία σημαντική ποσότητα άνθρακα, εκτός από βαρέα μέταλλα)¹²⁰.

Καρότα καλλιεργήθηκαν σε χώματα ρυπασμένα με τέσσερα βαρέα μέταλλα (Zn, Se, Mo, Cr) με διαφορετικά επίπεδα ρύπανσης (0, 90, 270, και 810 kg/ha) για κάθε ένα από τα παραπάνω μέταλλα. Η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων από τα χώματα ακολούθησε την εξής σειρά: Zn>Se>Mo>Cr και αυξανόταν με την αύξηση της δόσης βαρέων μετάλλων στο έδαφος (η μέγιστη πρόσληψη μετάλλων παρατηρήθηκε σε προσθήκη 810 kg/ha μετάλλων στο χώμα). Οι μέγιστες συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν στις ρίζες καρότων ήταν

99,0, 63, και 34 mg/kg για τα βαρέα μέταλλα Mo, Se, και Zn, αντίστοιχα, για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε χώμα με τη μεγαλύτερη δόση (810 kg/ha)¹²¹.

Ερευνήθηκε η βιοσυσώρευση Cd σε καρότα και άλλα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε αμμώδες και αμμοαργιλώδες χώμα. Η συγκέντρωση του Cd στα καρότα ακολούθησε γραμμική αύξηση ως προς την ποσότητα Cd στο χώμα και μετρήθηκε από 0,87 έως 7 mg/kg ξηρού βάρους στο αμμώδες χώμα και 0,21 έως 2,8 mg/kg ξηρού βάρους στο αμμο-αργιλώδες χώμα. Όπως αναφέρθηκε, η πρόσληψη Cd στα φυτά που καλλιεργήθηκαν στην άμμο ήταν υψηλότερη σε σχέση με αυτά που καλλιεργήθηκαν στο αμμοαργιλώδες χώμα παρά το ότι το τελευταίο περιείχε μεγαλύτερη συγκέντρωση Cd. Η έρευνα έδειξε, επίσης, και ότι το υψηλότερο στρώμα χώματος συγκρατούσε τη μεγαλύτερη ποσότητα Cd που προστίθετο. Όμως, με το όργωμα, το επιφανειακό στρώμα - που περιείχε περισσότερο Cd - ερχόταν σε επαφή με το χαμηλότερο στρώμα, αυξάνοντας το βιοδιαθέσιμο Cd και θέτοντας σε κίνδυνο την παραγωγή των φυτών¹¹¹.

Σε άλλο πείραμα, παρατηρήθηκε ότι μειώθηκε η πρόσληψη Cu, Zn, και Cd από καρότα που καλλιεργήθηκαν σε αργιλώδη χώματα ρυπασμένα με νερό ποταμού, όταν τοποθετήθηκε πάνω από αυτά ένα στρώμα μη ρυπασμένου αργιλώδους χώματος. Βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις Cd, Zn και Cu στα φύλλα καρότων (2,55, 88,40, 11,50 mg/kg, αντίστοιχα) και στους βολβούς (1,48, 40,2, 9,54 mg/kg, αντίστοιχα) που καλλιεργήθηκαν στο ρυπασμένο χώμα ήταν υψηλότερες σε σύγκριση με αυτές στα φύλλα καρότων (0,1, 23,8, 8,01 mg/kg, αντίστοιχα) και στους βολβούς (0,08, 17,0, 7,18 mg/kg ξηρού βάρους, αντίστοιχα) που καλλιεργήθηκαν στο μη ρυπασμένο χώμα¹¹².

Έρευνα διεξήχθη στη λεκάνη της Θήβας προκειμένου να προσδιοριστεί η ρύπανση των χωμάτων από βαρέα μέταλλα και η συνακόλουθη πρόσληψή τους από τα φυτά, μεταξύ των οποίων και τα καρότα. Οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στο έδαφος της λεκάνης της Θήβας κυμάνθηκαν ως εξής Cr=230 - 310 mg/kg, Ni= 1.200-2.200 mg/kg, Co=23-110 mg/kg, Mn=880-1.150 mg/kg και Fe=4,45%-6,62% w/w, ενώ οι αντίστοιχες στο έδαφος της λεκάνης του Ασωπού ήταν κατά μέσο όρο χαμηλότερες (μέσες τιμές: 150 mg/kg Cr, 340 mg/kg Ni, 810 mg/kg Mn, 30 mg/kg Co και 2,78% w/w). Οι συγκεντρώσεις Cr στα καρότα κυμάνθηκαν μεταξύ 1,9 και 4,1 mg/kg (μέση

τιμή 2,2) ενώ η μέση τιμή Cr(VI) στα φυτά ήταν 0,20 mg/kg. Οι συγκεντρώσεις Ni στα καρότα κυμάνθηκαν μεταξύ 3,0 και 4,0 mg/kg (μέση τιμή 3,5 mg/kg), ενώ οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις για Cu και Zn κυμάνθηκαν μεταξύ 2,7 και 7,6 mg/kg (μέση τιμή 5,9 mg/kg) και μεταξύ 18 και 19 mg/kg (μέση τιμή 19 mg/kg), αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις Mn κυμάνθηκαν μεταξύ 7 και 10 mg/kg (μέση τιμή 8,8 mg/kg) (όλες οι συγκεντρώσεις επί ξηρού βάρους φυτού)¹¹⁵.

Σε έρευνα, η οποία διεξήχθη από το Τμήμα Χημείας (Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων και Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας) του ΕΚΠΑ, αξιολογήθηκε η πρόσληψη βαρέων μετάλλων μεταξύ άλλων και σε καρότα που καλλιεργούνται στην ρυπασμένη περιοχή της λεκάνης του Ασωπού ποταμού, στη Βοιωτία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας, η συγκέντρωση νικελίου στα καρότα της Βοιωτίας ήταν κατά 410% μεγαλύτερη (474 μg/kg) από την αντίστοιχη σε καρότα που καλλιεργήθηκαν σε μη ρυπασμένη περιοχή (93 μg/kg). Η συγκέντρωση χρωμίου στα καρότα της Βοιωτίας ήταν κατά 115% μεγαλύτερη (43 μg/kg) από την αντίστοιχη σε καρότα που καλλιεργήθηκαν σε μη ρυπασμένη περιοχή (20 μg/kg). Τέλος, η συγκέντρωση καδμίου σε κάποια δείγματα καρότων από τη Βοιωτία ήταν κατά 175% μεγαλύτερη (11 μg/kg) από την αντίστοιχη σε καρότα που καλλιεργήθηκαν σε μη ρυπασμένη περιοχή (4 μg/kg) (όλες οι συγκεντρώσεις επί νωπού βάρους φυτού)¹¹⁶.

1.7.3 Κρεμμύδια

Προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις Al, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, U και Zn σε κρεμμύδια που παράγονται σε διάφορες περιοχές της Βραζιλίας. Οι υψηλότερες σχέσεις συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων των φυτών προς τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις στο χώμα, παρατηρήθηκαν σε χώματα τύπου oxisol. Οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στα κρεμμύδια (π.χ. Cd=1,1-7,0 μg/Kg, Cr=2,0-6,8 μg/kg, Ni=4,0-29 μg/kg, Pb=0,003-1,0 μg/kg, Zn=0,6-1,5 mg/kg, Cu=0,3=0,5 mg/kg) βρέθηκαν ως μη σημαντικές ώστε να αποτελέσουν παράγοντα διατροφικού κινδύνου και σε κάθε περίπτωση ήταν κατώτερες από τα όρια που έχουν τεθεί για τα τρόφιμα από το Υπουργείο Υγείας της

Βραζιλίας (1998): Cd=0,2 mg/kg, Cu=10 mg/kg, Pb=0,5 mg/kg και Zn=50 mg/kg, ενώ δεν υπάρχουν όρια στη Βραζιλία για Al, Cr, Mn, U και Ni¹²².

Η επίδραση της βιομηχανικής ρύπανσης στο χώμα, τα φυτά και το υπόγειο νερό ερευνήθηκε για λαχανικά καλλιεργούμενα στη λεκάνη απορροής του Ασωπού, μεταξύ των οποίων και τα κρεμμύδια. Οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων, στο χώμα της περιοχής, μετρήθηκαν ως εξής: Cr=67-200 mg/kg, Mn=660-920 mg/kg, Pb=12-28 mg/kg, Ni=130-480 mg/kg, Co=19-39 mg/kg ενώ οι αντίστοιχες μέσες συγκεντρώσεις στους βολβούς κρεμμυδιών ήταν: Cr=0,7 mg/kg, Mn=22 mg/kg, Pb=0,1 mg/kg, Ni=2,9 mg/kg, Co=2,3 mg/kg. Οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων των κρεμμυδιών της περιοχής Ασωπού ακολούθησαν την εξής σειρά, μέσα στο φυτό: ρίζες>κορμοί>βολβοί¹⁰.

Σε έρευνα που διενεργήθηκε στη λεκάνη της Θήβας το 2012, προκειμένου να προσδιοριστεί η ρύπανση των χωμάτων από βαρέα μέταλλα και η συνακόλουθη πρόσληψή τους από τα φυτά, το Cr στα κρεμμύδια κυμάνθηκε από 2,1 έως 4,6 mg/kg με μέσο όρο 3,8 mg/kg ξηρού βάρους, τιμή η οποία θεωρείται υψηλότερη από τις συνήθειες¹¹⁵.

Στην προηγούμενα αναφερόμενη έρευνα του Τμήματος Χημείας του ΕΚΠΑ¹¹⁶ μετρήθηκε η συγκέντρωση Ni και Cu στα κρεμμύδια της λεκάνης Θηβών και βρέθηκε κατά 640% και 93%, αντίστοιχα, μεγαλύτερη σε σχέση με τα κρεμμύδια - μάρτυρες. Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε Cr, Pb και Cd μεταξύ των κρεμμυδιών από τη λεκάνη της Θήβας και των κρεμμυδιών - μαρτύρων.

Σε άλλη έρευνα, μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (Cu, Fe, Co, Ni, Cd, Cr, Pb, Zn και Mn) στο χώμα και σε κρεμμύδια από τρία αγροκτήματα σε αστικές περιοχές της Τουρκίας. Οι μέσες συγκεντρώσεις Cr και Ni στο χώμα στα τρία αγροκτήματα ήταν 40,1, 41,5 και 44,5 mg/kg για το Ni και 38,0, 35,8 και 44,5 mg/kg για το Cr, αντίστοιχα για το πρώτο, δεύτερο και τρίτο έδαφος. Το pH του χώματος ήταν 6,9-8,1, 7,1-7,1 και 7,0-7,6 αντίστοιχα για το πρώτο, δεύτερο και τρίτο έδαφος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα βαρέα μέταλλα με τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα κρεμμύδια ήταν Zn, Mn και Fe ενώ τα φυτά δεν είχαν αξιοσημείωτες συγκεντρώσεις σε Cr, Pb, Cd και Co. Συγκεκριμένα, οι μέσες συγκεντρώσεις σε Zn, Mn και Fe ήταν 11, 10 και 23

mg/kg. Επίσης, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα βαρέα μέταλλα, στα κρεμμύδια που καλλιεργήθηκαν στο ίδιο αγρόκτημα ή σε αυτά που καλλιεργήθηκαν στα τρία διαφορετικά αγροκτήματα¹²³.

Μετρήθηκε το ολικό χρώμιο σε ένα μεγάλο αριθμό τροφίμων στην Ελλάδα, μεταξύ των οποίων και τα κρεμμύδια. Οι συγκεντρώσεις χρωμίου στα Ελληνικά τρόφιμα ήταν παραπλήσιες με αυτές στα τρόφιμα άλλων χωρών. Η συγκέντρωση του Cr στα κρεμμύδια βρέθηκε $0,16 \pm 0,07$ mg/kg¹²⁴.

Σε έρευνα που έγινε στο Νεπάλ αξιολογήθηκε η επίπτωση της άρδευσης με νερό που περιείχε As σε αγροτικά προϊόντα, που καλλιεργήθηκαν σε αλκαλικά εδάφη. Μεταξύ των προϊόντων που αξιολογήθηκαν ήταν και τα κρεμμύδια (βολβοί και φύλλα) που βλάστησαν σε αγρούς. Οι συγκεντρώσεις As στο ρυπασμένο νερό κυμάνθηκαν μεταξύ $<0,005$ και $1,014$ mg/L, ενώ οι συγκεντρώσεις As στο χώμα ήταν μεταξύ $6,1$ και $16,7$ mg/kg. Η μέση συγκέντρωση As στα φύλλα κρεμμυδιών ήταν $0,55$ mg/kg και στους μη ξεφλουδισμένους βολβούς ήταν $0,45$ mg/kg. Οι ρίζες κρεμμυδιών περιείχαν λιγότερο As από τους μη ξεφλουδισμένους βολβούς. Η συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης As στα φυτά με τη συγκέντρωση As στο νερό άρδευσης ήταν μεγαλύτερη από την αντίστοιχη συσχέτιση της συγκέντρωσης As στα φυτά με τη συγκέντρωση As στο έδαφος. Το γεγονός αυτό κατέδειξε ότι υπήρχε διασταυρούμενη επιμόλυνση (cross-contamination) με As των κρεμμυδιών από το As του νερού ποτίσματος. Η συνεχής χρήση νερού ποτίσματος που περιείχε As σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από $0,250$ mg/L βρέθηκε ότι αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο επιμόλυνσης των αγροτικών προϊόντων. Παρά ταύτα, τα εδώδιμα μέρη όλων των καρπών και των λαχανικών που ερευνήθηκαν έδειξαν συγκεντρώσεις As μικρότερες από το όριο των $1,0$ mg/kg που ισχύει στην Αυστραλία και χρησιμοποιείται στο Νεπάλ¹¹⁰.

Πίνακας 1.1: Πρόσληψη βαρέων μετάλλων από καρότα, κρεμμύδια και πατάτες που αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία

Πατάτες

Φυτό	Κλίμακα εφαρμογής	Χαρακτηριστικά χώματος/νερού ποτίσματος	Πρόσληψη βαρέων μετάλλων σε φυτά και χώματα	Βιβλιογραφία
πατάτα	αγρός	κοπριά βοοειδών, $N_4P_2K_2$ και συνδυασμός των δύο	Η επεξεργασία με λιπάσματα είχε σημαντική επίπτωση στην πρόσληψη βαρέων μετάλλων (Cd, Cr, Cu, Mn, Ni και Zn) στις ξεφλουδισμένες πατάτες και στις φλούδες. Η συγκέντρωση μετάλλων στις φλούδες ήταν μεγαλύτερη από αυτή στους ξεφλουδισμένους βολβούς.	Srek et al. (2012) ¹¹⁴
πατάτα	αγρός	N, P και K, άχυρα και κοπριά χοίρων	Η συγκέντρωση Pb ήταν μεγαλύτερη από το όριο της Τσεχίας στα τρόφιμα (0,61 mg/kg) στο 83% των δειγμάτων αλλά δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική αύξηση σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες	Srek et al. (2010) ¹⁰³
πατάτα	αγρός	Εδάφη τύπου Alfisols, Endisols και Vertisols	Zn, Cu, Cr και Ni ήταν κατά κύριο λόγο τα μέταλλα που μετρήθηκαν. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις μετρήθηκαν στα Alfisols, πιθανόν λόγω του χαμηλού pH (υψηλή διαλυτότητα μετάλλων).	Golia et al. (2008) ¹⁰⁵
πατάτα	αγρός	Χώμα από την κοίτη του ρυπασμένου ποταμού Meuse	Τα επίπεδα Cd στις πατάτες ήταν πάνω από 0,1 mg/kg νωπού βάρους και συσχετιζονταν θετικά με τα επίπεδα Cd στο χώμα	Albering et al. (1999) ¹⁰⁷
πατάτα	αγρός	Βιομηχανικά ρυπασμένο χώμα (Zn, Pb, Cd, Cu)	Η παραγωγή βολβών πατάτας ήταν σημαντικά μικρότερη, πιθανόν λόγω της έλλειψης θρεπτικών και της υψηλής συγκέντρωσης Zn (και πιθανόν Cu) στις ρίζες του φυτού	Dudka et al. (1996) ¹⁰⁸
πατάτα	αγρός	Έδαφος στο οποίο γίνεται προσθήκη λυματολάσπης	Η συγκέντρωση Cd στις φλούδες πατάτας ήταν διπλάσια από αυτήν στις ξεφλουδισμένες πατάτες και μειωνόταν όσο αυξανόταν το pH του εδάφους	Smith (1994) ¹⁰⁹
πατάτα	αγρός	Ρυπασμένο νερό άρδευσης από την ευρύτερη περιοχή Ασωπού	Η συγκέντρωση Ni στα λαχανικά της περιοχής Ασωπού ήταν έως και 9 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή των φυτών-μαρτύρων (π.χ. 800 μg/kg στις πατάτες Ασωπού σε σχέση με 78 μg/kg στα φυτά-μάρτυρες), ενώ η συγκέντρωση Cr βρέθηκε διπλάσια από αυτή των φυτών-μαρτύρων.	Kirkilis et al., (2012) ¹¹⁶
πατάτα	αγρός	Επεξεργασμένα λύματα	Η άρδευση με επεξεργασμένα λύματα οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων στο έδαφος και στη συνέχεια σε αύξηση της πρόσληψης βαρέων μετάλλων από τα φυτά	Ghosh et al. (2012) ¹¹³
πατάτα	αγρός	Ρυπασμένο χώμα από τη λεκάνη της Θήβας	Η μέση συγκέντρωση Cr στις πατάτες ήταν 2,1 mg/kg ξηρού βάρους όταν η αντίστοιχη συγκέντρωση του Cr(VI) στα φυτά ήταν 0,23 mg/kg	Economou-Eliopoulos et al., (2012) ¹¹⁵
πατάτα	αγρός	Νερό άρδευσης ρυπασμένο με As/αλκαλικά εδάφη	Παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα As στο χώμα και στα αντίστοιχα επίπεδα στο νερό άρδευσης. Οι πατάτες περιείχαν υψηλότερα επίπεδα As κατά την σειρά: κορμοί>φύλλα>εδώδιμο μέρος	Dahal et al. (2008) ¹¹⁰

Κεφάλαιο 1. Πρόσληψη βαρέων μετάλλων. Επιπτώσεις στα φυτά και στη δημόσια υγεία.

πατάτα	αγρός	Αμμώδη και αμμοαργιλώδη εδάφη, ρυπασμένα με Cd, σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα	Η συγκέντρωση Cd στους βολβούς που καλλιεργήθηκαν στην άμμο ήταν μεγαλύτερη από αυτή των βολβών που καλλιεργήθηκαν στο αμμοαργιλώδες έδαφος. Η πρόσληψη Cd από τις πατάτες παρουσίασε εκθετική αύξηση με την αύξηση της προσθήκης Cd στο χώμα	van Lune et al. (1997) ¹¹¹
πατάτα	αγρός	Ίζημα ρυπασμένου ποταμού με προσθήκη υπερκείμενου στρώματος μη ρυπασμένου χώματος	Η πρόσληψη Cu, Zn, και Cd από τα ρυπασμένα ιζήματα του ποταμού μειώθηκε αναλόγως προς την αύξηση του ύψους του υπερκείμενου στρώματος καθαρού χώματος	van Driel et al. (1995) ¹¹²
πατάτα	θερμοκήπιο	Χώμα ρυπασμένο με Cd	Η συγκέντρωση Cd στα διαφορετικά μέρη του φυτού παρουσίασε σημαντικές διαφορές με την εξής σειρά: ρίζες>κορμοί>>βολβοί	Dunbar et al. (2003) ¹⁰⁶
πατάτα	θερμοκήπιο	Χώμα ρυπασμένο με Zn, Pb, Cu και Cd στο οποίο έγινε εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου AC και DC	Η πρόσληψη μετάλλων ήταν μεγαλύτερη στις ρίζες των φυτών που επεξεργάστηκαν με ηλεκτρικά πεδία από ότι στα φυτά - μάρτυρες. Η συγκέντρωση μετάλλων στους κορμούς του φυτού της πατάτας ήταν χαμηλότερη με χρήση DC έναντι αυτής με χρήση AC καθώς και σε σύγκριση με τα φυτά - μάρτυρες	Aboughalma et al. (2008) ¹⁰⁴

Καρότα

Φυτό	Κλίμακα εφαρμογής	Χαρακτηριστικά χώματος/νερού ποτίσματος	Πρόσληψη βαρέων μετάλλων σε φυτά και χώματα	Βιβλιογραφία
καρότο	αγρός	Υγρά απόβλητα	Τα καρότα που ποτίστηκαν με υγρά απόβλητα είχαν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις Cu και Zn από αυτά που ποτίστηκαν με καθαρό νερό. Δεν υπήρξαν αντίστοιχες διαφορές για τα υπόλοιπα βαρέα μέταλλα (Fe και Mn).	Arora et al. (2008) ¹¹⁷
καρότο	αγρός	Ίζημα από τον ποταμό Illinois	Οι ρίζες καρότων που καλλιεργήθηκαν στο ίζημα ποταμού απορρόφησαν σημαντικά μεγαλύτερες ποσότητες B, Ba, Cu, Mn, Ti και Zn από τις ρίζες φυτών που καλλιεργήθηκαν σε καθαρό χώμα	Ebbs et al. (2006) ¹¹⁸
καρότο	αγρός	Έδαφος ρυπασμένο με δύο διαφορετικά είδη σκωρίας	Αύξηση των επιπέδων μετάλλων στα φυτά ανάλογα με το είδος της σκωρίας.	Bunzl et al. (2001) ¹²⁰
καρότο	αγρός	Έδαφος ρυπασμένο με Mo, Se, Zn και Cr	Η συγκέντρωση των μετάλλων στο χώμα ακολούθησε τη σειρά Zn > Se > Mo > Cr. Οι μέγιστες συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν ήταν 99,0, 63,0 και 34,0 mg/kg για τα Mo, Se και Zn, αντίστοιχα, στις ρίζες των καρότων που έλαβαν τη μέγιστη δόση βαρέων μετάλλων (810 kg/ha).	Biacs et al. (1995) ¹²¹
καρότο	αγρός	Ρυπασμένο νερό άρδευσης από την ευρύτερη περιοχή Ασωπού	Η συγκέντρωση Cr στα καρότα βρέθηκε 2 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες (π.χ. 43 μg/kg σε σύγκριση με 20 μg/kg στα μη ρυπασμένα καρότα), ενώ η συγκέντρωση Ni στα καρότα Ασωπού ήταν έως και 9 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες.	Kirkillis et al., (2012) ¹¹⁶
καρότο	αγρός	Επεξεργασμένα λύματα	Η άρδευση με επεξεργασμένα λύματα οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων στο έδαφος και στη συνέχεια σε αύξηση της πρόσληψης βαρέων μετάλλων από τα φυτά	Ghosh et al., (2012) ¹¹³
καρότο	αγρός	Ρυπασμένο έδαφος από τη λεκάνη της Θήβας	Η μέση συγκέντρωση Cr στα καρότα ήταν 2,2 mg/kg ξηρού βάρους, ενώ η μέση τιμή Cr(VI) στα φυτά ήταν 0,20 mg/kg ξηρού βάρους.	Economou-Eliopoulos et al., (2012) ¹¹⁵

Κεφάλαιο 1. Πρόσληψη βαρέων μετάλλων. Επιπτώσεις στα φυτά και στη δημόσια υγεία.

καρότο	αγρός	Αμμώδη και αμμοαργιλώδη εδάφη, ρυπασμένα με Cd, σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα	Η συγκέντρωση Cd από τους βολβούς που καλλιεργήθηκαν στην άμμο ήταν μεγαλύτερη από αυτή των βολβών που καλλιεργήθηκαν στο αμμοαργιλώδες έδαφος. Η πρόσληψη Cd από τα καρότα παρουσίασε γραμμική αύξηση με την αύξηση της προσθήκης Cd στο χώμα	van Lune et al. (1997) ¹¹¹
καρότο	αγρός	Ίζημα ρυπασμένου ποταμού με προσθήκη υπερκείμενου στρώματος μη ρυπασμένου χώματος	Η πρόσληψη των καρότων σε Cu, Zn, και Cd από τα ρυπασμένα ιζήματα του ποταμού μειώθηκε αναλόγως προς την αύξηση του ύψους του υπερκείμενου στρώματος καθαρού χώματος	van Driel et al. (1995) ¹¹²
καρότο	Θερμοκήπιο	Ρυπασμένο χώμα από Barber Orchard, NC, Η.Π.Α.	Η μέση συγκέντρωση Pb (585 µg/g) και As (178 µg/g) στο ρυπασμένο χώμα ήταν μεγαλύτερη από τα όρια ανίχνευσης. Στις ρίζες καρότων η μέση συγκέντρωση Pb (20 µg/g) ήταν μεγαλύτερη από το όριο ανίχνευσης ενώ η αντίστοιχη συγκέντρωση As ήταν μικρότερη.	Pendergrass et al. (2006) ¹¹⁹

Κρεμμύδια

Φυτό	Κλίμακα εφαρμογής	Χαρακτηριστικά χώματος/νερού ποτίσματος	Πρόσληψη βαρέων μετάλλων σε φυτά και χώματα	Βιβλιογραφία
κρεμμύδι	αγρός	Εδάφη τύπου oxisol	Υψηλότερες προσλήψεις βαρέων μετάλλων σε εδάφη τύπου oxisol σε σχέση με άλλα εδάφη σε εύκρατες περιοχές της Βραζιλίας. Οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στα κρεμμύδια ήταν χαμηλότερες ή προσέγγιζαν τις συγκεντρώσεις που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.	Santos et al. (2004) ¹²²
κρεμμύδι	αγρός	Ρυπασμένο νερό άρδευσης από την ευρύτερη περιοχή Ασωπού	Η συγκέντρωση Ni στα καρότα της περιοχής ήταν σημαντικά αυξημένη σε σχέση με αυτή των καρότων - μαρτύρων. Δεν βρέθηκαν αντίστοιχες στατιστικά σημαντικές διαφορές στο Cu, Cr, Pb και Cd	Kirkillis et al. (2012) ¹¹⁶
κρεμμύδι	αγρός	Οι τιμές pH των τριών χωμάτων καλλιέργειας βρέθηκαν μεταξύ 6,9 και 8,1. Οι συγκεντρώσεις Cr, Ni, Cu και Pb στο χώμα κυμάνθηκαν στο εύρος 30,8-48,8 µg/g, 31,2-48,8 µg/g, 45,4-92,8 µg/g και 56,9-143 µg/g, αντίστοιχα	Οι μέσες συγκεντρώσεις Zn, Mn Fe στα κρεμμύδια ήταν περίπου 11, 10 και 23 µg/g. Δεν βρέθηκε ρύπανση από Cr, Pb, Cd και Co στα δείγματα κρεμμυδιών	Tokaliolu et al. (2009) ¹²³
κρεμμύδι	αγρός	Διάφορα εδάφη και νερά άρδευσης στην Ελλάδα	Συγκέντρωση Cr στα κρεμμύδια: 0,16±0,07 µg/g	Bratakos et al. (2002) ¹²⁴
κρεμμύδι	αγρός	Συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στα εδάφη της λεκάνης της Θήβας (μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες στα εδάφη της λεκάνης του Ασωπού)	Μέση συγκέντρωση Cr στα κρεμμύδια της λεκάνης της Θήβας 3,8 µg/g ξηρού βάρους	Economou-Eliopoulos et al. (2012) ¹¹⁵

Κεφάλαιο 1. Πρόσληψη βαρέων μετάλλων. Επιπτώσεις στα φυτά και στη δημόσια υγεία.

κρεμμύδι	αγρός	Συγκεντρώσεις As στο χώμα: 6,1-16,7 mg/kg Συγκεντρώσεις As στο νερό άρδευσης: <0,005-1,014 mg/L	Η πρόσληψη As από τα φυτά επηρεάστηκε περισσότερο από το As του νερού άρδευσης	Dahal et al. (2008) ¹¹⁰
κρεμμύδι	αγρός	Οι συγκεντρώσεις Cr, Ni, Pb, Cu, Cd στο έδαφος της λεκάνης του Ασωπού ήταν μεγαλύτερη από άλλες περιοχές. Η συγκέντρωση Cr στο υπόγειο νερό της λεκάνης του Ασωπού μετρήθηκε από 2 έως 180 µg/L	Οι μέσες συγκεντρώσεις Cr και Pb στους βολβούς κρεμμυδιών του Ασωπού ήταν μικρότερες σε σχέση με αυτές στη Χαλκίδα και τη Μεσσηνία, του Ni ήταν μεγαλύτερες από αυτές της Μεσσηνίας και μικρότερες από αυτές της Χαλκίδας και του Cu μεγαλύτερες από αυτές της Μεσσηνίας και της Χαλκίδας	Economou-Eliopoulos et al. (2011) ¹⁰

1.8 Καλλιέργεια πατατών, κρεμμυδιών και καρότων με χρήση βαρέων μετάλλων. Επιπτώσεις στη φυσιολογία των φυτών και στη δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης από την πρόσληψη βαρέων μετάλλων.

Παρακάτω παρατίθενται δεδομένα από τη διεθνή βιβλιογραφία που αφορούν τις επιπτώσεις από την πρόσληψη βαρέων μετάλλων στη φυσιολογία των πατατών, κρεμμυδιών και καρότων καθώς και στη δραστικότητα καταλάσης και διαφόρων ειδών υπεροξειδάσης. Τα δεδομένα παρατίθενται περιληπτικά και στον Πίνακα 1.2.

1.8.1 Πατάτες

Πατάτες μικρής ηλικίας (φυτάρια) της ποικιλίας "Macaca" (ευαίσθητη στο Al) και κλώνοι της ποικιλίας SMIC148-A (ανθεκτική στο Al) καλλιεργήθηκαν σε διάλυμα θρεπτικών συστατικών (pH 4) που περιείχε 0, 100 και 200 mg Al/L. Στις 24, 72, 120 και 168 h μετά την προσθήκη Al, προσδιορίστηκαν το μέγεθος ριζών και διάφορες βιοχημικές παράμετροι. Στις ρίζες της ποικιλίας "Macaca", η δραστικότητα της καταλάσης (CAT) και της ασκορβικής υπεροξειδάσης (APX) μειώθηκε στις 72 και 120 h και στις 24, 72 και 120 h, αντίστοιχα. Στις 168 h και οι δύο δραστικότητες αυξήθηκαν με την προσθήκη Al. Στις ρίζες του SMIC148-A, η δραστικότητα της καταλάσης αυξήθηκε στις 72 και 168 h, ενώ η δραστικότητα της ασκορβικής υπεροξειδάσης μειώθηκε στις 72 h και αυξήθηκε στις 24, 120 και 168 h. Όσον αφορά τις επιπτώσεις στη φυσιολογία του φυτού, σημαντικές διαφορές βρέθηκαν στο μήκος ριζών ανάμεσα στους κλώνους της πατάτας υπό το στρες της προσθήκης Al. Μετά από 24 h έκθεσης στο διάλυμα Al, το μήκος ριζών στον κλώνο "Macaca" ήταν σημαντικά μικρότερο (15%) στα 200 mg Al/L. Η ίδια συμπεριφορά παρατηρήθηκε στις 72, 120 και 168 h έκθεσης σε διάλυμα Al με μειώσεις στο μήκος ριζών 15, 20 και 17%, αντίστοιχα, σε σύγκριση με το control. Αντιθέτως, η καλλιέργεια σε διάλυμα Al δεν είχε επίπτωση στο μήκος ριζών του κλώνου πατάτας SMIC 148-A. Η συγκέντρωση Al στις ρίζες και τους κορμούς των δύο κλώνων πατάτας που μελετήθηκαν αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης Al. Η αύξηση των ιστών ήταν μεγαλύτερη στον

κλώνο "Macaca". Στις 168 h έκθεσης, το Al συσσωρεύτηκε περισσότερο στις ρίζες από ό,τι στους κορμούς (κατά μέσο όρο 3,9 και 3,6 φορές περισσότερο στις ρίζες από τους κορμούς, αντίστοιχα για τους κλώνους Macaca και SMIC148-A. Για τον κλώνο "Macaca" η συγκέντρωση Al στις ρίζες ήταν 335% και 530% υψηλότερη για συγκεντρώσεις διαλυμάτων 100 και 200 mg/L Al σε σχέση με τις ρίζες που καλλιεργήθηκαν σε καθαρό νερό. Οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις διαλυμάτων Al οδήγησαν σε αυξήσεις 550% και 900%, αντίστοιχα, στους κορμούς πατάτας του κλώνου "Macaca", σε σύγκριση με τις πατάτες που ποτίστηκαν με καθαρό νερό. Αντίστοιχες αυξήσεις παρατηρήθηκαν στις ρίζες (650% και 800%) και στους κορμούς (735% και 1.400%) της ποικιλίας SMIC148-A που ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις 100 και 200 mg Al/L σε σύγκριση με τα φυτά-μάρτυρες¹²⁵.

Πατάτες μικρής ηλικίας (φυτάρια) από δύο ποικιλίες ("Asterix" και "Macaca") καλλιεργήθηκαν υδροπονικά με τέσσερις διαφορετικές συγκεντρώσεις Cd (0, 50, 100, 150 και 200 μ M) για 7 ημέρες. Οι συγκεντρώσεις Cd αυξήθηκαν στις ρίζες και των δύο ποικιλιών (περίπου 0, 2,5, 3,3, 4 και 7 g/kg ξηρού βάρους ριζών, αντίστοιχα για την ποικιλία "Asterix" και 0, 3, 5, 6,5 και 8 g/kg ξηρού βάρους ριζών, αντίστοιχα, για την ποικιλία "Macaca"). Οι συγκεντρώσεις Cd αυξήθηκαν και στους κορμούς των δύο ποικιλιών (περίπου 0, 0,4, 0,8, 1,2 και 1,6 g/kg ξηρού βάρους κορμών, αντίστοιχα για την ποικιλία "Asterix" και 0, 0,3, 0,7, 1,1 και 1 g/kg ξηρού βάρους κορμών, αντίστοιχα, για την ποικιλία "Macaca"). Δεν υπήρξε αύξηση του αριθμού των βλαστών και των ριζών στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με διαλύματα Cd αλλά υπήρξε αύξηση του αριθμού των κομβικών τμημάτων του φυτού. Η συγκέντρωση H_2O_2 στις ρίζες και στους κορμούς των ποικιλιών "Asterix" και "Macaca" αυξήθηκε αναλόγως προς τη συγκέντρωση του Cd στο νερό ποτίσματος. Η δραστητικότητα καταλάσης στις ρίζες της ποικιλίας "Asterix" μειώθηκε στις συγκεντρώσεις 100 και 150 μ M Cd, ενώ στην ποικιλία "Macaca" μειώθηκε μόνο στο διάλυμα 50 μ M Cd. Η δραστητικότητα καταλάσης στους κορμούς της ποικιλίας "Macaca" μειώθηκε. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι το Cd εισάγει οξειδωτικό στρες και στις δύο ποικιλίες πατάτας και ότι ανάμεσα τους μεγαλύτερη ευαισθησία στο Cd παρουσιάστηκε στην ποικιλία "Asterix"¹²⁶.

Σε άλλο πείραμα αξιολογήθηκε η τοξικότητα του Cd^{2+} όσον αφορά τη συσσώρευση αλάτων στις πατάτες, σε ποικιλίες "Asterix" και "Macaca". Τα φυτάρια καλλιεργήθηκαν *in vitro* και σε υδροπονικά πειράματα με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Cd^{2+} (0, 100, 200, 300, 400 και 500 μM *in vitro* και 0, 50, 100, 150 και 200 μM σε υδροπονικές καλλιέργειες). Στις 22 και 7 ημέρες έκθεσης σε Cd^{2+} , αντίστοιχα για το *in vivo* και το υδροπονικό πείραμα αντίστοιχα, τα φυτάρια διαχωρίστηκαν σε ρίζες και κορμούς και μετρήθηκε η βιομάζα και οι συγκεντρώσεις σε Cd^{2+} , σε μακροστοιχεία (Ca^{2+} , K^{+} , Mg^{2+}) και σε μικροστοιχεία (Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} και Zn^{2+}). Δεν βρέθηκε καμία μείωση στο ξηρό βάρος ριζών, στο πείραμα υδροπονίας, για καμία συγκέντρωση Cd στο νερό ποτίσματος, και στις δύο ποικιλίες πατάτας. Στο *in vitro* πείραμα υπήρξε αύξηση της βιομάζας σε χαμηλή συγκέντρωση Cd στο νερό ποτίσματος (100 μM) ήτοι 19% και 33% στο ξηρό βάρος κορμών της ποικιλίας "Asterix" και "Macaca", αντίστοιχα. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις Cd στο νερό καλλιέργειας υπήρξε μείωση 19%, 44%, 50%, 75% στο ξηρό βάρος κορμών της ποικιλίας "Asterix" για συγκεντρώσεις Cd 200, 300, 400 και 500 μM , αντίστοιχα, ενώ υπήρξε και μείωση κατά 44%, 39% και 67% στο ξηρό βάρος κορμών της ποικιλίας "Macaca" για συγκεντρώσεις Cd 300, 400 και 500 μM . Στα φυτάρια που καλλιεργήθηκαν *in vitro* και υδροπονικά, οι συγκεντρώσεις Cd και στις δύο ποικιλίες που ποτίστηκαν με διαλύματα Cd ήταν υψηλότερες σε σχέση με τα φυτά που ποτίστηκαν με καθαρό νερό¹²⁷.

Η καλλιέργεια μικρής διάρκειας (έως 70 h) βολβών πατάτας σε δίσκους διαμέτρου 18 mm με διαλύματα χλωριούχου καδμίου αύξησε τις συγκεντρώσεις ελευθέρων μορφών οξυγόνου και ενεργοποίησε το αντιοξειδωτικό σύστημα των φυτών. Δύο καλλιέργειες πατάτας ("Bintje" and "Bzura") ευαίσθητη και ανθεκτική, αντίστοιχα στο Cd, καλλιεργήθηκαν σε διαλύματα καδμίου (0,01 και 1 mM) και σε καθαρό νερό. Σε ένα δεύτερο πείραμα εκχυλίσματα των δίσκων καλλιέργειας πατάτας και των δύο ποικιλιών εκτέθηκαν σε CdCl_2 σε συγκεντρώσεις από 0,6 έως 600 μM . Τα δείγματα επώαστηκαν για 30 min στους 20 °C πριν τον προσδιορισμό της δραστηριότητας ενζύμων. Στο πρώτο πείραμα, η παρουσία του καδμίου στους ευαίσθητους ιστούς της ποικιλίας "Bintje", δεν επέδρασε αρχικά στη δραστηριότητα της καταλάσης. Μετά τις 30 h έκθεσης σε Cd, η δραστηριότητα

του ενζύμου άρχισε να αυξάνεται. Το ίδιο πείραμα στους ανθεκτικούς ιστούς της καλλιέργειας "Bzura", οδήγησε σε μικρή μείωση της δραστηριότητας καταλάσης στις πρώτες ώρες έκθεσης σε Cd και μετά τις 10 h η δραστηριότητα του ενζύμου άρχισε να αυξάνεται. Στο ίδιο πείραμα, η συγκέντρωση της ασκορβικής όξινης υπεροξειδάσης παρουσίασε γρήγορη μείωση. Η επίπτωση αυτή ήταν μικρότερη και εξαφανίστηκε γρηγορότερα στην πιο ανθεκτική ποικιλία πατάτας "Bzura". Στο δεύτερο πείραμα, όταν προστέθηκε CdCl₂ σε εκχυλίσματα ιστών βολβού πατάτας, παρατηρήθηκε μείωση της δραστηριότητας καταλάσης. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση 22% και 34% στη δραστηριότητα καταλάσης στα εκχυλίσματα της ευαίσθητης και ανθεκτικής ποικιλίας, αντίστοιχα, οι οποίες ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις 60 μM CdCl₂. Προσθήκη CdCl₂ στα εκχυλίσματα ιστών οδήγησε σε μείωση της συγκέντρωσης ασκορβικής όξινης υπεροξειδάσης. Συγκεκριμένα, υπήρξε μείωση 27% και 42% στα εκχυλίσματα των ιστών πατάτας της ανθεκτικής και της ευαίσθητης ποικιλίας, αντίστοιχα, όταν αυτές επεξεργάστηκαν με συγκέντρωση 60 μM CdCl₂¹²⁸.

Φυτά πατάτας καλλιεργήθηκαν σε λεπτόκοκκη άμμο σε πείραμα θερμοκηπίου που είχε ως στόχο να φωτίσει τις τοξικές επιπτώσεις υψηλών συγκεντρώσεων νικελίου στις πατάτες. Τα φυτά καλλιεργήθηκαν σε διαλύματα 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 και 0,5 mM νικελίου (στη μορφή θειικού νικελίου) για 108 ημέρες. Τα φυτά που επεξεργάστηκαν με διαλύματα 0,3, 0,4 και 0,5 mM παρουσίασαν μειωμένη ανάπτυξη. Τα κλαδιά τους ήταν κοντά και τα φύλλα ήταν μικρότερα σε αριθμό και σε μέγεθος. Σταδιακά, τα νεαρά φύλλα ανέπτυξαν χλώρωση και, καφέ χρώματος, νεκρωτικές περιοχές. Στο τέλος του πειράματος, κάποια από τα φύλλα γύρισαν προς την εσωτερική πλευρά τους. Τα συμπτώματα αυτά ήταν λιγότερο οξέα στις συγκεντρώσεις Ni 0,2 και 0,1 mM. Την 108^η ημέρα, το ξηρό βάρος των πατατών μειώθηκε από 10,8 g/φυτό (για τα φυτά που ποτίστηκαν με το διάλυμα control 0,0001 mM Ni) σε 2,8 g/φυτό (για τα φυτά που ποτίστηκαν με διάλυμα 0,5 mM Ni). Η συγκέντρωση νικελίου στα διάφορα μέρη των φυτών-μαρτύρων πατάτας ήταν πολύ χαμηλή. Η συγκέντρωση Ni στις πατάτες αυξήθηκε αναλογικά προς την αύξηση της συγκέντρωσης του νερού ποτίσματος, ξεκινώντας από 10 mg Ni/kg ξηρού βάρους βολβού (σε συγκέντρωση 0,05 mM Ni στο νερό ποτίσματος) και

καταλήγοντας σε 100 mg Ni/kg ξηρού βάρους βολβού (σε συγκέντρωση 0,5 mM Ni στο νερό ποτίσματος). Όσο η συγκέντρωση Ni στο νερό ποτίσματος αυξανόταν τόσο μειωνόταν η δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης στους βολβούς πατάτας (και για τα δύο ένζυμα η μείωση έφτασε έως και το 50% στα φυτά που ποτίστηκαν με 0,5 mM Ni σε σύγκριση με τα φυτά-μάρτυρες)¹²⁹.

Έγινε εργαστηριακή καλλιέργεια *in vitro* πατάτας, ποικιλίας "Spunta", σε μέσο τύπου "Murashige και Skoog" (MS), στο οποίο είχε προστεθεί compost από αστικά στερεά απόβλητα σε ποσότητες 0, 3, 6, και 9 g/L. Τριάντα ημέρες αργότερα έγινε εκτίμηση των καλλιεργειών όσον αφορά τους κορμούς, τις ρίζες, τον φυτικό όγκο και την εμφάνιση του φυτού. Μετρήθηκαν επίσης, οι συγκεντρώσεις Sn, As, Cu, Zn, Ni, Pb, Mn, Cd, και Fe στο μέσο καλλιέργειας και στους μικροκορμούς της πατάτας. Παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα σε όλες τις συγκεντρώσεις των μετάλλων στα φυτά και της ποσότητας compost που είχε προστεθεί. Οι συγκεντρώσεις As, Cu, Zn, και Ni στους μικροκορμούς της πατάτας αυξήθηκαν ανάλογα προς τις ποσότητες compost. Το μέσο control και το μέσο στο οποίο προστέθηκε 9 g/L compost είχαν το μεγαλύτερο αριθμό μικροκορμών πατάτας. Ο αριθμός και το μήκος των ριζών πατάτας ήταν ο ίδιος σε όλες τις καλλιέργειες, ανεξάρτητα από την ποσότητα compost που προστέθηκε¹³⁰.

1.8.2 Κρεμμύδια

Allium test (εργαστηριακό πείραμα που πραγματοποιείται σε έτοιμα κρεμμύδια εμπορίου που εκτίθενται, μετά την παραγωγή τους, για περιορισμένο χρονικό διάστημα σε διαλύματα βαρέων μετάλλων) έλαβε χώρα για έξι χημικές ουσίες, μεταξύ των οποίων και το διχρωμικό κάλιο. Για κάθε πείραμα, έξι κρεμμύδια εμπορίου καθαρίστηκαν από ρίζες, τοποθετήθηκαν σε κατάλληλα δοχεία και παρέμειναν για μικρό διάστημα αρχικά σε καθαρό νερό και στη συνέχεια σε διαλύματα χημικών, προκειμένου να αναπτύξουν νέες ρίζες (πρότυπη διαδικασία *Allium* test). Η συγκέντρωση EC50 (η συγκέντρωση στην οποία η δέσμη των ριζών του κρεμμυδιού έχει συνολικό μήκος ίσο με το 50% του μήκους των φυτών- μαρτύρων) για τα κρεμμύδια

που ποτίστηκαν με διχρωμικό κάλιο ήταν 143 μM , ενώ στο 1 M το μήκος των ριζών μειώθηκε κατά 95% σε σχέση με τις ρίζες των φυτών control¹³¹.

Σε εργαστηριακό πείραμα (*Allium test*) εξετάστηκε η επίδραση του Cr^{6+} στο μήκος ριζών κρεμμυδιών χρησιμοποιώντας για το σκοπό αυτό έξι διαφορετικές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου, διαλυμένου: α) σε καθαρό νερό και β) σε νερό ρυπασμένου ποταμού. Οι συγκεντρώσεις του Cr^{6+} στο καθαρό και ρυπασμένο νερό ποταμού ήταν 0,09-11,2 και 0,11-42,5 mg/L, αντίστοιχα. Το διάλυμα συγκέντρωσης 4,2 mg/L Cr^{6+} στο καθαρό νερό (EC50) προκάλεσε μείωση του μήκους των ριζών κρεμμυδιών κατά 50%, ενώ η αντίστοιχη μείωση μήκους ριζών προκλήθηκε με συγκέντρωση 12 mg Cr^{6+} /L στο οργανικά ρυπασμένο νερό του ποταμού. Ειδικότερα, σε χαμηλές συγκεντρώσεις Cr^{6+} , όπως π.χ. 0,5-1,0 mg/L, και για τα δύο είδη διαλυμάτων (σε καθαρό νερό και σε νερό ποταμού) το μέσο μήκος ριζών ήταν σχεδόν σταθερό, ενώ η μείωση του μήκους ξεκινούσε σε συγκεντρώσεις $\text{Cr}^{6+} > 1$ mg/L. Στο διάλυμα Cr^{6+} στο νερό ποταμού, το μέσο μήκος ριζών ήταν περίπου 3,7 cm, ενώ το μέσο μήκος ριζών στο διάλυμα σε καθαρό νερό ήταν 3,2 cm, ίσως επειδή στο καθαρό νερό δεν υπήρχαν αρκετές οργανικές ουσίες και θρεπτικά. Η συγκέντρωση EC50 στα διαλύματα Cr^{6+} στο νερό ποταμού ήταν μεγαλύτερη από την αντίστοιχη στα διαλύματα καθαρού νερού, όπως αναφέρθηκε. Αυτό, αποδόθηκε στο ότι, στα νερά του ποταμού τα οποία περιέχουν οργανικές και ανόργανες ουσίες, οι ρίζες δημιουργήσαν ένα μηχανισμό μείωσης της τοξικότητας του εξασθενούς χρωμίου¹³².

Έγινε έρευνα ως προς τις τυχόν επιπτώσεις διαλυμάτων Cu (ως CuSO_4), Pb (ως $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) και Zn (ως ZnSO_4) στο μήκος ριζών καλλιεργούμενων κρεμμυδιών. Η έρευνα έδειξε ότι υπήρχε ευαισθησία του φυτού στα παραπάνω βαρέα μέταλλα. Η τοξικότητα των εξεταζόμενων βαρέων μετάλλων, βασισμένη στην τιμή IC50 (συγκέντρωση που επιφέρει 50% τοξικότητα), μετά από 48 h έκθεση στα μέταλλα, μειώθηκε με την εξής σειρά $\text{Cu} > \text{Pb} > \text{Zn}$. Οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις Cu, Pb και Zn για 50% μείωση του μήκους ριζών κρεμμυδιών (EC50) μετά από 48 h έκθεση στα μέταλλα ήταν, αντίστοιχα, 0,001, 0,04 και 0,4 mmol/L¹³³.

Εργαστηριακό πείραμα (*Allium test*) διεξήχθη σε κρεμμύδια που εκτέθηκαν σε διαλύματα Cu (0, 0,1, 0,5, 1, 5 και 10 mg/L) για επτά ημέρες. Ο χαλκός

προκάλεσε σημαντική μείωση στο μήκος των ριζών σε υψηλές δόσεις: το μήκος μειώθηκε κατά 60% σε δόση 0,1 mg/L και έως 95% σε δόση 10 mg/L. Μικρότερες επιπτώσεις στο μήκος ριζών παρατηρήθηκαν σε διαλύματα χαλκού 0,5 mg/L, ενώ πλήρης απουσία ριζών παρατηρήθηκε σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 10 mg/L. Οι συγκεντρώσεις του χαλκού στις νεοσχηματιζόμενες ρίζες κρεμμυδιών ήταν κατά μέσο όρο 12 mg/kg ξηρού βάρους στα κρεμμύδια-μάρτυρες ενώ ήταν σημαντικά υψηλότερες στις ρίζες κρεμμυδιών που ποτίστηκαν με διαλύματα χαλκού, ως εξής: 513 mg/kg στα 0,1 mg/L, 17.500 mg/kg στα 0,5 mg/L, 34.000 mg/kg στο 1 mg/L, 87.300 mg/kg στα 5 mg/L και 15.900 mg/kg ξηρού βάρους ριζών κρεμμυδιών στα 10 mg/L διαλύματος χαλκού. Παρά τις σημαντικές αυξήσεις στις συγκεντρώσεις χαλκού στις ρίζες κρεμμυδιών δεν παρατηρήθηκε καμία αύξηση στις συγκεντρώσεις χαλκού στους αντίστοιχους βολβούς, σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες. Η μέση συγκέντρωση ήταν περίπου 25 mg/kg. Το ενδιαφέρον στοιχείο ήταν ότι χαμηλότερες συγκεντρώσεις ($10,1 \pm 1,00$ mg/kg) μετρήθηκαν στους βολβούς που επεξεργάστηκαν με διάλυμα χαλκού 10 mg/L. Στα φύλλα κρεμμυδιών παρατηρήθηκε σημαντική βιοσυσσώρευση μόνο στα κρεμμύδια που επεξεργάστηκαν με 0,5 mg Cu/L με μέση συγκέντρωση χαλκού 12,0 mg/kg ξηρού βάρους, ενώ η αντίστοιχη συγκέντρωση στα φύλλα κρεμμυδιών-μαρτύρων ήταν 6,00 mg/kg. Τέλος, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση ($p < 0,01$) ανάμεσα στη συγκέντρωση χαλκού στις ρίζες και τα φύλλα κρεμμυδιών και στο μήκος τους (Pearson coefficient= -0,4792 και -0,5762, αντίστοιχα) γεγονός το οποίο καταδεικνύει μία μηχανιστική σχέση ανάμεσα στο χαλκό και το μήκος των ιστών αυτών¹³⁴.

Allium test έγινε σε κρεμμύδια που εκτέθηκαν σε ρυπασμένο νερό ποταμού. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν εννέα συγκεντρώσεις Cu, Zn και Pb, από 0,1 έως 50 mg/L. Ερευνήθηκε στο εργαστήριο η επίπτωση των μετάλλων στην ανάπτυξη ριζών κρεμμυδιών, για διάρκεια επεξεργασίας πέντε ημερών. Μείωση 40% στο μήκος ριζών παρατηρήθηκε για επεξεργασία σε διαλύματα συγκεντρώσεων $< 0,03$ mg/L. Η ίδια μείωση παρατηρήθηκε για συγκεντρώσεις 1 mg Zn/L και 0,1 mg Pb/L στο νερό ποταμού¹³⁵.

Ερευνητικό πείραμα (*Allium test*) διεξήχθη σε ρίζες κρεμμυδιών προκειμένου να αξιολογηθεί η τοξικότητα διαλυμάτων 0-2 mg/L θειικού χαλκού και 0-8 mg/L

χλωριούχου κοβαλτίου. Η μείωση στην ανάπτυξη ριζών ήταν ανάλογη της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων στο εφαρμοζόμενο διάλυμα. Οι συγκεντρώσεις EC50 για το θειικό χαλκό και χλωριούχο κοβαλτίο ήταν, αντίστοιχα, 1,5 και 5,5 mg/L. Ο θειικός χαλκός αποδείχθηκε τοξικότερος του χλωριούχου κοβαλτίου καθώς η ίδια μείωση στο μήκος ριζών επήλθε με μικρότερη συγκέντρωση διαλύματος μετάλλου. Εκτός από μείωση του μήκους των ριζών στα κρεμμύδια που επεξεργάστηκαν με τα παραπάνω βαρέα μέταλλα, παρατηρήθηκε και αντίστοιχη καχεξία, γεγονός που αποδεικνύει την κυτταροτοξικότητα των εν λόγω μετάλλων¹³⁶.

Σε *Allium* test αξιολογήθηκε η τοξικότητα του θειικού χαλκού μέσω της μέτρησης του μήκους ριζών κρεμμυδιών. Οι συγκεντρώσεις θειικού χαλκού που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} και 10^{-1} M. Οι συγκεντρώσεις από 10^{-7} έως 10^{-5} οδήγησαν σε αύξηση του μήκους των ριζών, ενώ οι συγκεντρώσεις από 10^{-4} έως 10^{-1} M Cu οδήγησαν σε μείωση του μήκους και σε αύξηση της τοξικότητας¹³⁷.

Σε *Allium* test αξιολογήθηκε η τοξικότητα ιλύων που παρήχθη από τρεις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (ΕΕΛ) στη Δανία, μεταξύ των ετών 1994-1996. Οι ιλύες αυτές διέφεραν σε συγκεντρώσεις βιομηχανικών ρύπων. Η ιλύς από την ΕΕΛ νο 3 είχε συγκεντρώσεις Pb 187-336 mg/kg, Zn 891-1.420 mg/kg και Cd 2,7-6,2 mg/kg, οι οποίες ήταν δύο έως τρεις φορές μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις μετάλλων στις λυματολάσπες των ΕΕΛ νο 2 και 3. Οι συγκεντρώσεις Ni ήταν 17-45 mg/kg και για τις τρεις ΕΕΛ ενώ παραπλήσιες ήταν οι συγκεντρώσεις Cr στην ιλύ των τριών ΕΕΛ. Η τοξικότητα των ιλύων μετρήθηκε ως συγκέντρωση η οποία προκαλεί μείωση κατά 30% και 50% του μήκους των ριζών κρεμμυδιού (EC30 και EC50, αντίστοιχα). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η τοξικότητα ήταν ανάλογη της συγκέντρωσης των βιομηχανικών ρύπων (βαρέων μετάλλων). Η ιλύς από την ΕΕΛ νο 3 ήταν η περισσότερο τοξική με EC50 μεταξύ 0,23 και 1,00 g/L. Η ιλύς από την ΕΕΛ νο 1 ήταν η λιγότερο τοξική (EC50=2,85-21,7 g/L) ενώ ενδιάμεση τοξικότητα είχε η ιλύς από την ΕΕΛ νο 2 (EC50=2,4-4,43 g/L)¹³⁸.

Σε *Allium* test αξιολογήθηκε η τοξικότητα ανεπεξέργαστων και επεξεργασμένων στραγγισμάτων χώρου υγειονομικής ταφής αποβλήτων (ΧΥΤΑ), τα οποία έφεραν σημαντικές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων και

οργανικών ρύπων. Οι συγκεντρώσεις σε μέταλλα των ανεπεξέργαστων και επεξεργασμένων στραγγισμάτων ήταν, αντίστοιχα, Al 0,2 και <0,10 mg/L, Pb <0,05 και <0,05 mg/L, Fe 62,82 και 3,27 mg/L, Mn 20,17 και 0,89 mg/L και Zn 0,05 και <0,01 mg/L. Τα στραγγίσματα αραιώθηκαν σε μεταλλικό νερό, σε ποσοστό 0, 20, 40, 60, 80 και 100%. Τα ανεπεξέργαστα στραγγίσματα σε ποσοστό $\geq 40\%$ στο νερό προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση στο μήκος ριζών κρεμμυδιών, ενώ καμία συγκέντρωση επεξεργασμένων στραγγισμάτων δεν είχε στατιστικά σημαντική επίπτωση στις ρίζες των φυτών. Οι μειώσεις που παρατηρήθηκαν στο μήκος ριζών για προσθήκη ανεπεξέργαστων και επεξεργασμένων στραγγισμάτων ήταν 87,76 και 32,69%, αντίστοιχα. Για τα ανεπεξέργαστα στραγγίσματα οι περιεκτικότητες σε μεταλλικό νερό EC50 και EC10 υπολογίστηκαν σε 30,66 και 22,36%. Τα ανεπεξέργαστα στραγγίσματα δεν προκάλεσαν μείωση μήκους ριζών >50%, ενώ υπολογίστηκε μόνο η περιεκτικότητα EC10 (24,41%). Η μειωμένη τοξικότητα των επεξεργασμένων στραγγισμάτων σε σχέση με τα ανεπεξέργαστα αποδόθηκε στις αντίστοιχα μειωμένες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων και οργανικών ουσιών¹³⁹.

Πραγματοποιήθηκε *Allium* test για να αξιολογηθεί η τοξικότητα (α) λυματολάσπης από εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων και (β) λυματολάσπης κομποστοποιημένης με χρήση γεωσκωλήκων *E.foetida* (vermicomposting). Παρασκευάστηκαν στραγγίσματα από τη μη κομποστοποιημένη και την κομποστοποιημένη λυματολάσπη και οι μέσες συγκεντρώσεις τους σε βαρέα μέταλλα ήταν, αντίστοιχα, Cr 0,37 και 0,27 μg/L, Cu 0,38 και 0,02 μg/L, Ni 3,99 και 2,15 μg/L, Pb 2,11 και 0,32 μg/L. Χαμηλές περιεκτικότητες στραγγισμάτων (2,5% και 5%) δεν προκάλεσαν μορφολογικές ανωμαλίες στις ρίζες κρεμμυδιών, αλλά περιεκτικότητες >10% προκάλεσαν "κατσαρές" και κυματοειδούς σχήματος ρίζες, ενώ οι ρίζες των φυτών-μαρτύρων (επεξεργασία με καθαρό νερό) ήταν ευθύγραμμες και κανονικού σχήματος. Οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στις ρίζες κρεμμυδιών που επεξεργάστηκαν με στραγγίσματα απλής και κομποστοποιημένης λυματολάσπης ήταν αντίστοιχα Cr 17,1 και 14,59 μg/g, Cu 23,3 και 22,15 μg/g, Ni 7,57 και 5,46 μg/g, Pb 20,62 και 14,78 μg/g. Το βάρος των ριζών του φυτού μειώθηκε, ανάλογα προς την αύξηση της

συγκέντρωσης λυματολάσπης στα στραγγίσματα που χρησιμοποιήθηκαν. Το βάρος των ριζών που επεξεργάστηκαν με κομποστοποιημένη λυματολάσπη ήταν σχεδόν ίδιο με το αντίστοιχο βάρος των φυτών-μαρτύρων. Το μήκος των ριζών κρεμμυδιών ήταν αντιστρόφως ανάλογο της συγκέντρωσης λυματολάσπης και μετρήθηκε 11,2 cm στα φυτά-μάρτυρες, και 4,1 cm και 10,3 cm στα φυτά που επεξεργάστηκαν με στραγγίσματα που περιείχαν 10% απλή και κομποστοποιημένη λυματολάσπη, αντίστοιχα¹⁴⁰.

Βολβοί κρεμμυδιών τοποθετήθηκαν σε στρώμα ιπτάμενης τέφρας (προερχόμενης από μονάδα παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας από καύση άνθρακα) για 5 ημέρες, προκειμένου να βλαστήσουν (*Allium test*), έτσι ώστε να αξιολογηθεί η τοξικότητα της εν λόγω τέφρας, κυρίως λόγω των περιεχομένων σε αυτή βαρέων μετάλλων. Οι μέσες συγκεντρώσεις μετάλλων στην ιπτάμενη τέφρα μετρήθηκαν Zn 28,9 mg/kg, Pb 23,39 mg/kg, Cu 16,29 mg/kg, Ni 14,06 mg/kg, Cd 0,91 mg/kg και As 0,51 mg/kg. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ιπτάμενη τέφρα σε συγκέντρωση 100% εμποδίζει την ανάπτυξη των ριζών ($p < 0,05$), καθώς το μέσο μήκος ριζών ήταν 1,38 cm και το μέσο μήκος ριζών των φυτών - μαρτύρων ήταν 3,91 cm (65% μείωση στο μήκος ριζών). Συμπερασματικά, η ιπτάμενη τέφρα από μονάδες παραγωγής ενέργειας θεωρείται ότι είναι κυτταροτοξική και εμποδίζει την ανάπτυξη των ριζών κρεμμυδιών, κυρίως λόγω της ύπαρξης σε αυτήν βαρέων μετάλλων¹⁴¹.

Πραγματοποιήθηκε *Allium test* για την συγκριτική αξιολόγηση της τοξικότητας συγκεκριμένων βαρέων μετάλλων. Στην έρευνα, τα κρεμμύδια εκτέθηκαν για επτά ημέρες σε ένα μόνο βαρύ μέταλλο μίας συγκεκριμένης συγκέντρωσης (1 mg/L). Τα μέταλλα ήταν Al, Cu, Fe και Mn. Στατιστικά σημαντική μείωση στο μήκος ριζών παρατηρήθηκε για τα φυτά που επεξεργάστηκαν με διαλύματα Cu και Fe ($p < 0,05$), ενώ μόνο μικρές μη στατιστικά σημαντικές διαφορές προκλήθηκαν από το Al. Η επεξεργασία με διάλυμα Cu προκάλεσε μείωση 90% στο μήκος ριζών σε σχέση με τις ρίζες των φυτών μαρτύρων ($p < 0,05$), ενώ η αντίστοιχη μείωση που προκλήθηκε από το διάλυμα Fe ήταν 35%. Ο αριθμός των ριζών και το μήκος των φύλλων των κρεμμυδιών που επεξεργάστηκαν με διαλύματα βαρέων μετάλλων ήταν ο ίδιος με τον αντίστοιχο αριθμό και μήκος φύλλων από τα φυτά-μάρτυρες. Στατιστικά σημαντική βιοσυσσώρευση βαρέων μετάλλων παρατηρήθηκε στις ρίζες των

κρεμμυδιών, σε σχέση με τις αντίστοιχες ρίζες κρεμμυδιών-μαρτύρων. Οι συγκεντρώσεις ήταν 35 και 100 mg/kg για το Al, 12 και 30.000 mg/kg για το Cu, 40 και 120 mg/kg για το Fe, και 35 και 600 mg/kg, αντίστοιχα, για τις ρίζες των φυτών-μαρτύρων και των φυτών που επεξεργάστηκαν με διαλύματα βαρέων μετάλλων. Στους βολβούς των κρεμμυδιών δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα φυτά-μάρτυρες και τα υπόλοιπα φυτά, με εξαίρεση το Mn και το Al. Οι συγκεντρώσεις των βολβών των φυτών μαρτύρων και των φυτών που επεξεργάστηκαν με Mn για 7 ημέρες ήταν <15 και 200 mg/kg ($p < 0,05$), αντίστοιχα. Οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις Al στους βολβούς ήταν 100 και 50 mg/kg (50% μείωση συγκέντρωσης Al στα φυτά που επεξεργάστηκαν με διαλύματα Al). Στα φύλλα κρεμμυδιών δεν παρατηρήθηκε βιοσυσσώρευση βαρέων μετάλλων με εξαίρεση το Mn όπου η συγκέντρωση στα φύλλα μάρτυρες ήταν 20 mg/kg ενώ στα φυτά που επεξεργάστηκαν με διάλυμα Mn ήταν 27 mg/kg ($p < 0,05$)¹⁴².

Πραγματοποιήθηκε *Allium* test για να εξεταστεί η τοξικότητα υγρών αποβλήτων, από διυλιστήριο πετρελαίου, που περιείχε βαρέα μέταλλα, υδρογονάνθρακες και άλλες τοξικές ουσίες. Το απόβλητο αραιώθηκε σε τελικά διαλύματα 0, 25%, 50%, 75% και 100% v/v και μετρήθηκε η δραστηριότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων. Η δραστηριότητα καταλάσης αυξήθηκε αναλογικά προς την περιεκτικότητα αποβλήτου στο διάλυμα μέχρι και την περιεκτικότητα 75% όπου η αύξηση ήταν 70%. Παρά ταύτα, η έκθεση σε απόβλητο 100% οδήγησε σε μείωση της δραστηριότητας καταλάσης κατά 35%. Οι δραστηριότητες της ασκορβικής υπεροξειδάσης και της υπεροξειδάσης γλουταθειόνης παρουσίασαν θετική συσχέτιση με την περιεκτικότητα υγρού αποβλήτου στο διάλυμα, φθάνοντας σε μέγιστη αύξηση 200% και 130%, αντίστοιχα, για περιεκτικότητα 100% σε υγρό απόβλητο, σε σύγκριση με τα φυτά-μάρτυρες¹⁴³.

Πραγματοποιήθηκε *Allium* test για να διαπιστωθεί, εμμέσως, η απόδοση της επεξεργασίας αποβλήτων όξινων απορροών ορυχείου. Η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων του ορυχείου αξιολογήθηκε, σε εργαστηριακή κλίμακα, με χρήση ασβεστόχου αποβλήτου (ορυχείου) ως κροκιδωτικού μέσου. Οι μέσες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στα ανεπεξέργαστα και επεξεργασμένα απόβλητα ορυχείου μετρήθηκαν Al 28,99 και 0,00 mg/L, Fe 13,23 και 0,02

mg/L, Mn 13,03 και 0,85 mg/L, Zn 1,19 και 0,22 mg/L, Cu 0,01 και 0,01 mg/L. Η δραστικότητα καταλάσης στις ρίζες κρεμμυδιών που επεξεργάστηκαν με ανεπεξέργαστο απόβλητο ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένη κατά 47,2% και 67,8%, σε σχέση με τα φυτά που επεξεργάστηκαν με καθαρό νερό και με επεξεργασμένο απόβλητο, αντίστοιχα. Επίσης, ακόμη και επεξεργασία με χαμηλή συγκέντρωση ανεπεξέργαστου αποβλήτου οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση του μήκους των ριζών κρεμμυδιών ($EC_{50}=10,4\%$) ενώ με επεξεργασία σε διάλυμα 50% ανεπεξέργαστου αποβλήτου το μήκος ριζών μειώθηκε κατά περίπου 95%¹⁴⁴.

Ερευνήθηκε η τοξικότητα αργιλίου μέσω *Allium* test. Βολβοί κρεμμυδιών επεξεργάστηκαν με συγκεντρώσεις 0, 1, 10, 50, 100, και 200 μM χλωριούχου αργιλίου σε pH 4,5. Η πρόσληψη Al στις ρίζες κρεμμυδιών ήταν ανάλογη των συγκεντρώσεων αργιλίου, με στατιστικά σημαντικές διαφορές. Η δραστικότητα της καταλάσης μειώθηκε ανάλογα προς την αύξηση της συγκέντρωσης του Al στα φυτά ($p \leq 0,01$). Οι δραστικότητες της υπεροξειδάσης γουαϊάκολλας ($p \leq 0,01$) και της ασκορβικής υπεροξειδάσης ($p \leq 0,01$) αυξήθηκαν ανάλογα προς την αύξηση της συγκέντρωσης του Al¹⁴⁵.

Ερευνήθηκε η τοξικότητα υγρού βιομηχανικού αποβλήτου με τη χρήση *Allium* test και έχοντας ως βιοδείκτες τα αντιοξειδωτικά ένζυμα καταλάση, ασκορβική υπεροξειδάση και υπεροξειδάση γλουταθειόνης. Οι μέσες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στο βιομηχανικό απόβλητο ήταν Cd 472 mg/L, Cu 104 mg/L, Cr 44,2 mg/L, Pb 167,3 mg/L, Zn 93,6 mg/L και Hg 87 mg/L. Οι βολβοί κρεμμυδιών τοποθετήθηκαν, για λίγες μέρες, στο εργαστήριο και αφέθηκαν να βλαστήσουν σε ανεπεξέργαστο απόβλητο και σε απόβλητο αραιωμένο 2.000 φορές, 1.000 φορές και 100 φορές. Εκτός των παραπάνω υγρών μέσων, άλλοι βολβοί κρεμμυδιών, σε παράλληλο πείραμα με το παραπάνω, τοποθετήθηκαν για βλάστηση σε ξεχωριστά διαλύματα Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} και Cr^{6+} . Η δραστικότητα καταλάσης αυξήθηκε αναλογικά με την αύξηση των συγκεντρώσεων των παραπάνω βαρέων μετάλλων, έως και τη συγκέντρωση των 10 μM , μετά την οποία παρουσίασε σταδιακή μείωση. Επεξεργασία των κρεμμυδιών με ανεπεξέργαστο βιομηχανικό απόβλητο οδήγησε σε πλήρη παρεμπόδιση της δραστικότητας της καταλάσης, ενώ αντίστοιχη επεξεργασία με τα αραιωμένα διαλύματα βιομηχανικού αποβλήτου δεν έδειξαν στατιστικά

σημαντικές αυξήσεις της δραστηρότητας του ενζύμου. Η δραστηρότητα ασκορβικής υπεροξειδάσης και υπεροξειδάσης γλουταθειόνης αυξήθηκε σημαντικά, με επεξεργασία ξεχωριστά, με τα διαλύματα των παραπάνω βαρέων μετάλλων, με μεγαλύτερη αύξηση αυτή που προκλήθηκε από τον Hg^{2+} . Συγκεκριμένα, με 10.000 μM Hg^{2+} πενταπλασιάστηκε η δραστηρότητα της ασκορβικής υπεροξειδάσης και εννιπλασιάστηκε η δραστηρότητα υπεροξειδάσης γλουταθειόνης. Η ίδια αύξηση παρουσιάστηκε στα δύο ένζυμα με χρήση ανεπεξέργαστου υγρού βιομηχανικού αποβλήτου¹⁴⁶.

Έγινε χρήση *Allium* test για να αξιολογηθούν οι αντιδράσεις στη φυσιολογία κρεμμυδιών από τα διαλύματα υδραργύρου. Τα φυτά εκτέθηκαν για 96 ώρες σε μέσο με θρεπτικά που περιείχε 0,001 έως 4 mg/L $HgCl_2$ (0,0007 έως 2,95 mg Hg/L) ή $MeHgCl_2$ 0,0001 έως 0,1 mg/L (0,00007 έως 0,007 mg Hg/L). Η συγκέντρωση EC_{50} που προκάλεσε 50% μείωση στο μήκος ριζών κρεμμυδιών, για το χλωριούχο υδράργυρο, ήταν 2 mg/L, ενώ η αντίστοιχη συγκέντρωση EC_{50} για το χλωριούχο μεθυλικό υδράργυρο δεν βρέθηκε μέσα στο εύρος των συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν και επομένως πρέπει να ήταν >0,1 mg/L. Η δραστηρότητα καταλάσης στις ρίζες φυτών αυξήθηκε στις συγκεντρώσεις $HgCl_2$ από 0,001 έως 1 mg/L και $MeHgCl_2$ από 0,001 έως 0,01 mg/L. Η δραστηρότητα υπεροξειδάσης αυξήθηκε σε συγκεντρώσεις έως και 0,5 mg/L για το $HgCl_2$ και 0,001 mg/L για το $MeHgCl_2$, πέρα από τις οποίες η ενζυμική δραστηρότητα μειώθηκε με αύξηση της συγκέντρωσης. Και για τα δύο ένζυμα οι μεγαλύτερες δραστηρότητες στις ρίζες κρεμμυδιών παρατηρήθηκε στις παραπάνω αναφερόμενες συγκεντρώσεις 0,5 mg/L για το $HgCl_2$ και 0,001 mg/L για το $MeHgCl_2$ ¹⁴⁷.

1.8.3 Καρότα

Αξιολογήθηκαν οι τοξικές επιπτώσεις του Cr στα καρότα (*Daucus carota* L.) και συγκεκριμένα στην ποικιλία "Pusa Keshari", μέσω καλλιέργειάς τους σε λεπτόκκοκη άμμο, σε γλάστρες, μέσα σε θερμοκήπιο. Τις πρώτες 48 ημέρες δεν έγινε προσθήκη Cr, παρά μόνο θρεπτικών. Την 49^η ημέρα ο αριθμός των γλαστρών χωρίστηκε σε τρία ίσα μέρη. Το ένα χρησίμευσε ως μάρτυρας και τα άλλα δύο ποτίστηκαν με 0,1 mM (5,2 mg Cr^{6+}/L) και 0,25 mM (13

mgCr⁶⁺/L) διχρωμικού καλίου, αντίστοιχα. Μετά από 4 ημέρες, τα φυτά που ποτίστηκαν με 0,25 mM παρουσίασαν μείωση στην ανάπτυξη και το μέγεθος των φύλλων. Τα μεγαλύτερης ηλικίας φύλλα υπέστησαν χλώρωση και μαράθηκαν. Στη συνέχεια, η χλώρωση εντάθηκε και μαράθηκαν και τα επόμενα φύλλα στο πάνω μέρος του φυτού. Η χλώρωση καθυστέρησε στα φύλλα που ποτίστηκαν με 0,1 mM. Στα 0,01 mM και 0,25 mM Cr ποτίσματος, υπήρξε μείωση στη συνολική βιομάζα του φυτού κατά 28% και 59%, αντίστοιχα. Η δραστικότητα καταλάσης στα φύλλα μειώθηκε, αντίστοιχα, κατά 54% και 71%, ενώ αυξήθηκε σημαντικά η συγκέντρωση Cr στα φύλλα. Η δραστικότητα υπεροξειδάσης αυξήθηκε στα φυτά που ποτίστηκαν με 0,01 mM και 0,25 mM Cr κατά 50% και 495%, αντίστοιχα¹⁴⁸.

Πίνακας 1.2: Επιπτώσεις στη φυσιολογία των φυτών και τις δραστηκότητες καταλάσης και υπεροξειδασών από την πρόσληψη βαρέων μετάλλων.

Φυτό	Κλίμακα εφαρμογής	Επεξεργασία με βαρέα μέταλλα	Επιπτώσεις στη φυσιολογία των φυτών και τις δραστηκότητες καταλάσης και υπεροξειδασών από την πρόσληψη βαρέων μετάλλων	Βιβλιογραφία
πατάτα	εργαστήριο	Al	Η δραστηκότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης μεταβλήθηκε μετά από επεξεργασία με Al είτε αυξανόμενη είτε μειούμενη, ανάλογα με το χρόνο επεξεργασίας και την ποικιλία πατάτας. Μείωση στο μήκος ριζών στην ευαίσθητη στο Al ποικιλία. Αύξηση της συγκέντρωσης του Al στις ρίζες και τους κορμούς, ανάλογη προς την αύξηση της συγκέντρωσης Al στο διάλυμα	Tabaldi et al. (2009) ¹²⁵
πατάτα	θερμοκήπιο	Cd	Αύξηση της συγκέντρωσης του Cd στις ρίζες και τους κορμούς ανάλογη προς την αύξηση της συγκέντρωσης του Cd στο διάλυμα. Η επεξεργασία με Cd επηρέασε τον αριθμό κομβικών τμημάτων. Η δραστηκότητα της καταλάσης μεταβλήθηκε μετά από επεξεργασία με Cd είτε αυξανόμενη είτε μειούμενη ανάλογα με το χρόνο επεξεργασίας και την ποικιλία πατάτας.	Goncalves et al. (2009a) ¹²⁶
πατάτα	Εργαστήριο και θερμοκήπιο	Cd	Μεταβολές στη βιομάζα κορμών στο πείραμα <i>in vitro</i> , ανάλογα με τη συγκέντρωση διαλύματος σε Cd και την ποικιλία πατάτας. Αύξηση της συγκέντρωσης Cd στα φυτά ανάλογη με την αύξηση των επιπέδων Cd στο διάλυμα.	Goncalves et al. (2009b) ¹²⁷
πατάτα	εργαστήριο	Cd	Η δραστηκότητα καταλάσης και η δραστηκότητα υπεροξειδάσης ασκορβικού οξέος μεταβλήθηκε μετά από επεξεργασία με Cd, είτε αυξανόμενη είτε μειούμενη, ανάλογα με το χρόνο επεξεργασίας, τη συγκέντρωση του Cd και την ποικιλία πατάτας	Stroinski and Kozłowska (1997) ¹²⁸
πατάτα	θερμοκήπιο	Ni	Μείωση στην ανάπτυξη, ανάλογη προς τη συγκέντρωση Ni στο διάλυμα. Αρνητικές επιπτώσεις στη φυσιολογία του φυτού. Μείωση στη βιομάζα του φυτού. Αύξηση της συγκέντρωσης σε όλα τα μέρη του φυτού ανάλογη προς την αύξηση της συγκέντρωσης Ni. Οι δραστηκότητες καταλάσης και υπεροξειδάσης στους βολβούς πατάτας μειώθηκαν με την αύξηση της συγκέντρωσης νικελίου.	Shukla and Gopal (2009) ¹²⁹
πατάτα	εργαστήριο	Κόμποστ από αστικά στερεά απόβλητα (Sn, As, Cu, Zn, Ni, Pb, Mn, Cd, και Fe)	Παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα στις συγκεντρώσεις As, Cu, Zn, και Ni στις πατάτες και του ποσοστού κόμποστ στο μέσο ανάπτυξης του φυτού ενώ, αντιστοίχως, δεν υπήρχε καμία επίπτωση στον αριθμό και στο μήκος των φύλλων πατάτας όταν τα φυτά καλλιεργήθηκαν σε μέσο με αυξημένο ποσοστό κόμποστ.	Shibli et al. (1999) ¹³⁰
κρεμμύδι	εργαστήριο	Cr ⁶⁺	Το μήκος ριζών ήταν σε αρνητική συσχέτιση με τη συγκέντρωση εξασθενούς χρωμίου στο διάλυμα.	Rank and Nielsen (1993) ¹³¹
κρεμμύδι	εργαστήριο	Cr ⁶⁺ διαλυμένο σε καθαρό νερό και ρυπασμένο νερό ποταμού	Το μήκος ριζών άρχισε να μειώνεται πάνω από κάποια συγκέντρωση Cr ⁶⁺ . Η μείωση ήταν μεγαλύτερη στο διάλυμα καθαρού νερού από ό,τι στο διάλυμα ρυπασμένου νερού ποταμού.	Espinoza-Quinones et al. (2009) ¹³²
κρεμμύδι	εργαστήριο	Cu, Pb, Zn	Μείωση του μήκους ριζών λόγω βαρέων μετάλλων, με την εξής σειρά: Cu>Pb>Zn.	Arambasic et al. (1995) ¹³³
κρεμμύδι	εργαστήριο	Cu	Το μήκος των ριζών και των φύλλων σχετιζόταν αρνητικά με τη συγκέντρωση του Cu στο διάλυμα. Αύξηση της συγκέντρωσης Cu στις ρίζες και τα φύλλα (όχι στους βολβούς) με ανάλογη αύξηση της συγκέντρωσης Cu στο διάλυμα.	Geremias et al. (2010) ¹³⁴
κρεμμύδι	εργαστήριο	Cu, Zn και Pb	Το μήκος ριζών επηρεάστηκε αρνητικά από τη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στο διάλυμα.	Palacio et al. (2005) ¹³⁵
κρεμμύδι	εργαστήριο	CuSO ₄ , CoCl ₂	Το μήκος ριζών παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με τη συγκέντρωση θειικού χαλκού και του χλωριούχου κοβαλτίου στο διάλυμα.	Yildiz et al. (2009) ¹³⁶
κρεμμύδι	εργαστήριο	CuSO ₄	Το μήκος ριζών είτε αυξήθηκε είτε μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης στο διάλυμα.	Liu et al. (1993) ¹³⁷
κρεμμύδι	εργαστήριο	Λάσπες από επεξεργασία υγρών αποβλήτων	Το μήκος ριζών παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με την ποσότητα Pb, Zn και Cd που προστέθηκε.	Rank and Nielsen (1998) ¹³⁸

Κεφάλαιο 1. Πρόσληψη βαρέων μετάλλων. Επιπτώσεις στα φυτά και στη δημόσια υγεία.

κρεμμύδι	εργαστήριο	Στραγγίσματα (Al, Pb, Fe, Mn και Zn)	Το μήκος ριζών παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με τις συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στα στραγγίσματα.	Bortolotto et al. (2009) ¹³⁹
κρεμμύδι	εργαστήριο	Στραγγίσματα (Cr, Cu, Ni, Pb)	Υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στα στραγγίσματα προκάλεσαν "κατσάρές" και κυματοειδούς σχήματος ρίζες κρεμμυδιών καθώς και μείωση βάρους στα φυτά.	Srivastava et al. (2005) ¹⁴⁰
κρεμμύδι	εργαστήριο	Ιπτάμενη τέφρα (Zn, Pb, Cu, Ni, Cd και As)	Η ανάπτυξη των ριζών επηρεάστηκε αρνητικά από τη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στην ιπτάμενη τέφρα.	Chakraborty et al. (2009) ¹⁴¹
κρεμμύδι	εργαστήριο	Al, Cu, Fe, Mn	Η ανάπτυξη, το μήκος και το βάρος των ριζών μειώθηκε. Όλες οι χημικές ουσίες βιοσυσσωρεύτηκαν στις ρίζες. Το Al βιοσυσσωρεύτηκε στους βολβούς. Το Mn βιοσυσσωρεύτηκε στους βολβούς και τα φύλλα.	Geremias et al. (2011) ¹⁴²
κρεμμύδι	εργαστήριο	Απόβλητα διυλιστηρίου πετρελαίου	Η δραστηριότητα καταλάσης, ασκορβικής υπεροξειδάσης και υπεροξειδάσης γλουταθειόνης μεταβλήθηκε ανάλογα με την επεξεργασία με βαρέα μέταλλα.	Gupta and Ahmad (2011) ¹⁴³
κρεμμύδι	εργαστήριο	Υγρά απόβλητα (Al, Fe, Mn, Zn, Cu)	Η δραστηριότητα καταλάσης στις ρίζες των φυτών αυξήθηκε μετά από επεξεργασία με το υγρό απόβλητο. Η ανάπτυξη των ριζών μειώθηκε.	Geremias et al. (2012) ¹⁴⁴
κρεμμύδι	εργαστήριο	Al	Η πρόσληψη αργιλίου στους ιστούς των ριζών αυξήθηκε ανάλογα με τη δόση Al στο διάλυμα. Η δραστηριότητα καταλάσης παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με τη συγκέντρωση Al στο διάλυμα. Η υπεροξειδάση γουαϊάκολλας και η ασκορβική υπεροξειδάση αυξήθηκαν.	Achary et al. (2008) ¹⁴⁵
κρεμμύδι	εργαστήριο	Βιομηχανικά υγρά απόβλητα (Cd, Cu, Cr, Pb, Zn και Hg). Επίσης, διαλύματα Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} και Cr^{6+} .	Η δραστηριότητα καταλάσης αυξήθηκε ή μειώθηκε ανάλογα προς την επεξεργασία με βαρέα μέταλλα. Επεξεργασία με ανεπεξέργαστο απόβλητο οδήγησε σε πλήρη παρεμπόδιση της δραστηριότητας καταλάσης. Η υπεροξειδάση γουαϊάκολλας και η ασκορβική υπεροξειδάση αυξήθηκαν σημαντικά με την επεξεργασία με Hg^{2+} και ανεπεξέργαστο βιομηχανικό απόβλητο.	Fatima and Ahmad (2005) ¹⁴⁶
κρεμμύδι	εργαστήριο	$HgCl_2$ και $MeHgCl_2$	Η ανάπτυξη των ριζών μειώθηκε με τη χρήση $HgCl_2$ και $MeHgCl_2$. Η δραστηριότητα καταλάσης αυξήθηκε ενώ η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης είτε αυξήθηκε είτε μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης των ουσιών.	Subhadra et al. (1991) ¹⁴⁷
καρότο	θερμοκήπιο	Cr	Η δραστηριότητα της καταλάσης μειώθηκε και της υπεροξειδάσης αυξήθηκε με την επεξεργασία με Cr. Η συνολική βιομάζα του φυτού μειώθηκε. Παρατηρήθηκε χλώρωση και νέκρωση στα φύλλα.	Dube et al. (2009) ¹⁴⁸

1.9 Επιπτώσεις στη δημόσια υγεία από την κατανάλωση τροφίμων με βαρέα μέταλλα

1.9.1 Γενικά

Η διασταυρούμενη επιμόλυνση (cross-contamination) των τροφών από βαρέα μέταλλα αποτελεί έναν ανερχόμενο διατροφικό κίνδυνο καθώς η σχέση μεταξύ ρύπανσης περιβάλλοντος και τροφικής αλυσίδας έχει πλέον αποδειχθεί¹⁵⁰. Η επίπτωση ρυπασμένων καρπών, τα οποία αποτελούν βασικά συστατικά της ανθρώπινης διαίτας, όπως τα καρότα (*Daucus carota* L.), τα κρεμμύδια (*Allium cepa* L.) και οι πατάτες (*Solanum tuberosum* L.) στην τροφική αλυσίδα είναι μεγάλης σημασίας^{149,150}. Αυτό, διότι λόγω σημαντικής βιοσυσσώρευσης των βαρέων μετάλλων στον ανθρώπινο οργανισμό έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να προκληθούν σοβαρά συστηματικά προβλήματα υγείας¹⁵¹.

Επιπλέον, η κατανάλωση ρυπασμένων τροφών με βαρέα μέταλλα μπορεί να προκαλέσει μείωση κάποιων απαραίτητων θρεπτικών συστατικών στον ανθρώπινο οργανισμό και να οδηγήσει σε εξασθένηση της άμυνας του ανοσοποιητικού συστήματος, σε καθυστέρηση της ενδομήτριας ανάπτυξης, να επηρεάσει την ψυχο-κοινωνική συμπεριφορά, να δημιουργήσει αναπηρίες που σχετίζονται με την κακή διατροφή και πρόκληση καρκίνου του ανώτερου γαστρεντερικού συστήματος¹¹⁶.

Η κατανάλωση λαχανικών με υψηλές συγκεντρώσεις Cr, Ni, Pb και Zn οδήγησε σε υψηλές συγκεντρώσεις των μετάλλων αυτών στο αίμα και τα ούρα κατοίκων σε ρυπασμένη παριοχή της Ινδίας. Λόγω της αργής βιοσυσσώρευσης των μετάλλων αυτών στο ανθρώπινο σώμα, οι συγκεντρώσεις τους σε αίμα και ούρα ήταν μεγαλύτερες στις ηλικίες μεταξύ 35 και εξήντα ετών^{23,152}.

1.9.2 Επιπτώσεις από το Ni

Ειδικότερα, το Ni σε υψηλές δόσεις και σε συγκεκριμένες μορφές είναι τοξικό στους ανθρώπους και τα ζώα. Κάποια όργανα μπορούν να υποστούν χρόνια δηλητηρίαση μέσω του νικελίου. Επίσης, είναι τερατογόνο και καρκινογόνο¹⁵³. Μελέτες έκθεσης επαγγελματικών ομάδων σε νικέλιο (Occupational exposure

studies) κατέδειξαν ότι μπορεί, με την επαφή, να προκαλέσει αλλεργική δερματίτιδα. Μελέτες έκθεσης ζώων σε Ni κατέδειξαν ότι οι κύριοι στόχοι του Ni είναι (α) το αναπνευστικό σύστημα μέσω της έκθεσης σε εισπνοή, (β) το ανοσοποιητικό σύστημα μέσω εισπνοής, κατάποσης ή δερματικής έκθεσης και (γ) πιθανόν το σύστημα αναπαραγωγής και ανάπτυξης των οργανισμών μέσω της κατάποσης νικελίου¹⁵⁴.

Το Ni έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να προκαλέσει δυσμενείς επιπτώσεις στα νεφρά, τη σπλήνα, τα πνευμόνια και το μυελό σε πειραματόζωα. Ένα ποσοστό ανθρώπων (υπολογίζεται σε περίπου 15% των γυναικών και στο οποίο συχνά δεν γίνεται διάγνωση) έχει ευαισθησία στο νικέλιο και αναπτύσσει έκζεμα στα χέρια μέσω κατάποσης ή δερματικής επαφής με άλατα νικελίου (π.χ. μαχαιροπήρουνα, ιατρικά επιθέματα, σκουλαρίκια). Κατάποση ακόμη και μικρών ποσοτήτων νικελίου, έως και 500 μg/d (περίπου 8 μg/kg ανθρώπινου βάρους/d) έχει αναφερθεί ότι μπορεί να προκαλέσει έκζεμα¹⁵⁵.

1.9.3 Επιπτώσεις από το Cr

Το τρισθενές χρώμιο [Cr(III)] σε μικρές ποσότητες είναι σημαντικό θρεπτικό στοιχείο για την ανθρώπινη υγεία, ενώ η κατάποση μεγάλων ποσοτήτων από αυτό μπορεί να προκαλέσει προβλήματα υγείας¹⁵⁶. Οι ενώσεις του εξασθενούς χρωμίου [Cr(VI)] έχουν χαρακτηριστεί ως καρκινογόνες για τον άνθρωπο¹⁵⁷. Η μεγάλη πλειοψηφία τοξικολογικών μελετών σε επαγγελματικές ομάδες καταδεικνύουν ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος καρκίνου του πνεύμονα σε εργαζόμενους που εκτίθενται σε εξασθενές χρώμιο, κυρίως στην παραγωγή χρωμίτη, χρωστικών ουσιών που περιέχουν χρωμίτη και στην ηλεκτροπόθεση χρωμίου (επιμετάλλωση).

Υπάρχουν κάποιες επιδημιολογικές μελέτες σε επαγγελματικές ομάδες οι οποίες αναφέρουν ότι υπάρχει πιθανή αύξηση αριθμού ρινικών καρκίνων σε εργαζόμενους που εκτίθενται σε εξασθενές χρώμιο. Υπάρχουν επίσης κάποιες αποδείξεις ότι η έκθεση σε εξασθενές χρώμιο προκαλεί καρκίνο στο στομάχι και άλλους καρκίνους¹⁵⁸. Εισαγωγή διχρωμικού νατρίου, μέσω κατάποσης σε αρουραίους και ποντίκια προκάλεσε καρκίνο της στοματικής κοιλότητας και του γαστρεντερικού συστήματος ενώ κατάποση διχρωμικού

καλίου αύξησε τον καρκίνο του δέρματος που προκαλείται από την υπεριώδη ακτινοβολία¹⁵⁷.

Υπάρχουν μόνο δύο μελέτες ανθρώπινης έκθεσης σε εξασθενές χρώμιο μέσω κατάποσης πόσιμου νερού οι οποίες αναφέρονται σε αριθμούς καταγεγραμμένων καρκίνων σε ανθρώπινα όργανα².

Στην πρώτη μελέτη, στο Jinzhou, Κίνα¹⁵⁹ η αναλογία (rate ratio, RR) του αριθμού όλων των καρκίνων στα χωριά που εκτέθηκαν σε ρυπασμένο νερό προς τον αριθμό όλων των καρκίνων σε ολόκληρη την Περιφέρεια που βρίσκονται τα χωριά αυτά ήταν ελαφρώς αυξημένη (1,23, CI=0,97-1,53) αλλά όχι στατιστικά σημαντική ($p=0,078$). Η αντίστοιχη αναλογία για τον καρκίνο του στομάχου των κατοίκων των χωριών που εκτέθηκαν σε ρυπασμένο νερό σε σχέση με τα χωριά της Περιφέρειας ήταν αυξημένη (1,69, CI=1,12-2,44), και στατιστικά σημαντική ($p=0,013$).

Η δεύτερη μελέτη έγινε στα Οινόφυτα¹¹. Αποδείχθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση καρκίνων του ήπατος (RR=11, $p<0,001$). Σε κατανομή ανά φύλο η αναλογία για τους άνδρες βρέθηκε RR=8,1 ($p<0,003$) και για τις γυναίκες RR=39,5 ($p=0,002$).

Μία σημαντική πηγή εισαγωγής βαρέων μετάλλων στην διατροφική αλυσίδα είναι τα λαχανικά και ειδικά οι βολβοί όπως τα καρότα, οι πατάτες και τα κρεμμύδια. Άλλες πηγές είναι π.χ. το νερό, ο αέρας, ιατρικά επιθέματα, μαχαιροπήρουνα, όπως αναφέρθηκε.

Παρά τα αποτελέσματα των μελετών που προαναφέρθηκαν, στα τρόφιμα δεν υπάρχει θεσμοθετημένο όριο για τη συγκέντρωση Cr και Ni, ενώ υπάρχουν αντίστοιχα όρια στο νερό ανθρώπινης κατανάλωσης, τα οποία αξιολογούνται συνεχώς και οδηγούνται προς το αυστηρότερο. Η έλλειψη αυτή αποτελεί ένα νομικό κενό, το οποίο πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψιν από τους αρμόδιους διεθνείς οργανισμούς και την Ευρωπαϊκή Ένωση (βλ. κεφάλαιο 3.4).

1.10 Έρευνα του Εργαστηρίου Τροφίμων και του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του ΕΚΠΑ. Σκοπός της διδακτορικής εργασίας

Η ομάδα έρευνας του Εργαστηρίου Τροφίμων του Τμήματος Χημείας του ΕΚΠΑ προσδιόρισε τα βαρέα μέταλλα σε καρότα, κρεμμύδια και πατάτες που καλλιεργούνται στην περιοχή του Ασωπού, η οποία αποτελεί τη δεύτερη μεγαλύτερη βιομηχανική περιοχή της Ελλάδας και μία περιοχή στην οποία ο υδροφόρος ορίζοντας είναι ρυπασμένος με βαρέα μέταλλα¹¹⁶. Οι αναλύσεις κατέδειξαν ότι τα επίπεδα του νικελίου στα τρόφιμα του Ασωπού ήταν έως και εννέα (9) φορές μεγαλύτερα από τα τρόφιμα ελέγχου/μάρτυρες (π.χ. οι πατάτες της περιοχής Ασωπού είχαν μέση συγκέντρωση νικελίου 800 μg/kg ενώ οι πατάτες ελέγχου είχαν 78 μg/kg, τα καρότα της περιοχής Ασωπού είχαν μέση συγκέντρωση νικελίου 474 μg/kg ενώ τα καρότα ελέγχου είχαν 93 μg/kg). Επίσης, τα επίπεδα χρωμίου στα καρότα ήταν διπλάσια από αυτά στα καρότα ελέγχου (43 μg/kg στα καρότα Ασωπού έναντι 20 μg/kg στα καρότα ελέγχου).

Τέλος, από την παραπάνω ομάδα έρευνας μελετήθηκε η επίδραση των βαρέων μετάλλων σε δευτερογενείς μεταβολίτες και στην αντιοξειδωτική δραστηριότητα καρότων, κρεμμυδιών και πατατών¹⁶⁰.

Δείγματα από τους παραπάνω βολβούς που καλλιεργούνται στην περιοχή του Ασωπού και σε άλλες περιοχές ελέγχου (φυτά-μάρτυρες) αναλύθηκαν για καρροτενοειδή και την ικανότητά τους να δεσμεύουν τη ρίζα του 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου (DPPH). Στα καρότα μετρήθηκαν τα επίπεδα του α-καροτενίου, β-καροτενίου και λουτεΐνης και βρέθηκε ότι οι βολβοί του Ασωπού είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα β-καροτενίου σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες. Επίσης, στις πατάτες, τα επίπεδα της λουτεΐνης στα δείγματα του Ασωπού ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες. Παρά ταύτα, τα επίπεδα της λουτεΐνης μεταξύ των κρεμμυδιών της περιοχής Ασωπού και τα κρεμμύδια-μάρτυρες δεν είχαν στατιστικές διαφορές. Σε όλα τα δείγματα, δεν βρέθηκαν στατιστικές διαφορές στα επίπεδα της αντιοξειδωτικής δράσης (που μετρήθηκε ως συγκέντρωση της ουσίας που προκαλεί 50% εκκαθάριση του DPPH). Συμπερασματικά, η

παρουσία βαρέων μετάλλων στα καρότα και στις πατάτες επηρέασε τα επίπεδα των καροτενοειδών.

Με τις μελέτες αυτές διερευνήθηκε ένας πιθανός σύνδεσμος μεταξύ του ρυπασμένου υδροφόρου ορίζοντα στην περιοχή Ασωπού και της ποιότητας και ασφάλειας των βολβών που παράγονται σε αυτή την περιοχή.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήθηκε περισσότερο αυτός ο σύνδεσμος με κύριο σκοπό να διερευνηθεί η προσρόφηση από τα φυτά (καρότα, κρεμμύδια, πατάτες) του χρώμιου και του νικελίου που προστέθηκε σε γνωστές ποσότητες, καθώς και οι επιπτώσεις αυτής της προσθήκης στα επίπεδα κάποιων αντιοξειδωτικών ενζύμων (καταλάση, υπεροξειδάση).

Ειδικότερα, η έρευνα που διεξήχθη, για την επίτευξη του παραπάνω σκοπού, περιελάμβανε:

(α) την καλλιέργεια φυτών-βολβών σε χώμα το οποίο δεν είχε ρυπανθεί ποτέ στο παρελθόν με χρώμιο και νικέλιο - χρησιμοποιώντας για το σκοπό αυτό χώμα από βιολογικά πιστοποιημένο θερμοκήπιο από περιοχή μη ρυπασμένη με βαρέα μέταλλα – και το οποίο ρυπάνθηκε για πρώτη φορά, ανθρωπογενώς, μέσω των διαλυμάτων Cr(VI) και Ni(II) που παρασκευάστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία και

(β) την άρδευση των φυτών αυτών με νερό που περιείχε εξασθενές χρώμιο και νικέλιο σε συγκεντρώσεις τέτοιες που να βρίσκονται στη φύση και ιδίως στις περιοχές του Ασωπού και της Μεσσαπίας.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Καλλιέργεια φυτών σε θερμοκήπιο

Κατασκευάστηκε, μέσα σε θερμοκήπιο το οποίο βρίσκεται στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, μία ηλεκτρομηχανολογική εγκατάσταση, η οποία αποτελείτο από έξι (6) παράλληλες γραμμές άρδευσης φυτών.

Κάθε μία από τις παραπάνω σειρές, αποτελείτο από ένα δοχείο από πολυαιθυλένιο όγκου 300 L, μία επιφανειακή αντλία παροχής 2 m³/h σε μανομετρικό ύψος 3 m, και τρεις γλάστρες/κάδοι (συνολικά 6 δοχεία, 6 αντλίες και 18 γλάστρες). Σε κάθε μία από τις τρεις γλάστρες/κάδους καλλιεργήθηκε διαφορετικό είδος φυτού.

Σε κάθε γλάστρα τοποθετήθηκαν, από κάτω προς τα πάνω: (α) στρώμα 5 cm από κροκάλες, (β) στρώμα 5 cm από χαλίκια (για λόγους συγκράτησης του χώματος) και (γ) στρώμα 50-70 cm (ανάλογα το μέγεθος της γλάστρας) από χώμα.

Το χώμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν κοσκινισμένο και ομογενοποιημένο και παραλήφθηκε από βιολογικά πιστοποιημένο θερμοκήπιο στη Ραφήνα. Μεταφέρθηκε, μαζί με τις κροκάλες και τα χαλίκια, στο θερμοκήπιο του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου, μέσω φορτηγού και γερανοφόρου οχήματος, σε "big bags" χωρητικότητας 1 m³ έκαστο.

Στο βιολογικά πιστοποιημένο θερμοκήπιο, από το οποίο παρελήφθη το χώμα, δεν είχε γίνει ποτέ χρήση χημικών ουσιών, φυτοφαρμάκων και εμπορικών λιπασμάτων. Ως οργανικό λίπασμα χρησιμοποιήθηκαν "τσάμπουρα" (πυρήνας σταφυλιών). Το νερό άρδευσης στο βιολογικό θερμοκήπιο δεν περιείχε βαρέα μέταλλα.

Πριν την πλήρωση των γλαστρών, στο Χαροκόπειο, έγινε επιπλέον ομογενοποίηση του χώματος με χρήση φτυαριού. Στη συνέχεια, όλα τα υλικά φορτώθηκαν σε καρότσι και οδηγήθηκαν στις γλάστρες.

Τα καρότα και τα κρεμμύδια φυτεύτηκαν σε πλαστικές γλάστρες όγκου περίπου 300 L, διαμέτρου 80 cm και ύψους 60 cm (24 φυτά σε κάθε γλάστρα). Οι πατάτες φυτεύτηκαν σε πλαστικές γλάστρες/κάδους όγκου περίπου 600 L, διαμέτρου 100 cm και ύψους 80 cm (4 φυτά σε κάθε γλάστρα).

Κάθε πλαστική δεξαμενή νερού διαγραμμίστηκε στο εξωτερικό μέρος της με μαύρο ανεξίτηλο μαρκαδόρο έτσι ώστε κάθε γραμμή ύψους δεξαμενής να αντιστοιχεί σε όγκο υγρού ενός (1) L.

Η υδραυλική εγκατάσταση κάθε μίας από τις παραπάνω έξι (6) παράλληλες γραμμές άρδευσης αποτελείτο από βάνες, γωνίες, ταυ, συνδέσμους και άλλα υδραυλικά υλικά διαμέτρου Φ20 και Φ16 καθώς και σωλήνες, ίδιας διατομής, από σκληρό πολυαιθυλένιο.

Σε κάθε γλάστρα εγκαταστάθηκε σύστημα ποτίσματος με σταλάκτες σταθερής παροχής 16 L/h έκαστος. Οι σταλάκτες είχαν ίσες αποστάσεις μεταξύ τους και η εγκατάστασή τους έγινε ακριβώς πάνω από τα φυτά. Έτσι, σε κάθε γλάστρα κρεμμυδιών και καρότων εγκαταστάθηκαν 24 σταλάκτες και σε κάθε γλάστρα με πατάτες 4 σταλάκτες, εξασφαλίζοντας με αυτόν τον τρόπο σταθερή και ίση παροχή ποτίσματος για κάθε φυτό ξεχωριστά.

Η αναρρόφηση του νερού ποτίσματος γινόταν από το κάτω μέρος της δεξαμενής 300 L και εκτός από τους τρεις παράλληλους καταθλιπτικούς αγωγούς προς τις γλάστρες κάθε κλάδου, εγκαταστάθηκαν και σωλήνες ανακυκλοφορίας υγρού προς το πάνω μέρος της κάθε δεξαμενής έτσι ώστε ένα μέρος της παροχής εξόδου να χρησιμοποιείται συνεχώς για ομογενοποίηση του υγρού διαλύματος της δεξαμενής.

Κάθε ένας από τους έξι κλάδους ποτίσματος μπορούσε να αρδεύσει μόνο τρεις γλάστρες, ήτοι μία γλάστρα ανά είδος φυτού.

Το πότισμα γινόταν ξεχωριστά για κάθε γλάστρα με εκκίνηση της αντίστοιχης αντλίας και άνοιγμα βάνας και η ποσότητα νερού καταγραφόταν έτσι ώστε να εξασφαλίζεται ότι κάθε γλάστρα που αντιστοιχεί στο ίδιο είδος φυτού (π.χ. όλες οι γλάστρες στις οποίες φυτεύτηκαν πατάτες κ.ο.κ.) θα ποτίζεται με την ίδια ποσότητα.

Εκτός από την πρώτη σειρά φυτών που ποτίζονταν με καθαρό νερό (φυτά-μάρτυρες) τα φυτά-βολβοί των υπόλοιπων πέντε κλάδων ποτίζονταν με διαλύματα εξασθενούς χρωμίου [Cr(VI)] και δισθενούς νικελίου [Ni(II)] τα οποία παρασκευάστηκαν από στερεό διχρωμικό κάλιο $K_2Cr_2O_7$ και ένυδρο χλωριούχο νικέλιο $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, αντίστοιχα.



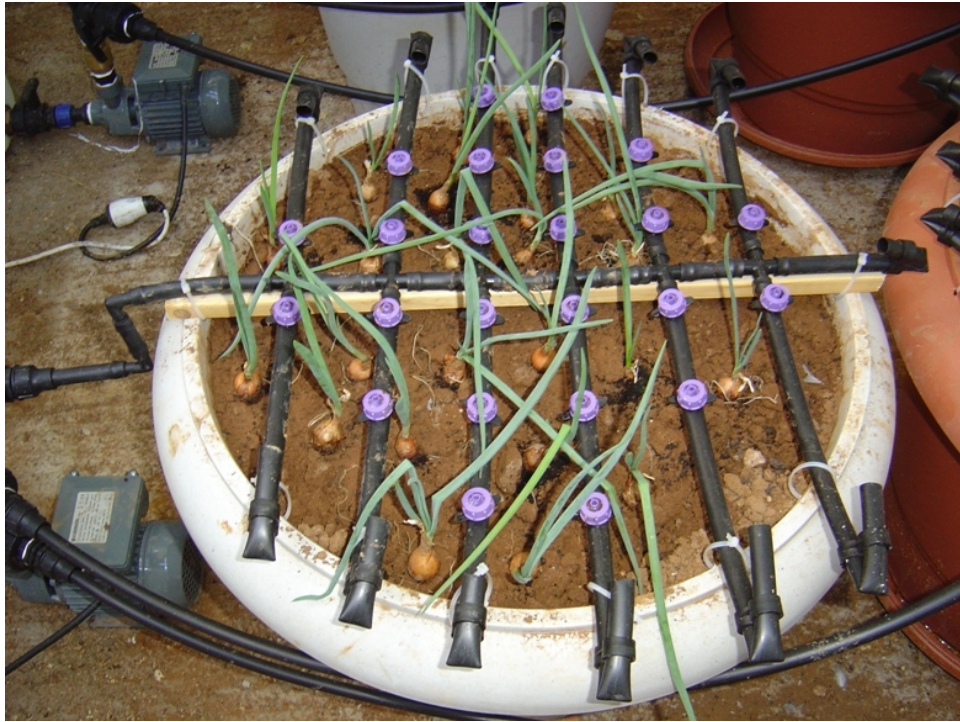
Εικόνα 2.1: Γενική άποψη εγκατάστασης θερμοκηπίου (1)



Εικόνα 2.2: Γενική άποψη εγκατάστασης θερμοκηπίου (2)



Εικόνα 2.3: Γλάστρα καρότων (λεπτομέρεια)



Εικόνα 2.4: Γλάστρα κρεμμυδιών (λεπτομέρεια)

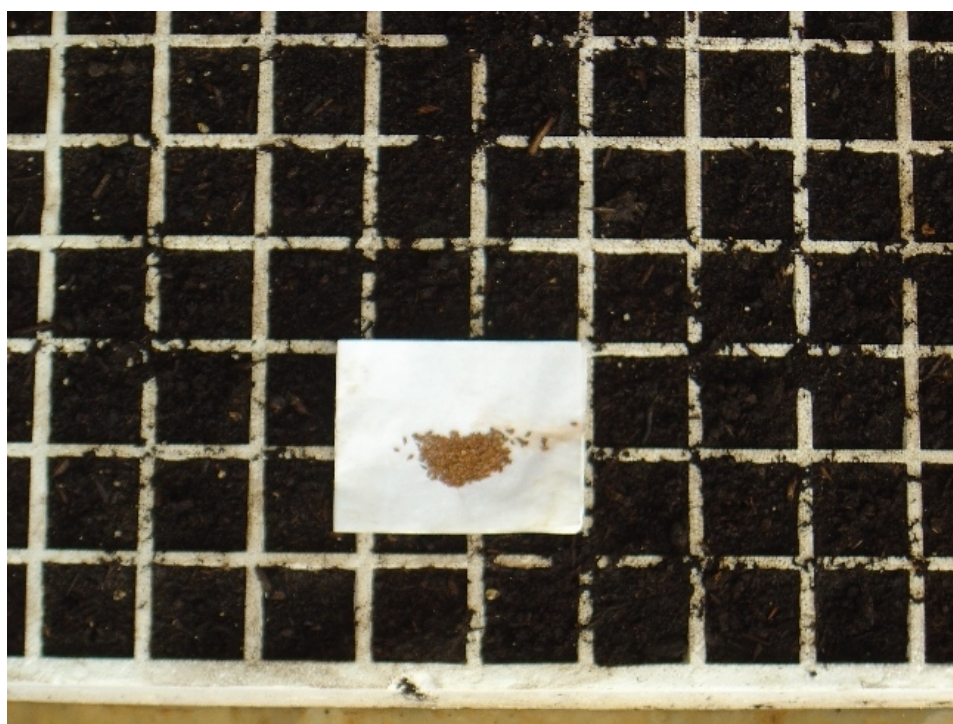


Εικόνα 2.5: Γλάστρα-κάδος πατατών (λεπτομέρεια)

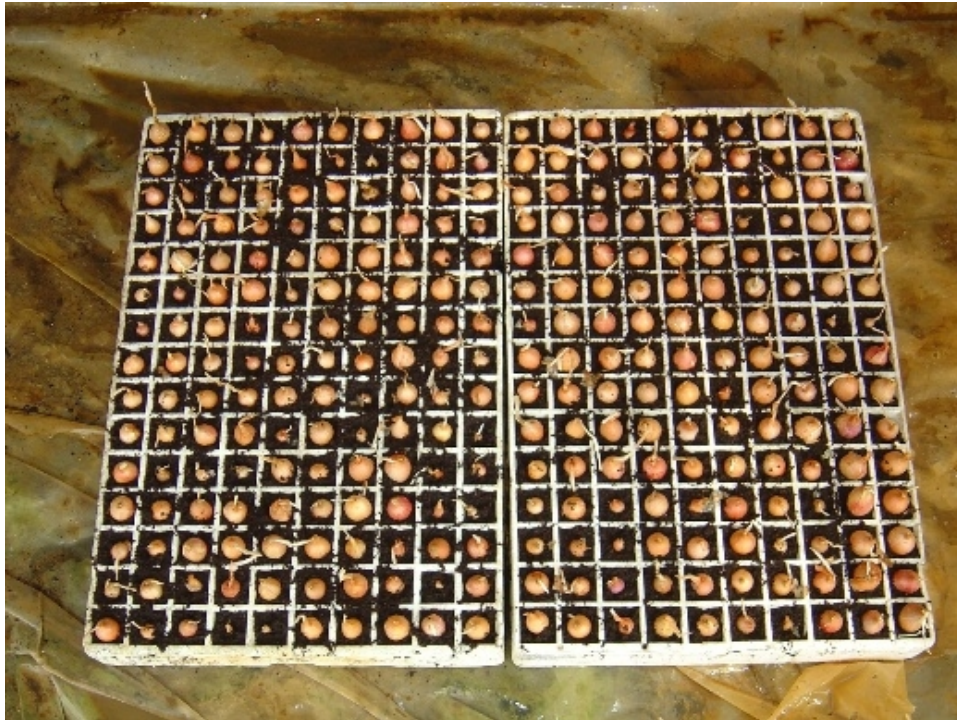
Ο σχεδιασμός της εγκατάστασης, η επιλογή του ηλεκτρομηχανολογικού εξοπλισμού, των υδραυλικών και οικοδομικών υλικών, των γλαστρών/κάδων και των δοχείων, η πλήρης ηλεκτρομηχανολογική εγκατάστασή τους στο χώρο του θερμοκηπίου του Χαροκοπείου, οι εργασίες πλήρωσης των γλαστρών/κάδων με χώμα, χαλίκια κ.λπ. και φύτευσής τους, η λειτουργία και η συντήρηση του εξοπλισμού κατά τη διάρκεια της διδακτορικής εργασίας, το πότισμα, η λίπανση και η γενικότερη φροντίδα των φυτών και του θερμοκηπίου γενικότερα, έγιναν από τον γράφοντα.

Στις γλάστρες και τους κάδους μεταφυτεύθηκαν, στην αρχή, φυτά τα οποία καλλιεργήθηκαν, από τον γράφοντα, σε φυτώριο.

Συγκεκριμένα, αρχικά, αγοράστηκαν πατάτες με φύτρο, κοκκάρι κρεμμυδιών και σπόροι καρότων από γεωπόνο, και φυτεύτηκαν σε θήκες φυτωρίου από φελιζόλ. Τα φυτά παρέμειναν εκεί για δύο εβδομάδες και ποτίζονταν με καθαρό νερό (βλ Εικόνες 2.6 έως 2.8). Στη συνέχεια, όταν βλάστησαν, νεαρά υγιή φυτά του ίδιου περίπου μεγέθους μεταφυτεύτηκαν στην εγκατάσταση του θερμοκηπίου στο Χαροκόπειο.



Εικόνα 2.6: Φυτώριο καρότων (λεπτομέρεια: σπόροι καρότων)



Εικόνα 2.7: Φυτώριο κρεμμυδιών



Εικόνα 2.8: Φυτώριο πατατών

Έγιναν συνολικά φυτεύσεις σε δύο καλλιεργητικές περιόδους, κάθε μία από τις οποίες διήρκεσε συνολικά 4 μήνες, ήτοι Σεπτέμβριος 2010 - Ιανουάριος 2011 και Σεπτέμβριος 2011 - Ιανουάριος 2012.

Η λίπανση των φυτών ήταν συστηματική, με πρόγραμμα που συστήθηκε από επαγγελματία γεωπόνο και το οποίο, ούτως ή άλλως, ακολουθείται από αγρότες που φυτεύουν συμβατικές καλλιέργειες. Αυτό, διότι στόχος του πειράματος δεν ήταν η δημιουργία βιολογικής αλλά, αντίθετα, συμβατικής καλλιέργειας, με σκοπό το πείραμα να προσομοιάζει σε πραγματικές συνθήκες πεδίου, συμβατικής παραγωγής.

Το λίπασμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το XL 60 (15N-30P-15K), με προσθήκη κατά μέσο όρο 2-4 g στερεού λιπάσματος ανά φυτό κάθε 10 ημέρες, ανάλογα με το μέγεθος του φυτού.

Το στερεό λίπασμα διαλυόταν σε καθαρό νερό και η προσθήκη του διαλύματος γινόταν με ποτιστήρι.

Το πότισμα γινόταν κάθε 3-10 ημέρες ανάλογα με την υγρασία του χώματος.

Το καθαρό νερό, το οποίο χρησιμοποιήθηκε και ως βάση για τη δημιουργία διαλυμάτων βαρέων μετάλλων ήταν νερό ΕΥΔΑΠ με τα εξής κύρια χαρακτηριστικά: pH=8,3, θολότητα=7,6 NTU, EC=295 μ S/cm, TDS=156 mg/L, Na=4,6 mg/L, K=0,8 mg/L, Pb=0,3 μ g/L, Hg~0 μ g/L, Cd~0 μ g/L, Cr~0 μ g/L, Ni~0 μ g/L.

Τα φυτά παρακολουθούνταν σε καθημερινή βάση για τυχόν ασθένειες. Παράλληλα, υπήρχε συνεργασία και με επαγγελματία γεωπόνο.

2.2 Πρώτη Καλλιεργητική Περίοδος (Σεπτέμβριος 2010 - Ιανουάριος 2011)

2.2.1 Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν νιτρικό οξύ (65% v/v, υπερκάθαρου βαθμού, Merck, Γερμανία), απιονισμένο νερό, Standard Reference Material NIST 1573A (tomato leaves) από το National Institute of Standard and Technology for Plants Analysis και Certified Reference Material

BCR - 143R (sewage sludge amended soil) από το European Commission's Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements for Soil Analysis. Όλα τα υπόλοιπα αντιδραστήρια ήταν της Merck, Γερμανίας.

2.2.2 Όργανα

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων ήταν ένα Φασματόμετρο Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος X-series ICP-MS (Thermo Electron Elemental Analysis, Winsford, UK).

Για τη χώνευση των φυτών και των χωμάτων χρησιμοποιήθηκε φούρνος μικροκυμάτων MWS-2 Speed Wave όπως περιγράφεται σχετικά από τους Kanaki and Pergantis¹⁶¹.

Το pH και η αγωγιμότητα των χωμάτων μετρήθηκε με ένα εργαστηριακό μετρητή pH/αγωγιμότητας (Hach, Γερμανία) και η σωματιδιακή ανάλυση χώματος (ποσοστό αργίλου, άμμου και ιλύος) έγινε μέσω ενός υδρομέτρου ASTM (ELE International).

2.2.3 Αναλυτική πορεία για φυτά

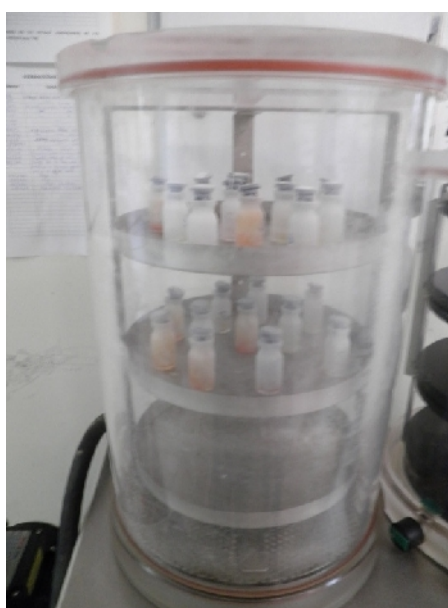
Οι συγκεντρώσεις σε εξασθενές χρώμιο και νικέλιο των διαλυμάτων νερού που παρασκευάστηκαν στις πέντε από τις έξι δεξαμενές 300 L ήταν 10 µg/L, 20 µg/L, 50 µg/L, 100 µg/L και 250 µg/L, αντίστοιχα, ενώ μία δεξαμενή πληρώθηκε με καθαρό νερό ΕΥΔΑΠ (control) όπου η συγκέντρωση Cr και Ni ήταν ~0 µg/L.

Κατά τη συγκομιδή, ελήφθησαν 10 καρότα ανά γλάστρα, διαχωρίστηκαν από τα φύλλα τους, πλύθηκαν με καθαρό και απιονισμένο νερό, ξεφλουδίστηκαν και τεμαχίστηκαν σε μικροτεμαχιστή τροφών, με ανοξειδωτους κοπτήρες.

Κατά μέσο όρο 10 πατάτες παρήχθησαν σε κάθε κάδο, οι οποίες ελήφθησαν, πλύθηκαν με καθαρό και απιονισμένο νερό, και, ομοίως, ξεφλουδίστηκαν και τεμαχίστηκαν σε μικροτεμαχιστή τροφών, με ανοξειδωτους κοπτήρες.

Τέλος, 6 φρέσκα (πράσινα) κρεμμύδια ελήφθησαν από κάθε γλάστρα. Κάθε ένα από αυτά διαχωρίστηκε σε κορμό και φύλλα, τα οποία με τη σειρά τους κόπηκαν σε πολύ μικρά κομμάτια, με τη βοήθεια μαχαιριού.

Αντιπροσωπευτική ποσότητα 10-20 g ανά φυτό ζυγίστηκε και τοποθετήθηκε σε πλαστικά δοχεία των 40 mL, με πώμα. Στη συνέχεια, τα δοχεία τοποθετήθηκαν σε ψυγείο στους -80°C για 24 h και, αφού ανοίχθηκαν τα πώματα, τα δοχεία οδηγήθηκαν σε λυοφιλιωτή (freeze dryer) για 48 h στους -55°C και πίεση -1 bar , προκειμένου να εξαχνωθεί, υπό κενό, το νερό (πάγος) που περιέχεται στα φυτά.



Εικόνα 2.9: Λυοφιλιωτής (freeze dryer)

Μετά τη λυοφιλίωση, τα αφυδατωμένα δείγματα οδηγήθηκαν για λειοτρίβηση με γουδί και γουδοχέρι από πορσελάνη.

Η πούδρα, πλέον, από κάθε φυτό, φυλάχθηκε σε ξεχωριστά πλαστικά δοχεία των 40 mL με πώμα. Τα δοχεία σφραγίστηκαν με ταινία από teflon (Parafilm) για προστασία των αποξηραμένων φυτών από την υγρασία και, στη συνέχεια, φυλάχθηκαν στο ψυγείο.

Από κάθε φυτό ζυγίστηκε, σε αναλυτικό ζυγό 4 δεκαδικών ψηφίων, δείγμα βάρους 0,2 g. Σε αυτό προστέθηκαν, με πιπέτα, 5 mL suprapure HNO_3 (65% v/v) και το διάλυμα οδηγήθηκε σε σωλήνες από teflon και από εκεί σε φούρνο μικροκυμάτων.

Στο φούρνο έγινε χώνευση των δειγμάτων σε πρόγραμμα τριών σταδίων (150 °C για 7 min, 170 °C για 10 min και 180 °C για 10 min). Η ισχύς χώνευσης, στο φούρνο μικροκυμάτων, ήταν 100 w ανά δείγμα.

Μετά τη χώνευση, τα δείγματα οδηγήθηκαν σε απαγωγό, ξεβιδώθηκαν τα πλαστικά καλύμματα των σωλήνων teflon και αφέθηκαν να κρυώσουν. Στη συνέχεια κάθε δείγμα αραιώθηκε μέχρι τελικού όγκου 20 mL, μέσω απεσταγμένου νερού, και αδειάστηκε σε πλαστικό δοχείο με κάλυμμα.

Κατόπιν, τα δείγματα αναλύθηκαν εις τριπλούν μέσω Φασματογράφου Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης χρωμίου και νικελίου στα φυτά.

Για χώνευση, εκτός από τα δείγματα φυτών, οδηγήθηκαν στο φούρνο μικροκυμάτων και "τυφλά" δείγματα, δηλαδή δείγματα που περιείχαν μόνο suprapure HNO₃ (65% v/v), με σκοπό να υπολογιστεί τυχόν επιμόλυνσή του υπερκάθαρου νιτρικού οξέος με συγκεντρώσεις χρωμίου και νικελίου, έτσι, ώστε αυτές να αφαιρεθούν από τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις των ίδιων βαρέων μετάλλων στα φυτά.

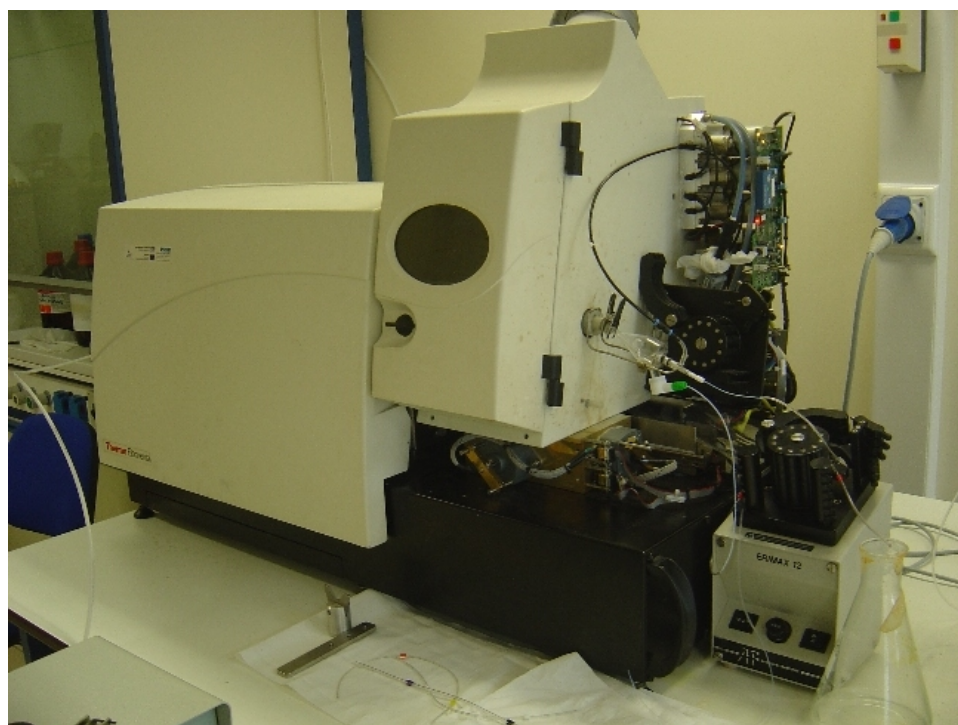
Επίσης, σε κάθε σειρά χώνευσης, εκτός από τυφλά δείγματα τοποθετήθηκαν και δείγματα από το Standard Reference Material NIST 1573A (tomato leaves) με σκοπό τον έλεγχο της αξιοπιστίας των αναλύσεων.

Το παραπάνω Standard Reference Material από National Institute of Standards & Technology χρησιμοποιείται για αναλύσεις βαρέων μετάλλων σε φυτά και επελέγη, μεταξύ πολλών άλλων υλικών, για τη συνάφειά του με τα δείγματα προς ανάλυση και την παραπλήσια συγκέντρωσή του σε χρώμιο και νικέλιο, σε σχέση, τουλάχιστον, με αυτήν που αναμενόταν, έστω και κατά προσέγγιση, να ευρεθεί.

Τα χωνευμένα δείγματα υπερκάθαρου νιτρικού οξέος και Standard Reference Material αναλύθηκαν επίσης μέσω ICP-MS.



Εικόνα 2.10: Φούρνος μικροκυμάτων πρώτης καλλιεργητικής περιόδου



Εικόνα 2.11: Φασματοόμετρο Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS)

2.2.4 Αναλυτική πορεία για χώμα

Τρία δείγματα χώματος ελήφθησαν, με δειγματολήπτη χώματος, από βάθος 0-10 cm σε κάθε γλάστρα. Αντιστοίχως, ελήφθησαν τρία δείγματα από βάθος 10-20 cm.

Τα δείγματα χώματος από το ίδιο βάθος, σε κάθε γλάστρα, ομογενοποιήθηκαν, και παρασκευάστηκε ένα δείγμα ανά ίδιο βάθος και γλάστρα, ήτοι ένα δείγμα για βάθος 0-10 cm και ένα για βάθος 10-20 cm για κάθε γλάστρα.

Στη συνέχεια, τα δείγματα αφέθηκαν να ξηρανθούν σε συνθήκες περιβάλλοντος, θρυμματίστηκαν, κοσκινίστηκαν σε κόσκινο ανοίγματος 2 mm και τα κοσκινισμένα δείγματα οδηγήθηκαν στην κατάψυξη για 24 h στους -80 °C και στη συνέχεια στο λυοφιλιωτή (freeze dryer) για 48 h στους -55 °C και πίεση -1 b, προκειμένου να εξαχνωθεί η τυχόν απομένουσα υγρασία του χώματος.

Από κάθε δείγμα χώματος γλάστρας (δύο χώματα ανά γλάστρα, όπως αναφέρθηκε) ζυγίστηκε, σε αναλυτικό ζυγό 4 δεκαδικών ψηφίων, δείγμα βάρους 0,2 g. Σε αυτό προστέθηκαν, με πιπέτα, 5 mL suprapure HNO₃ (65% v/v) και το διάλυμα οδηγήθηκε σε σωλήνες από teflon και από εκεί σε φούρνο μικροκυμάτων.

Στο φούρνο έγινε χώνευση των δειγμάτων σε πρόγραμμα τριών σταδίων (180 °C για 30 min, 180 °C για 10 min και 100 °C για 10 min).

Μετά τη χώνευση, τα δείγματα οδηγήθηκαν σε απαγωγό, ξεβιδώθηκαν τα πλαστικά καλύμματα των σωλήνων teflon και αφέθηκαν να κρυώσουν. Στη συνέχεια κάθε δείγμα αραιώθηκε μέχρι τελικού όγκου 20 mL μέσω απεσταγμένου νερού και αδειάστηκε σε πλαστικό δοχείο με κάλυμμα.

Κατόπιν, τα δείγματα αναλύθηκαν εις τριπλούν μέσω Φασματογράφου Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης χρωμίου και νικελίου στο χώμα.

Για χώνευση εκτός από τα δείγματα χωμάτων οδηγήθηκαν στο φούρνο μικροκυμάτων και "τυφλά" δείγματα, δηλαδή δείγματα που περιείχαν μόνο

suprapure HNO_3 (65% v/v), με σκοπό να υπολογιστεί τυχόν επιμόλυνσή του με συγκεντρώσεις χρωμίου και νικελίου, έτσι, ώστε αυτές να αφαιρεθούν από τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις των ίδιων βαρέων μετάλλων στο χώμα.

Επίσης, σε κάθε σειρά χώνευσης, εκτός από τυφλά δείγματα τοποθετήθηκαν και δείγματα από το Certified Reference Material BCR - 143R (sewage sludge amended soil) με σκοπό τον έλεγχο της αξιοπιστίας των αναλύσεων.

Το παραπάνω Certified Reference Material από το Institute for Reference Materials and Measurements/Joint Research Center, χρησιμοποιείται και για αναλύσεις βαρέων μετάλλων σε χώμα και επελέγη, μεταξύ πολλών άλλων υλικών για τη συνάφειά του με τα δείγματα προς ανάλυση και την παραπλήσια συγκέντρωσή του σε χρώμιο και νικέλιο, σε σχέση, τουλάχιστον, με αυτήν που αναμενόταν, έστω και προσεγγιστικά, να αναλυθεί στα προς μελέτη χώματα (όπως επελέγη και το SRM για τα φυτά).

Τα χωνευμένα δείγματα υπερκάθαρου νιτρικού οξέος και Certified Reference Material αναλύθηκαν επίσης μέσω ICP-MS.

Μετρήθηκαν οι φυσικοχημικές ιδιότητες του χώματος (pH, αγωγιμότητα, $\text{CaCO}_3\%$, οργανική ουσία%) και η σύσταση του χώματος (άμμος%, άργιλος%, ιλύς%).

Το pH και η αγωγιμότητα των χωμάτων μετρήθηκε σε αιώρημα 1:5 χώματος προς νερό. Η σωματιδιακή ανάλυση χώματος έγινε με την υδρομετρική μέθοδο¹⁶².

Το ποσοστό οργανικής ύλης μετρήθηκε με τη μέθοδο των Walkley και Black¹⁶³.

2.2.5 Στατιστική επεξεργασία

Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά μέσω του προγράμματος IBM SPSS 19 και τα στικτογράμματα (γραφήματα) έγιναν με χρήση του προγράμματος STATACORP Stata 9.2.

Η περιγραφή των επιπέδων Cr και Ni στα διάφορα φυτά βασίστηκε στον υπολογισμό της διαμέσου (median) και του ενδοτεταρτημοριακού εύρους –

ETE (interquartile range – IQR). Αναφέρεται ότι η διάμεσος (50^ο εκατοστημόριο) είναι η τιμή από την οποία το 50% των παρατηρήσεων έχει μικρότερη ή ίση τιμή. Το ενδοτεταρτημοριακό εύρος αντιστοιχεί στο 1^ο και 3^ο τεταρτημόριο, τα οποία εκφράζουν τις τιμές από τις οποίες το 25% και 75%, αντίστοιχα, των παρατηρήσεων έχει τιμή μικρότερη ή ίση. Η επιλογή της διαμέσου και του ETE, ως μέτρα θέσης και διασποράς, έναντι της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης, κρίθηκε σκόπιμη καθώς σε πολλές περιπτώσεις οι κατανομές των τιμών απέκλιναν από την κανονική κατανομή, όπως αποδείχθηκε μετά από γραφικό έλεγχο P-P plot που διεξήχθη στο SPSS 19.

Για τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ των επιπέδων Cr και Ni στα διάφορα φυτά και της συγκέντρωσης του νερού ποτίσματος στους ρύπους αυτούς, εφαρμόστηκε ο μη παραμετρικός συντελεστής συσχέτισης του Spearman (Spearman's rank correlation coefficient, rho. Όταν $|\text{rho}| > 0,3$ και $p < 0,05$ τότε η σχέση είναι στατιστικά σημαντική).

Η στατιστική αξιολόγηση της διαφοροποίησης των επιπέδων Cr και Ni μεταξύ των συγκεντρώσεων 0 μg/l και 250 μg/l, των ρύπων στο νερό ποτίσματος, βασίστηκε στο μη παραμετρικό έλεγχο Mann-Whitney. Για τις ανά δυο συγκρίσεις μεταξύ όλων των συγκεντρώσεων ρύπων στο νερό ποτίσματος εφαρμόστηκε ο μη παραμετρικός έλεγχος Mann-Whitney, ενώ για την διόρθωση της επίδρασης των πολλαπλών συγκρίσεων (αύξηση σφάλματος τύπου I) χρησιμοποιήθηκαν οι διορθώσεις Bonferroni και Sidak. Αναφέρεται ότι η τελευταία διόρθωση είναι λιγότερο συντηρητική σε σχέση με τη μέθοδο Bonferroni και ότι προϋποθέτει ανεξαρτησία μεταξύ των στατιστικών ελέγχων¹⁶⁴.

Αναλυτικά, το p-value κατά Bonferroni ισούται με $p\text{-value} = (0,05/n)$, ενώ κατά Sidak ισούται με $p\text{-value} = 1 - (1 - 0,05)^{1/n}$, όπου n ο αριθμός των συγκρίσεων.

Έτσι, π.χ. για να ισχύουν ταυτόχρονα $n=4$ στατιστικά σημαντικές διαφορές (σύγκριση των ομάδων που ποτίστηκαν με 10, 20, 50 και 100 μg/L με αυτή που ποτίστηκε με 0 μg/L) τότε το p-value κατά Bonferroni και Sidak πρέπει να είναι, αντίστοιχα, μικρότερο από 0,0125 και 0,0127414.

Για τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ των επιπέδων Cr και των επιπέδων Ni στα διάφορα φυτά, ξεχωριστά για κάθε συγκέντρωση ρύπων στο νερό

ποτίσματος, εφαρμόστηκε ο μη παραμετρικός συντελεστής συσχέτισης του Spearman. Για τη γραφική απεικόνιση των συσχετίσεων μεταξύ των ποσοτικών μεταβλητών παρατέθηκαν αντίστοιχα στικτογράμματα. Για την καλύτερη γραφική απεικόνιση των σχέσεων αυτών, προστέθηκε στα αναφερθέντα γραφήματα η εκτίμηση εξάρτησης από τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess). Το όριο της στατιστικής σημαντικότητας ήταν το 0,05.

2.3 Δεύτερη Καλλιεργητική Περίοδος (Σεπτέμβριος 2011 - Ιανουάριος 2012)

2.3.1 Γενικά

Χρησιμοποιήθηκε η ίδια εγκατάσταση στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο με αυτήν που χρησιμοποιήθηκε και στο πρώτο πείραμα, με τη διαφορά ότι δεν χρησιμοποιήθηκε η τρίτη σειρά από γλάστρες καθώς το πείραμα αφορούσε κρεμμύδια και πατάτες. Τα φυτά ποτίστηκαν με διαλύματα συγκεντρώσεων 0 $\mu\text{g/L}$ (control), 10 $\mu\text{g/L}$, 50 $\mu\text{g/L}$, 250 $\mu\text{g/L}$, 500 $\mu\text{g/L}$ και 1000 $\mu\text{g/L}$ σε Cr(VI) και Ni(II), τα οποία προήλθαν από διάλυση, σε νερό, στερεού $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ και $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, αντίστοιχα.

Όπως και στο πρώτο πείραμα, πριν τη μεταφύτευσή τους στις γλάστρες του θερμοκηπίου, φυτεύτηκαν και παρέμειναν για δύο εβδομάδες σε φυτώριο πατάτες με φύτρο και κοκκάρια κρεμμυδιών.

Η μεταφύτευση στο θερμοκήπιο περιελάμβανε υγιή φυτά ίδιου μεγέθους.

Τα φυτά λιπαίνονταν συστηματικά με το ίδιο λίπασμα όπως και στο αρχικό πείραμα.

Κατά τη συγκομιδή ελήφθησαν κατά μέσο όρο 6 πατάτες από κάθε γλάστρα, ξεφλουδίστηκαν και υπέστησαν την ίδια προεπεξεργασία όπως και οι πατάτες στο πρώτο πείραμα. Η ίδια προεπεξεργασία με αυτή του πρώτου πειράματος, έλαβε χώρα και για τα κρεμμύδια

2.3.2 Αντιδραστήρια

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ήταν φωσφορικό κάλιο, EDTA, γουαϊάκολα (guaiacol), H_2O_2 , κυβέτες από χαλαζία και πλαστικές (όλα τα υλικά της Sigma-Aldich, Γερμανία) και διπλά απεσταγμένο νερό.

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του Cr και του Ni στα φυτά ήταν νιτρικό οξύ (65%, v/v) υπερκάθαρου βαθμού (Merck, Γερμανία), υπερκάθαρο νερό (Millipore, MilliQ) Standard Reference Material NIST 1573A (tomato leaves) για την ανάλυση των φυτών (από το National Institute of Standard and Technology, USA).

2.3.3 Όργανα

2.3.3.1 Δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης στους βολβούς

Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση ενζύμων ήταν μία φυγόκεντρος (Heraeus Labofuge 400 R) και ένα φασματοφωτόμετρο UV (UNICAM Helios β).

2.3.3.2 Ολικό χρώμιο και νικέλιο στους βολβούς

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε για την στοιχειακή ανάλυση στα φυτά ήταν ένα φασματόμετρο ατομικής απορρόφησης με φούρνο γραφίτη (Perkin Elmer SIMAA 6000 simultaneous multi-elemental atomic absorption spectrometer & THGA graphite furnace & Zeeman background corrector).

Η χώνευση των δειγμάτων έγινε σε φούρνο μικροκυμάτων MARS X-Press (CEM Corporation) όπως περιγράφεται από τους Kirkillis et al.¹¹⁶.

2.3.4 Μετρήσεις δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης στα φυτά. Αναλυτική πορεία.

Δείγματα φυτών που ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις 0, 10, 50, 250, 500 και 1.000 $\mu\text{g/L}$ Cr(VI) και Ni αναλύθηκαν με σκοπό να προσδιοριστεί η δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης.

2.3.4.1 Εκχύλιση (κοινή και για τα δύο ένζυμα)

Αρχικά έγινε τεμαχισμός του φυτού με μαχαίρι σε πολύ μικρά κομμάτια.

Στη συνέχεια έγινε λήψη δείγματος 3 g νωπού βάρους (ζύγιση μέσα σε ποτήρι ζέσης των 100 ml) τα οποία τοποθετήθηκαν σε Mullinex μαζί με 30 ml ρυθμιστικού διαλύματος εκχύλισης (0,1 M ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου σε pH 7,5, το οποίο περιέχει 0,5 mM EDTA) και παρήχθη το εκχύλισμα στους 4 °C.

Λήφθηκαν 4 δείγματα των 1,5 ml από το παραπάνω εκχύλισμα, με πλαστική πιπέτα, σε μικρά φυγοκεντρικά πλαστικά μπουκαλάκια erendorf με καπάκι.

Τα erendorf τοποθετήθηκαν στο φυγόκεντρο σε σχήμα σταυρού και σε απόλυτη ομοιομορφία. Το εκχύλισμα φυγοκεντρίστηκε για 20 min στα 15.000×g (κεφαλή: 3325 και 12.600 rpm), στους 4 °C, και το υπερκείμενο υγρό χρησιμοποιήθηκε για την ενζυματική ανάλυση¹⁶⁵.

Τα εκχυλίσματα, μέχρι λίγα λεπτά πριν την ανάλυσή τους, φυλάσσονταν σε πλαστικές θήκες που ήταν τοποθετημένες σε λεκάνη με πάγο.

2.3.4.2 Μέτρηση δραστηριότητας καταλάσης ($\Delta 240 \times \text{min}^{-1} \times \text{g}^{-1}$ νωπού βάρους φυτού)

Το μίγμα προς αντίδραση τοποθετήθηκε σε 1 κυβέτα από χαλαζία.

Η κυβέτα περιείχε 1,5 mL ρυθμιστικό διάλυμα 100 mM φωσφορικού καλίου (pH 7), 0,5 mL διαλύματος 75 mM H₂O₂, 0,2 mL εκχυλίσματος ενζύμου και 0,8 mL διπλά απεσταγμένου νερού. Η ανάμιξη γινόταν αφού το δείγμα ερχόταν σε θερμοκρασία δωματίου (απομακρυνόταν από τη λεκάνη με πάγο και παρέμενε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος).

Η μέτρηση της καταλάσης βασίστηκε στην μείωση της απορρόφησης H₂O₂ σε μήκος κύματος 240 nm σε φασματοφωτόμετρο UV¹⁶⁶.

Αναλυτικά, ανακατευόταν το περιεχόμενο της κυβέτας καλά με πλαστικό αναδευτήρα. Τοποθετείτο η κυβέτα στο φασματοφωτόμετρο και καταγραφόταν η μείωση στην απορρόφηση για 80 sec τουλάχιστον.

Παρασκευάζονταν άλλα δύο μίγματα, από το ίδιο φυτό, όμοια με τα παραπάνω και επαναλαμβανόταν η μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο.

Η μέτρηση που λαμβανόταν για τον υπολογισμό της καταλάσης ήταν ο μέσος όρος των τριών μετρήσεων που αντιστοιχούσαν στα παραπάνω δείγματα.

Οι αναλύσεις των δειγμάτων θα έπρεπε να γίνουν μέσα σε λίγα λεπτά από την ώρα που θα παρασκευαστούν.

Ο χρόνος παρασκευής των δειγμάτων θα έπρεπε να είναι ο ίδιος για όλα τα δείγματα για λόγους επαναληψιμότητας.

2.3.4.3 Μέτρηση δραστηριότητας υπεροξειδάσης ($\Delta_{470} \times \text{min}^{-1} \times \text{g}^{-1}$ νωπού βάρους φυτού)

Η δραστηριότητα υπεροξειδάσης μετράται ως αύξηση της οπτικής πυκνότητας λόγω της οξείδωσης της γουαϊάκολας (guaiacol) σε τετραγουαϊάκολα (tetraguaiacol)¹⁶⁷.

Το μίγμα προς αντίδραση τοποθετείτο σε 1 πλαστική κυβέτα και περιείχε: 1 mL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού καλίου 100 mM (pH 6,1), 0,5 mL 96 mM γουαϊάκολας, 0,5 mL 12 mM H₂O₂, 0,1 mL εκχυλίσματος ενζύμου και 0,4 mL διπλά απεσταγμένου νερού. Η μέτρηση γινόταν σε θερμοκρασία δωματίου (20 °C).

Η δραστηριότητα του ενζύμου υπολογιζόταν σε μήκος κύματος 470 nm κατά τη διάρκεια μίας χρονικής περιόδου ίσης με 1 min, τουλάχιστον.

Παρασκευάζονταν άλλα δύο μίγματα, από το ίδιο φυτό, όμοια με τα παραπάνω και επαναλαμβανόταν η μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο.

2.3.5 Προσδιορισμός χρωμίου και νικελίου στα φυτά. Αναλυτική πορεία

Δείγματα φυτών που ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις 0, 500 και 1.000 μg/L σε Cr(VI) και Ni(II) αναλύθηκαν με βάση το παρακάτω πρωτόκολλο προκειμένου να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις χρωμίου και νικελίου στα φυτά.

Αντιπροσωπευτική ποσότητα 10-20 g κάθε φυτού ζυγίστηκε και τοποθετήθηκε σε πλαστικά μπουκαλάκια 50 ml με πώμα.

Τα δείγματα υπέστησαν λυοφιλίωση και λειοτρίβιση με τη διαδικασία που ακολουθήθηκε και για τα φυτά του πρώτου πειράματος (Σεπτέμβριος 2010-Ιανουάριος 2011).

Στη συνέχεια, από κάθε φυτό ζυγίστηκε, σε αναλυτικό ζυγό 4 δεκαδικών ψηφίων, δείγμα βάρους 0,2 g. Σε αυτό, προστέθηκαν, με πιπέτα, 5 mL suprapure HNO_3 (65% v/v) και το διάλυμα οδηγήθηκε σε σωλήνες από teflon και από εκεί σε φούρνο μικροκυμάτων.

Στο φούρνο έγινε χώνευση των δειγμάτων σε πρόγραμμα τριών σταδίων (165 °C για 2 min, 175 °C για 8 min).

Μετά τη χώνευση, τα δείγματα οδηγήθηκαν σε απαγωγό, ξεβιδώθηκαν τα πλαστικά καλύμματα των σωλήνων teflon και αφέθηκαν να κρυώσουν. Στη συνέχεια κάθε δείγμα αραιώθηκε μέχρι τελικού όγκου 20 mL μέσω απεσταγμένου νερού και αδειάστηκε σε πλαστικό δοχείο με κάλυμμα.

Κατόπιν τα δείγματα αναλύθηκαν εις τριπλούν με ηλεκτροθερμική φασματομετρία ατομικής απορρόφησης για την ανάλυση ολικού χρωμίου και νικελίου.

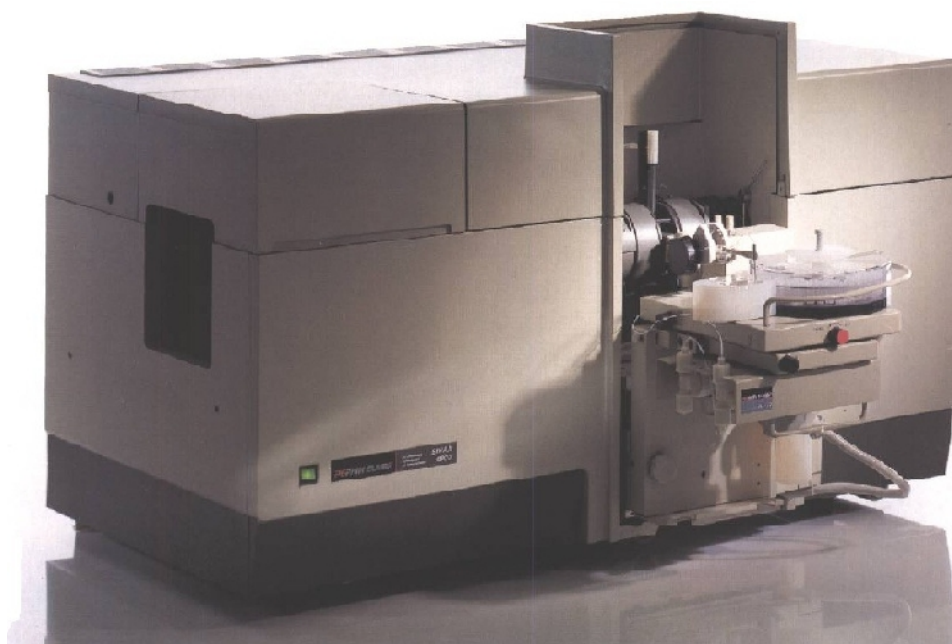
Για χώνευση, εκτός από τα δείγματα φυτών, οδηγήθηκαν στο φούρνο μικροκυμάτων και "τυφλά" δείγματα, δηλαδή δείγματα που περιείχαν μόνο suprapure HNO_3 (65% v/v).

Επίσης, σε κάθε σειρά χώνευσης, εκτός από τυφλά δείγματα οδηγούνται και δείγματα από το Standard Reference Material NIST 1573A (tomato leaves)

Τα χωνευμένα δείγματα υπερκάθαρου νιτρικού οξέος και Standard Reference Material αναλύθηκαν επίσης μέσω ETAAS.



Εικόνα 2.12: Φούρνος μικροκυμάτων δεύτερης καλλιεργητικής περιόδου



Εικόνα 2.13: Ηλεκτροθερμικό φασματοόμετρο ατομικής απορρόφησης (ETAAS)

Η ισχύς χώνευσης, στο φούρνο μικροκυμάτων, ήταν 100 w ανά δείγμα.

Οι πιστοποιημένες συγκεντρώσεις του Standard Reference Material 1573A (tomato leaves), για το νικέλιο και το χρώμιο είναι 1,59 και 1,99 $\mu\text{g/g}$ ξηρού βάρους φυτού (μέσες τιμές), αντίστοιχα.

Οι μέσες συγκεντρώσεις νικελίου και χρωμίου που μετρήθηκαν, μέσω ETAAS, στο παραπάνω υλικό, στο πείραμά μας, ήταν 1,42 $\mu\text{g/g}$ και 1,70 $\mu\text{g/g}$ ξηρού βάρους φυτού, αντίστοιχα, δηλαδή 89,3% της διαπιστευμένης τιμής για το νικέλιο και 85,4%, αντίστοιχα, για το χρώμιο. Συνεπώς, οι τιμές θεωρούνται αξιόπιστες.

2.3.6 Στατιστική επεξεργασία

Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά μέσω του IBM SPSS 19 και τα στικτογράμματα έγιναν με χρήση του προγράμματος STATACORP Stata 9.2.

Η στατιστική ανάλυση των παραπάνω επιπέδων στα φυτά βασίστηκε στις διάμεσες τιμές και όχι στις μέσες τιμές και τους μέσους όρους. Αυτό, διότι οι κατανομές των τιμών των παραπάνω μεταβλητών στις περισσότερες περιπτώσεις απέκλιναν από την κανονική κατανομή, όπως αποδείχθηκε από το σχετικό γραφικό έλεγχο P-P plot στο SPSS.

Για τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ (α) των επιπέδων Cr και Ni, (β) των επιπέδων δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης και (γ) των επιπέδων βαρέων μετάλλων και δραστικότητας ενζύμων σε κάθε κατηγορία φυτών, εφαρμόστηκε ο μη παραμετρικός συντελεστής συσχέτισης του Spearman (Spearman's rank correlation coefficient) (όταν $|\rho| > 0,3$ και $p < 0,05$ τότε η σχέση είναι στατιστικά σημαντική).

Ο μη παραμετρικός έλεγχος Mann-Whitney εφαρμόστηκε για τις ανά δυο συγκρίσεις μεταξύ όλων των συγκεντρώσεων ρύπων στο νερό ποτίσματος (0, 10, 50, 250, 500 και 1.000 $\mu\text{g/L}$) και ανάμεσα στην υπεροξειδάση και καταλάση στα φυτά (δηλαδή μεταξύ της ομάδας φυτών - μαρτύρων και, ξεχωριστά, με κάθε ομάδα που ποτίστηκε με κάθε μία από τις παραπάνω 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις).

Ο ίδιος έλεγχος εφαρμόστηκε για τις ανά δύο συγκρίσεις μεταξύ των συγκεντρώσεων ρύπων στο νερό ποτίσματος (0, 500 και 1.000 $\mu\text{g/L}$) και ανάμεσα στο χρώμιο και νικέλιο στα φυτά.

Για τη διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων χρωμίου και νικελίου, δραστηριότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης σε κάθε κατηγορία φυτού ξεχωριστά εφαρμόστηκε, επίσης, ο μη παραμετρικός έλεγχος Mann-Whitney,

Για την διόρθωση της επίδρασης των πολλαπλών συγκρίσεων (αύξηση σφάλματος τύπου I) χρησιμοποιήθηκαν οι διορθώσεις Bonferroni και Sidak.

Για τη γραφική απεικόνιση των συσχετίσεων μεταξύ των ποσοτικών μεταβλητών παρατέθηκαν αντίστοιχα στικτογράμματα. Για την καλύτερη γραφική απεικόνιση των σχέσεων αυτών, προστέθηκε στα αναφερθέντα γραφήματα η εκτίμηση εξάρτησης από τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess). Το όριο της στατιστικής σημαντικότητας ήταν το 0,05.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Πρώτη Καλλιεργητική Περίοδος (Σεπτέμβριος 2010-Ιανουάριος 2011)

3.1.1 Συγκεντρώσεις χρωμίου και νικελίου και φυσικοχημικές ιδιότητες του χώματος

Καθ' όλη την καλλιεργητική περίοδο (Σεπτέμβριος 2010 - Ιανουάριος 2011), κάθε γλάστρα ποτίστηκε συνολικά με περίπου 20 L διαλύματος εξασθενούς χρωμίου και νικελίου, συγκέντρωσης από 0 έως 250 $\mu\text{g/L}$.

Ο λόγος για τον οποίον επελέγη αυτό το εύρος συγκεντρώσεων ήταν επειδή κρίθηκε επιθυμητή η προσομείωση του νερού ποτίσματος των βολβών με το νερό ποτίσματος που υπάρχει στον υδροφόρο ορίζοντα των περιοχών Οινοφύτων Βοιωτίας και Μεσσαπίας Εύβοιας, τουλάχιστον ως προς τα επίπεδα εξασθενούς χρωμίου και νικελίου^{5,7}.

Η συνολική ποσότητα χρωμίου και νικελίου που προστέθηκε, ανά γλάστρα, για συγκεντρώσεις 0, 10, 20, 50, 100 και 250 $\mu\text{g/L}$ ήταν 0, 200, 400, 1.000, 2.000 και 5.000 μg , αντίστοιχα.

Δεν παρατηρήθηκαν συμπτώματα τοξικότητας στα φυτά, λόγω της προσθήκης βαρέων μετάλλων, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, καθώς οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν δεν ήταν πολύ υψηλές.

Τα αποτελέσματα της χημικής ανάλυσης του Cr και Ni στο ξηραμένο χώμα παρατίθενται στον Πίνακα 3.1.

Πίνακας 3.1: Συγκέντρωση Cr και Ni στο χώμα που χρησιμοποιήθηκε για την καλλιέργεια των βολβών (n=3 για κάθε συγκέντρωση, τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσος όρος $\pm$ SD, 95% επίπεδο αξιοπιστίας)

Συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος (μg/L)	Χώμα (0-10 cm βάθος)		Χώμα (10-20 cm βάθος)	
	Επίπεδα Ni (μg/g ξηρού βάρους)	Επίπεδα Cr (μg/g ξηρού βάρους)	Επίπεδα Ni (μg/g ξηρού βάρους)	Επίπεδα Cr (μg/g ξηρού βάρους)
0	161,8 $\pm$ 5,1	128,3 $\pm$ 2,2	172,2 $\pm$ 2,6	129,2 $\pm$ 2,6
10	163,5 $\pm$ 2,6	129,6 $\pm$ 0,2	171 $\pm$ 2,0	135,8 $\pm$ 2,2
20	164,1 $\pm$ 2,1	128,2 $\pm$ 2,1	160,1 $\pm$ 2,2	129,9 $\pm$ 2,4
50	169,1 $\pm$ 5,0	127,3 $\pm$ 3,5	162,6 $\pm$ 0,9	134,6 $\pm$ 1,7
100	143,2 $\pm$ 2,6	109,5 $\pm$ 1,8	153 $\pm$ 2,2	120,0 $\pm$ 1,8
250	165,9 $\pm$ 0.9	137,4 $\pm$ 1,8	157,4 $\pm$ 2,5	124,7 $\pm$ 0,2

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του χώματος από τις γλάστρες που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα, μετρήθηκαν στο εργαστήριο ως εξής: pH=8,2 $\pm$ 0,1, αγωγιμότητα=2,88 $\pm$ 0,34 mS/cm, CaCO₃=9,47 $\pm$ 0,59%, οργανική ουσία=1,93 $\pm$ 0,36% και η σύσταση του χώματος ήταν: άμμος=38,7 $\pm$ 2 %, άργιλος=5,90 $\pm$ 1,2 % και ιλύς=55,4 $\pm$ 2,3 %.

Το χώμα χαρακτηρίστηκε ως ιλυοαργιλώδες.

Οι μέσες συγκεντρώσεις ολικού χρωμίου και νικελίου στο χώμα ήταν, αντίστοιχα 127,6 $\pm$ 2,4 mg/kg και 162,0 $\pm$ 8,8 mg/kg.

3.1.2 Έλεγχος αξιοπιστίας των αναλύσεων Cr και Ni στο χώμα και στα φυτά

Το διαλυτό σε βασιλικό νερό (aqua regia) ολικό χρώμιο και νικέλιο του Certified Reference Material BCR - 143R (sewage sludge amended soil) του European Commission Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements ήταν 426 $\pm$ 12 και 296 $\pm$ 4 μg/g ξηρού βάρους χώματος, αντίστοιχα.

Οι συγκεντρώσεις ολικού Cr και Ni του Certified Reference Material BCR - 143R (sewage sludge amended soil) μετρήθηκαν στο εργαστήριο 405 ± 6 $\mu\text{g/g}$ και 316 ± 14 $\mu\text{g/g}$ ξηρού βάρους χώματος, αντίστοιχα, γεγονός το οποίο πιστοποιεί την αξιοπιστία των αναλύσεών μας.

Οι διαπιστευμένες συγκεντρώσεις, από το National Institute of Standard and Technology (NIST) για το χρώμιο και το νικέλιο που περιέχεται στο Standard Reference Material 1573A (tomato leaves) ήταν $1,99 \pm 0,06$ και $1,59 \pm 0,07$ $\mu\text{g/g}$ ξηρού βάρους φυτού, αντίστοιχα. Οι τιμές που μετρήθηκαν στο εργαστήριό μας ήταν $1,99 \pm 0,06$ και $1,59 \pm 0,07$ $\mu\text{g/g}$ ξηρού βάρους φυτού ($n=18$) για Cr και Ni, αντίστοιχα, γεγονός που αποδεικνύει την αξιοπιστία των αναλύσεων.

3.1.3 Αποτελέσματα και στατιστική ανάλυση

3.1.3.1 Συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος και του Cr και Ni στα φυτά

Τα επίπεδα χρωμίου και νικελίου στα φυτά σε συσχέτιση με τη συγκέντρωση εξασθενούς χρωμίου και νικελίου στο νερό ποτίσματος αναφέρονται στον Πίνακα 3.2

Πίνακας 3.2: Επίπεδα Cr και Ni στα φυτά σε συσχέτιση με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος

	Συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος (μg/L)						
	0	10	20	50	100	250	
	Διάμεσος (IQR) ^α	Διάμεσος (IQR)	Διάμεσος (IQR)	Διάμεσος (IQR)	Διάμεσος (IQR)	Διάμεσος (IQR)	rho ^β (p-value)
Καρότα*							
Επίπεδα Cr (μg/g ξηρού βάρους)	0,225 (0,171, 0,246)	0,271 (0,217, 0,320)	0,254 (0,211, 0,371)	0,121 (0,093, 0,161)	0,301 (0,263, 0,403)	0,134 (0,103, 0,160)	-0,294 (0,022)
Επίπεδα Ni (μg/g ξηρού βάρους)	0,805 (0,639, 1,142)	1,007 (0,849, 1,156)	0,992 (0,891, 1,173)	0,622 (0,516, 0,728)	0,884 (0,772, 1,049)	0,743 (0,667, 0,918)	-0,165 (0,207)
Κρεμμύδια (κορμοί)**							
Επίπεδα Cr (μg/g ξηρού βάρους)	0,153 (0,148, 0,199)	0,233 (0,202, 0,255)	0,219 (0,137, 0,231)	0,237 (0,223, 0,250)	0,184 (0,168, 0,191)	0,240 (0,220, 0,290)	0,170 (0,335)
Επίπεδα Ni (μg/g ξηρού βάρους)	1,150 (1,030, 1,341)	1,600 (1,345, 1,788)	1,200 (1,018, 1,231)	1,038 (0,906, 1,197)	1,306 (1,034, 1,882)	1,782 (1,423, 2,288)	0,184 (0,297)
Κρεμμύδια (φύλλα)**							
Επίπεδα Cr (μg/g ξηρού βάρους)	0,217 (0,193, 0,222)	0,454 (0,343, 0,506)	0,320 (0,302, 0,372)	0,657 (0,550, 0,770)	0,412 (0,318, 0,498)	0,350 (0,315, 0,398)	0,273 (0,118)
Επίπεδα Ni (μg/g ξηρού βάρους)	1,037 (0,787, 1,093)	1,049 (0,989, 1,107)	0,864 (0,840, 0,872)	0,916 (0,857, 1,163)	0,720 (0,667, 0,973)	1,972 (1,128, 2,687)	0,051 (0,773)
Πατάτες***							
Επίπεδα Cr (μg/g ξηρού βάρους)	0,209 (0,195, 0,239)	0,137 (0,061, 0,218)	0,284 (0,258, 0,311)	0,147 (0,115, 0,183)	0,128 (0,099, 0,155)	0,174 (0,130, 0,259)	-0,186 (0,183)
Επίπεδα Ni (μg/g ξηρού βάρους)	0,549 (0,524, 0,661)	0,374 (0,331, 0,472)	0,703 (0,566, 0,872)	0,557 (0,510, 0,610)	0,473 (0,297, 0,773)	0,316 (0,287, 0,368)	-0,394 (0,004)

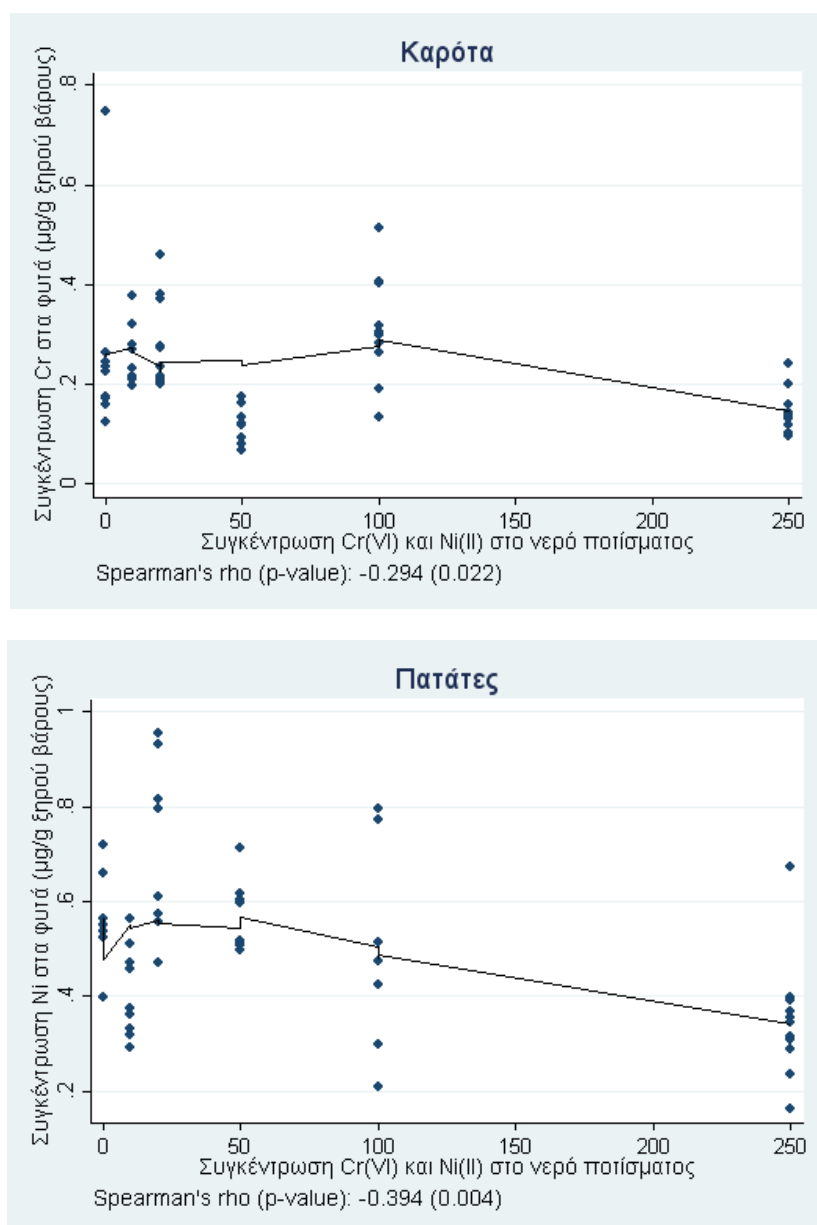
^α IQR (ενδοτεταρτημοριακό εύρος)

^β Spearman's rank correlation coefficient (μη παραμετρικός συντελεστής συσχέτισης)

* (n=10 καρότα/γλάστρα)

** (n=6 κρεμμύδια/γλάστρα)

*** (n=10 πατάτες/γλάστρα)



Σχήμα 3.1: Συγκεντρώσεις Cr στα καρότα και Ni στις πατάτες σε συνάρτηση με τις συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.1, παρατηρήθηκε οριακή αρνητική σχέση μεταξύ των επιπέδων Cr στα καρότα και της συγκέντρωσης των ρύπων στο νερό ποτίσματος (Spearman's rho=-0,294; p-value=0,022).

Επίσης, τα επίπεδα Ni στις πατάτες σχετίζονταν αρνητικά με τη συγκέντρωση των ρύπων στο νερό ποτίσματος (Spearman's rho=-0,394; p-value=0,004).

Οι αρνητικές συσχετίσεις οι οποίες εμφανίζονται στον πίνακα 3.2 ίσως υποδεικνύουν ότι, υπό ειδικές συνθήκες, το χρώμιο στα καρότα και το νικέλιο στις πατάτες μπορεί να μεταφέρονται σε άλλα σημεία του φυτού όπως τα ανώτερα μέρη του (π.χ. κορμός ή φύλλα) ή να παραμένουν στις ρίζες.

Δεν παρατηρήθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ βαρέων μετάλλων στα φυτά και στο νερό ποτίσματος όπως φαίνεται στον πίνακα 3.2 και αναλύεται στα στικτογράμματα που αποτελούν το σχήμα 4.1 που παρατίθεται στο Παράρτημα Ι (σελ. 139).

3.1.3.2 Σύγκριση μεταξύ της ομάδας φυτών-μαρτύρων (control) και της ομάδας που ποτίστηκε με 250 µg/L

Τα επίπεδα χρωμίου και νικελίου σε κάθε φυτό που ποτίστηκε με συγκεντρώσεις 0 και 250 µg/L Cr(VI) και Ni(II) (δηλαδή τις δύο ακραίες τιμές) συγκρίνονται στον παρακάτω Πίνακα 3.3:

Πίνακας 3.3: Συγκρίσεις Cr και Ni στα φυτά που ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις 0 και 250 µg/L Cr και Ni

	Συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος (µg/L)		
	0	250	
	Διάμεσος (IQR)	Διάμεσος (IQR)	p-value
Καρότα			
<i>Επίπεδα Cr(µg/g ξηρού βάρους)</i>	0,225 (0,171, 0,246)	0,134 (0,103, 0,160)	0,009
<i>Επίπεδα Ni (µg/g ξηρού βάρους)</i>	0,805 (0,639, 1,142)	0,743 (0,667, 0,918)	0,597
Κρεμμύδια (κορμοί)			
<i>Επίπεδα Cr(µg/g ξηρού βάρους)</i>	0,153 (0,148, 0,199)	0,240 (0,220, 0,290)	0,251
<i>Επίπεδα Ni (µg/g ξηρού βάρους)</i>	1,150 (1,030, 1,341)	1,782 (1,423, 2,288)	0,047
Κρεμμύδια (φύλλα)			
<i>Επίπεδα Cr(µg/g ξηρού βάρους)</i>	0,217 (0,193, 0,222)	0,350 (0,315, 0,398)	0,009
<i>Επίπεδα Ni (µg/g ξηρού βάρους)</i>	1,037 (0,787, 1,093)	1,972 (1,128, 2,687)	0,076
Πατάτες			
<i>Επίπεδα Cr(µg/g ξηρού βάρους)</i>	0,209 (0,195, 0,239)	0,174 (0,130, 0,259)	0,285
<i>Επίπεδα Ni (µg/g ξηρού βάρους)</i>	0,549 (0,524, 0,661)	0,316 (0,287, 0,368)	0,002

3.1.3.2.1 Καρότα

Παρατηρείται ότι τα επίπεδα Cr στα καρότα ήταν χαμηλότερα (-40,4% στη διάμεση τιμή) στις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό που περιείχε 250 µg/L

συγκέντρωση (διάμεσος: 0,134 $\mu\text{g/g}$) σε σχέση με τις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό χωρίς χρώμιο και νικέλιο (διάμεσος: 0,225 $\mu\text{g/g}$, $p\text{-value}=0,009$).

Όπως αναφέρθηκε, στο συγκεκριμένο πείραμα, η μέγιστη προσθήκη εξασθενούς χρωμίου και νικελίου στις γλάστρες καρότων και κρεμμυδιών ήταν 5 mg/g γλάστρα. Δεδομένου ότι η επιφάνεια κάθε γλάστρας ήταν 0,5 m^2 (διάμετρος γλάστρας 0,8 m) η επιφανειακή φόρτιση σε χρώμιο και νικέλιο ήταν $5 \text{ mg}/0,5 \text{ m}^2=10 \text{ mg/m}^2$.

Σε αντίστοιχο με το παρόν πείραμα, αλλά χρησιμοποιώντας χιλιάδες φορές μεγαλύτερες επιφανειακές φορτίσεις Cr στο έδαφος, οι Biacs et al.¹²¹ πειραματίστηκαν με την προσθήκη 0, 9.000, 27.000 και 81.000 mg/m^2 ολικού Cr σε αγρούς καλλιεργούμενους με καρότα σε χώμα ασβεστολιθικό-αργιλώδες ("chernozem"). Η συγκέντρωση χρωμίου και νικελίου στις ρίζες καρότων ήταν 0 και 0,2 mg/kg ξηρού βάρους για εφαρμογή 0 και 9.000 mg Cr/m^2 , αντίστοιχα, ενώ η εφαρμογή 27.000 mg Cr/m^2 και 81.000 mg Cr/m^2 δεν έδωσε παραγωγή καρότων καθώς αποδείχθηκε φυτοτοξική για τα καρότα.

Σε άλλο πείραμα, καρότα καλλιεργήθηκαν σε άμμο και ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις 0 (φυτά- μάρτυρες), 5,2 και 13 mg/L Cr(VI) . Οι συγκεντρώσεις Cr στα καρότα ήταν, αντίστοιχα, 0, 900 και 1.250 $\mu\text{g/g}$ ξηρού βάρους φυτού¹⁴⁸.

Από τα παραπάνω βιβλιογραφικά αποτελέσματα φαίνεται ότι υψηλότερες έως πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις Cr, σε άλλο καλλιεργητικό μέσο, μπορούν να επιμολύνουν με Cr τα καρότα.

Η μείωση στα επίπεδα Cr στα καρότα που ποτίστηκαν με 250 $\mu\text{g/L}$ σε σύγκριση με τα καρότα - μάρτυρες, μπορεί να αποδοθεί στους λόγους που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο (π.χ. παραμονή/συγκράτηση του Cr στις ρίζες του φυτού ή μεταφορά του στα ανώτερα τμήματα του φυτού). Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για να αποδειχθεί ο ισχυρισμός αυτός, καθώς δεν έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία πείραμα σε καρότα με αντίστοιχες, με της παρούσας εργασίας, συνθήκες καλλιέργειας.

3.1.3.2.2 Κρεμμύδια

Αντίθετα, τα επίπεδα Cr στα φύλλα κρεμμυδιών ήταν υψηλότερα (+61,3% στη διάμεση τιμή) στις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό που περιείχε 250 $\mu\text{g/l}$ ρύπους (διάμεσος: 0,350 $\mu\text{g/g}$) σε σχέση με τις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό χωρίς ρύπους (διάμεσος: 0,217 $\mu\text{g/g}$, $p\text{-value}=0,009$).

Επίσης, τα επίπεδα Ni στους κορμούς και τα φύλλα κρεμμυδιών ήταν υψηλότερα (+55% και +90,2% στις διάμεσες τιμές, αντίστοιχα) στις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό που περιείχε 250 $\mu\text{g/l}$ χρώμιο και νικέλιο (διάμεσος: 1,782 $\mu\text{g/g}$ και 1,972 $\mu\text{g/g}$ αντίστοιχα) σε σχέση με τις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό χωρίς ρύπους (διάμεσος: 1,150 $\mu\text{g/g}$ και 1,037 $\mu\text{g/g}$ αντίστοιχα). Η διαφορά για τους κορμούς ήταν στατιστικά σημαντική ($p\text{-value}=0,047$) ενώ για τα φύλλα στατιστικά ενδεικτική ($p\text{-value}=0,076$).

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι μπορεί να υπάρξει διασταυρούμενη επιμόλυνση (cross-contamination) των κρεμμυδιών από το Cr και το Ni του νερού ποτίσματος.

3.1.3.2.3 Πατάτες

Αντίθετα, τα επίπεδα Ni στις πατάτες ήταν χαμηλότερα (-42,4% στη διάμεση τιμή) στις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό που περιείχε 250 $\mu\text{g/L}$ ρύπους (διάμεσος: 0,316 $\mu\text{g/g}$) σε σχέση με τις αντίστοιχες πατάτες στις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό χωρίς ρύπους (διάμεσος: 0,549 $\mu\text{g/g}$, $p\text{-value}=0,002$).

Η μέγιστη επιφανειακή φόρτιση χρωμίου και νικελίου στις γλάστρες πατάτας, (διαμέτρου 1 m) στο παρόν πείραμα, ήταν 6,4 mg/m^2 .

Παρακάτω παρατίθενται αντίστοιχα παραδείγματα άρδευσης πατατών με Cr και Ni από τη βιβλιογραφία:

Οι Srek et al.¹¹⁴ εξέτασαν σε αγρούς την προσθήκη σε πατάτες των εξής λιπασμάτων: $\text{N}_4\text{P}_4\text{K}_2$, βοώδους κοπριάς (cattle slurry, CS) και συνδυασμό $\text{CSN}_4\text{P}_4\text{K}_2$ που περιείχε 1,52, 23,4 και 23,7 mg Cr/m^2 και 0,26, 19,6 και 19,9 mg Ni/m^2 , αντίστοιχα. Σε ένα αγρό που χρησιμοποιήθηκε ως "αγρός - μάρτυρας" καλλιεργήθηκαν πατάτες χωρίς προσθήκη λιπασμάτων.

Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο Cr και το Ni ανάμεσα σε ξεφλουδισμένες πατάτες (και στις φλούδες) οι οποίες καλλιεργήθηκαν σε αγρούς που λιπάνθηκαν σε σχέση με τους αγρούς-μάρτυρες.

Οι Surdyk et al.¹⁶⁸ σε πείραμα σε αγρούς βρήκαν ότι οι συγκεντρώσεις ολικού χρωμίου και νικελίου σε πατάτες δεν συνδέονται με τις συγκεντρώσεις χρωμίου και νικελίου στο νερό ποτίσματος όταν αυτές βρίσκονται μεταξύ των τιμών 0,6 και 15,1 $\mu\text{g/L}$ σε Cr και 4 και 13 $\mu\text{g/L}$ σε Ni.

Από τα παραπάνω βιβλιογραφικά αποτελέσματα φαίνεται ότι τριπλάσιες περίπου συγκεντρώσεις Ni, προστιθέμενες, όμως ως λίπασμα και όχι ως νερό ποτίσματος, σε άλλο καλλιεργητικό μέσο, δεν επιμόλυναν με Ni τις πατάτες.

Δεν παρατηρήθηκε, όμως και μείωση στα επίπεδα Ni σε πατάτες που ποτίστηκαν με διαλύματα Ni σε σχέση με αυτές που ποτίστηκαν με καθαρό νερό.

Η μείωση στα επίπεδα Ni στις πατάτες που ποτίστηκαν με 250 $\mu\text{g/L}$ σε σύγκριση με τις πατάτες - μάρτυρες, μπορεί να αποδοθεί στους λόγους που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο (π.χ. παραμονή/συγκράτηση του Ni στις ρίζες του φυτού ή μεταφορά του στα ανώτερα τμήματα του φυτού). Περαιτέρω έρευνα απαιτείται και για τις πατάτες (όπως και για τα καρότα σε σχέση με το Cr) για να αποδειχθεί ο ισχυρισμός αυτός, καθώς δεν έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία πείραμα σε πατάτες με αντίστοιχες, με της παρούσας εργασίας, συνθήκες καλλιέργειας.

3.1.3.3 Συγκρίσεις ομάδων φυτών ανά δύο

Στον Πίνακα 3.4 παρουσιάζονται οι στατιστικές σημαντικότητες των διαφορών των επιπέδων Cr και Ni σε κάθε κατηγορία φυτού για τις ανά δύο συγκρίσεις μεταξύ των συγκεντρώσεων του νερού ποτίσματος σε ρύπους. Οι συγκρίσεις γίνονται μεταξύ των φυτών που ποτίστηκαν με καθαρό νερό (0 $\mu\text{g/L}$ σε βαρέα μέταλλα) και των φυτών που ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις 10, 20, 50 και 100 $\mu\text{g/L}$ σε Cr(VI) και Ni(II).

Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές επισημαίνονται με τα σύμβολα «*» και «#» καθώς έχει διορθωθεί κατάλληλα το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας λόγω των πολλαπλών συγκρίσεων.

Πίνακας 3.4: P- values για τις συγκρίσεις των συγκεντρώσεων Cr και Ni, ανά δύο, μεταξύ των φυτών που ποτίστηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις Cr και Ni και των φυτών-μαρτύρων

	Χρώμιο	Νικέλιο
Καρότα	0	0
0	1	1
10	0,096	0,45
20	0,199	0,406
50	0,001* [#]	0,082
100	0,049 [^]	0,65
Κρεμμύδια (κορμοί)	0	0
0	1	1
10	0,1	0,045 [^]
20	0,784	0,715
50	0,068	0,273
100	0,361	0,465
Κρεμμύδια (φύλλα)	0	0
0	1	1
10	0,006* [#]	0,465
20	0,006* [#]	0,855
50	0,006* [#]	0,855
100	0,028 [^]	0,1
Πατάτες	0	0
0	1	1
10	0,266	0,013 [^]
20	0,023 [^]	0,083
50	0,011* [#]	0,728
100	0,002* [#]	0,338

[^] Ενδεικτική στο επίπεδο 0,05

* Σημαντική στο επίπεδο σημαντικότητας 0,0125 (διόρθωση Bonferroni)

[#] Σημαντική στο επίπεδο σημαντικότητας 0,0127414 (διόρθωση Sidak)

3.1.3.3.1 Καρότα

Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις στα επίπεδα Cr στα καρότα μεταξύ των συγκεντρώσεων 0 µg/L και 50 µg/L (-46,2% στη διάμεση τιμή).

Στατιστικά ενδεικτικές διαφορές στα επίπεδα Cr παρατηρήθηκαν στα καρότα μεταξύ των συγκεντρώσεων 0 και 100 µg/L (+33,8% στη διάμεση τιμή).

3.1.3.3.2 Κρεμμύδια

Στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις παρατηρήθηκαν και στα επίπεδα Cr στα φύλλα κρεμμυδιών μεταξύ των συγκεντρώσεων 0 και 10 $\mu\text{g/L}$ (+109,2% στη διάμεση τιμή), 0 $\mu\text{g/L}$ και 20 $\mu\text{g/L}$ (+47,5% στη διάμεση τιμή), 0 $\mu\text{g/L}$ και 50 $\mu\text{g/L}$ (+202,8% στη διάμεση τιμή) ενώ στατιστικά ενδεικτική διαφοροποίηση ($p=0,028$) υπήρξε και μεταξύ 0 $\mu\text{g/L}$ και 100 $\mu\text{g/L}$ (+89,9% στη διάμεση τιμή).

Διαφορές στις συγκεντρώσεις νικελίου παρατηρήθηκαν στους κορμούς κρεμμυδιών μεταξύ 0 και 10 $\mu\text{g/L}$ (+39,1% στη διάμεση τιμή) αν και αυτές οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές αλλά στατιστικά ενδεικτικές ($p\text{-value}<0,05$).

3.1.3.3.3 Πατάτες

Επίσης σημαντικές διαφοροποιήσεις παρατηρήθηκαν στα επίπεδα Cr στις πατάτες μεταξύ των συγκεντρώσεων 0 $\mu\text{g/L}$ και 50 $\mu\text{g/L}$ (-29,7% στη διάμεση τιμή), 0 $\mu\text{g/L}$ και 100 $\mu\text{g/L}$ (-38,8% στη διάμεση τιμή), ενώ στατιστικά ενδεικτική διαφοροποίηση ($p=0,023$) παρατηρήθηκε και μεταξύ 0 $\mu\text{g/L}$ και 20 $\mu\text{g/L}$ (+35,9% στη διάμεση τιμή).

Διαφορές στις συγκεντρώσεις Ni παρατηρήθηκαν στις πατάτες μεταξύ 0 και 10 $\mu\text{g/L}$ (-31,9% στη διάμεση τιμή) και 0 και 20 $\mu\text{g/L}$ (+28,1% στη διάμεση τιμή), αν και αυτές οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές αλλά στατιστικά ενδεικτικές σε διαφορετικά επίπεδα ($p<0,05$ και $p<0,1$, αντίστοιχα).

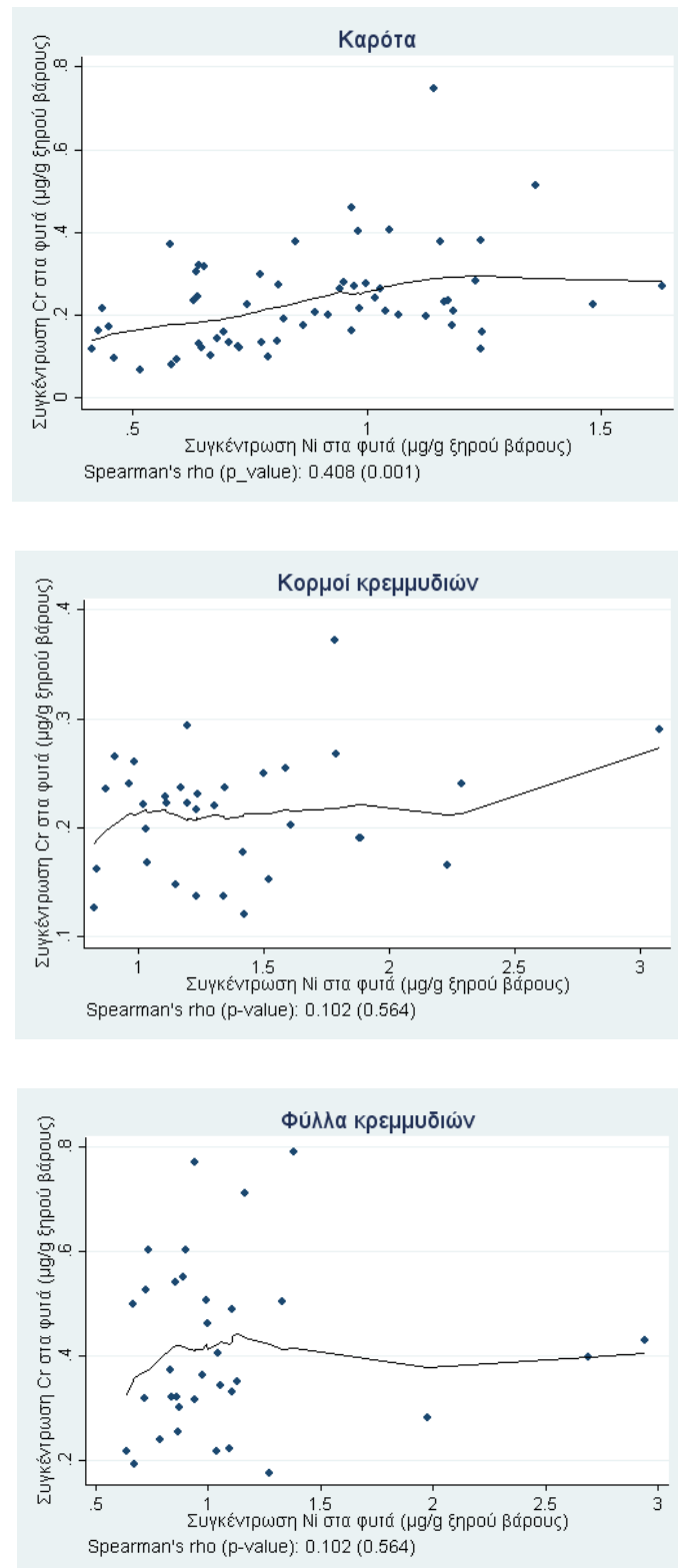
Η ανάλυση των αποτελεσμάτων που παρατέθηκαν στους πίνακες 3.3 και 3.4 οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το Ni και το Cr (ως ολικό χρώμιο) μπορούν να απορροφηθούν από τα κρεμμύδια (κορμούς και φύλλα) απ'ευθείας από το νερό ποτίσματος, ενώ προέκυψαν ισχυρές ενδείξεις, από το παραπάνω πείραμα, ότι και το Ni του νερού ποτίσματος μπορεί να απορροφηθεί από τις πατάτες, γεγονός το οποίο εξαρτάται και από τις συγκεντρώσεις Cr και Ni στο νερό ποτίσματος.

Όσον αφορά τις επί μέρους μειώσεις στα επίπεδα Cr και Ni στα καρότα και στις πατάτες, σε σύγκριση με τα φυτά-μάρτυρες, ισχύουν οι ίδιες

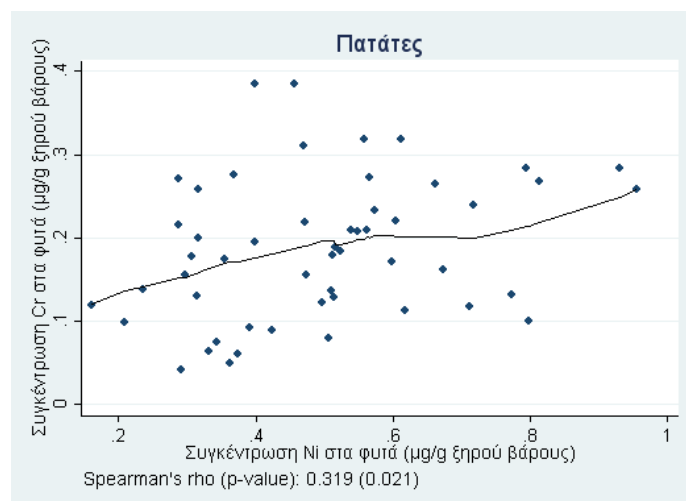
παρατηρήσεις που έγιναν στην προηγούμενη παράγραφο, για την απόδειξη των οποίων απαιτείται περαιτέρω έρευνα.

3.1.3.4 Διμεταβλητές συσχετίσεις μεταξύ χρωμίου και νικελίου σε κάθε κατηγορία φυτού

Οι συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων χρωμίου και νικελίου σε κάθε κατηγορία φυτού, για το σύνολο των φυτών (από όλες τις γλάστρες) που ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) από 0 έως και 250 μg/L παρατίθεται στο Σχήμα 3.2



Σχήμα 3.2: Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες για το σύνολο των φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



Σχήμα 3.2 (συνέχεια): Συσχετίσεις Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες για το σύνολο των φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων Cr και Ni στα καρότα ($p\text{-value}=0,001$, Spearman's $\rho=0,408$) καθώς και στις πατάτες ($p\text{-value}=0,021$, Spearman's $\rho=0,319$).

Οι συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων ολικού χρωμίου και νικελίου σε κάθε κατηγορία φυτού, για τα φυτά κάθε γλάστρας ξεχωριστά παρατίθεται στο Σχήμα 4.2, στο Παράρτημα Ι (σελ.142).

Για τις επί μέρους συσχετίσεις του Σχήματος 4.2, αναφέρονται τα εξής:

Παρατηρήθηκε στατιστικά ενδεικτική ($p\text{-value}=0,077$) θετική συσχέτιση (Spearman's $\rho=0,584$) μεταξύ των επιπέδων Cr και των επιπέδων Ni στα καρότα, για τις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό που περιείχε 50 $\mu\text{g/L}$ ρύπους.

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων Cr και των επιπέδων Ni στους κορμούς κρεμμυδιών.

Παρατηρήθηκε στατιστικά ενδεικτική ($p\text{-value}=0,072$) θετική συσχέτιση (Spearman's $\rho=0,771$) μεταξύ των επιπέδων Cr και των επιπέδων Ni στα φύλλα κρεμμυδιών, μόνο, όμως, για τις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό που περιείχε 50 $\mu\text{g/L}$ ρύπους, ενώ, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η συσχέτιση αυτή δεν επαναλήφθηκε και στο σύνολο των φυτών (ανεξαρτήτως συγκέντρωσης στο νερό ποτίσματος).

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική ($p\text{-value}=0,007$) θετική συσχέτιση (Spearman's $\rho=0,893$) μεταξύ των επιπέδων Cr και των επιπέδων Ni στις πατάτες, για τις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό που δεν περιείχε ρύπους. Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικά ενδεικτική ($p\text{-value}=0,067$) θετική συσχέτιση (Spearman's $\rho=0,633$) μεταξύ των επιπέδων Cr και των επιπέδων Ni, για τις γλάστρες που ποτίστηκαν με νερό που περιείχε 10 $\mu\text{g/L}$ ρύπους.

Τα παραπάνω αποτελέσματα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ενδέχεται να υπάρχουν συνέργειες μεταξύ του χρωμίου και του νικελίου (δηλαδή τα δύο βαρέα μέταλλα να απορροφούνται κατ' αναλογία, πιθανόν μέσω κάποιου κοινού συστήματος απορρόφησης από τα φυτά) στα καρότα και τις πατάτες. Ενδείξεις, υπάρχουν και για τα κρεμμύδια, όμως, μόνο σε μία συγκέντρωση ποτίσματος.

3.1.3.5 Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων χρωμίου και νικελίου στο χώμα

Στις γλάστρες οι οποίες ποτίστηκαν με τη μέγιστη συγκέντρωση χρωμίου και νικελίου των 250 $\mu\text{g/L}$, η συνολική ποσότητα η οποία προστέθηκε στο χώμα, μέσω του νερού ποτίσματος ήταν $(20\text{ L}) \cdot (250\text{ }\mu\text{g/L}) = 5.000\text{ }\mu\text{g} = 5\text{ mg}$ χρωμίου και νικελίου.

Αυτή η ποσότητα χρωμίου περιεχόταν κατά μέσο όρο σε μόνο $(5\text{ mg}) / (127,6\text{ mg/kg}) = 0,039\text{ kg}$ μη ρυπασμένου, με χρώμιο, χώματος.

Η αντίστοιχη ποσότητα μη ρυπασμένου χώματος για το νικέλιο ήταν μόνο $(5\text{ mg}) / (162\text{ mg/kg}) = 0,031\text{ kg}$.

Το ειδικό βάρος του χώματος ήταν 2,5 kg/L . Με δεδομένο ότι οι γλάστρες καρότων και κρεμμυδιών περιείχαν περίπου 300 L και οι γλάστρες πατατών 600 L χώματος, οι μάζα χώματος στις αντίστοιχες γλάστρες υπολογίζεται σε 750 και 1500 kg.

Έτσι, η μέγιστη προστιθέμενη ποσότητα χρωμίου στις αντίστοιχες γλάστρες, μέσω νερού ποτίσματος, αντιστοιχούσε στο $0,039\text{ kg} / 750\text{ kg} = 0,0052\%$ και $0,039\text{ kg} / 1500\text{ kg} = 0,0026\%$ του χρωμίου που ήδη περιέχεται στο μη ρυπασμένο χώμα.

Τα αντίστοιχα ποσοστά για το νικέλιο ήταν στο $0,031 \text{ kg}/750 \text{ kg}=0,0041\%$ και $0,031 \text{ kg}/1500 \text{ kg}=0,0021\%$.

Είναι προφανές ότι υπήρχαν ήδη σημαντικές ποσότητες χρωμίου και νικελίου στο μη ρυπασμένο με ανθρωπογενείς δραστηριότητες χώμα πριν την εξωτερική ρύπανσή του με νερό ποτίσματος (λαμβανομένου υπόψη, βέβαια, ότι το Cr του χώματος είναι πιθανότατα τρισθενές και κατά συνέπεια λιγότερο κινητικό και φυτοτοξικό από το εξασθενές χρώμιο που εισάγεται στο χώμα μέσω του νερού ποτίσματος).

Έτσι, είναι εύλογο το ότι δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα χώματα μεταξύ διαφορετικών βαθών στην ίδια γλάστρα ή στα χώματα διαφορετικών γλαστρών.

3.2 Δεύτερη Καλλιεργητική Περίοδος (Σεπτέμβριος 2011-Ιανουάριος 2012)

Η δεύτερη καλλιεργητική περίοδος διήρκησε το ίδιο χρονικό διάστημα με την πρώτη. Παρακάτω παρατίθενται, αναλυτικά, τα αποτελέσματα σε Cr, Ni, δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης, στα κρεμμύδια και στις πατάτες που παρήχθησαν κατά τη συγκεκριμένη περίοδο, και ακολουθεί στατιστική τους επεξεργασία.

Επίσης, γίνεται σύγκριση με τις δημοσιευμένες τιμές Cr και Ni σε καρότα, κρεμμύδια και πατάτες από Ελληνικές περιοχές, ενώ γίνεται και αναφορά σε πιθανούς κινδύνους, για τη δημόσια υγεία, από την κατανάλωσή τους.

3.2.1 Αποτελέσματα και στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων στα φυτά

Παρακάτω αναφέρονται αποτελέσματα και στατιστική επεξεργασία που αφορούν στο Cr, το Ni, τη δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης στα φυτά.

3.2.1.1 Συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος και του Cr και Ni στα φυτά

Για όλη την καλλιεργητική περίοδο κάθε γλάστρα κρεμμυδιών ή πατατών ποτίστηκε με περίπου 20 λίτρα νερού ή διαλύματος βαρέων μετάλλων συγκέντρωσης έως 1.000 $\mu\text{g/L}$.

Καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος, δεν παρατηρήθηκαν συμπτώματα τοξικότητας στα φυτά που να οφείλονται στην προσθήκη βαρέων μετάλλων.

Τα επίπεδα της δραστικότητας καταλάσης, δραστικότητας υπεροξειδάσης, χρωμίου και νικελίου στα φυτά σε σχέση με τη συγκέντρωση χρωμίου και νικελίου στο νερό ποτίσματος, παρατίθενται στον Πίνακα 3.5.

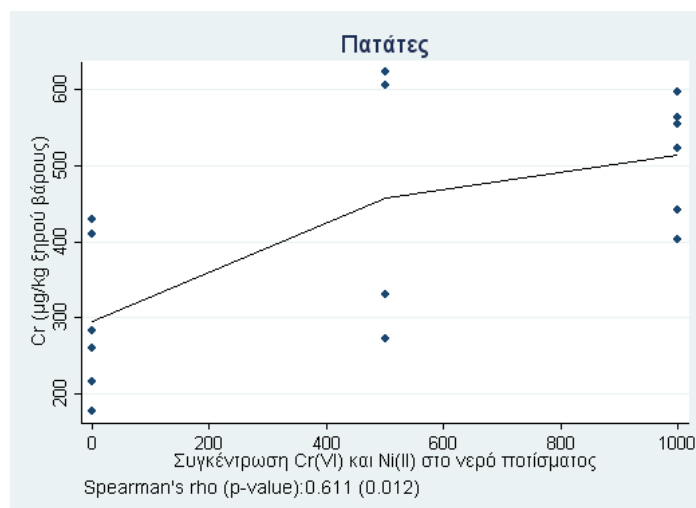
Πίνακας 3.5: Διάμεσες, μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις δραστηριότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης, και συγκέντρωσης Cr και Ni στα φυτά σε συσχέτιση με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό άρδευσης. Spearman's rho και p-values των συσχετίσεων.

Συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό άρδευσης (μg/L)							
	0	10	50	250	500	1.000	
	Διάμεσος/Μέσος/Stdev	Διάμεσος/Μέσος/Stdev	Διάμεσος/Μέσος/Stdev	Διάμεσος/Μέσος/Stdev	Διάμεσος/Μέσος/Stdev	Διάμεσος/Μέσος/Stdev	rho* (p-value)
Κρεμμύδια (κορμοί)^a							
Δραστηριότητα καταλάσης (ΔA ₂₄₀ /(min×g νωπού βάρους)	0,308/0,320/0,036	0,335/0,331/0,033	0,335/0,343/0,019	0,254/0,281/0,053	0,319/0,324/0,023	0,319/0,323/0,025	-0,079 (0,757)
Δραστηριότητα υπεροξειδάσης (ΔA ₄₇₀ /(min×g νωπού βάρους)	26,60/25,72/2,212	18,00/15,12/9,268	15,00/13,78/4,064	7,250/9,783/4,917	29,15/27,38/4,753	19,90/20,85/4,059	0,022 (0,931)
Επίπεδα Cr (μg/g ξηρού βάρους)	0,739/0,835/0,336	-	-	-	0,788/0,788/0,359	0,844/0,952/0,288	0,211 (0,586)
Επίπεδα Ni (μg/g ξηρού βάρους)	3,475/3,694/1,116	-	-	-	4,594/4,594/0,047	2,659/2,702/0,420	-0,527 (0,145)
Κρεμμύδια (φύλλα)^a							
Δραστηριότητα καταλάσης (ΔA ₂₄₀ /(min×g νωπού βάρους)	0,404/0,414/0,036	0,335/0,356/0,045	0,500/0,492/0,017	0,381/0,396/0,082	0,358/0,369/0,095	0,450/0,445/0,023	0,066 (0,795)
Δραστηριότητα υπεροξειδάσης (ΔA ₄₇₀ /(min×g νωπού βάρους)	22,90/23,80/2,571	15,15/15,78/3,642	20,05/19,48/5,024	11,85/12,35/2,833	27,65/31,78/8,582	21,95/21,92/8,400	0,160 (0,526)
Επίπεδα Cr (μg/g ξηρού βάρους)	0,803/0,852/0,521	-	-	-	0,785/0,785/0,165	0,513/0,608/0,210	-0,158 (0,685)
Επίπεδα Ni (μg/g ξηρού βάρους)	2,293/2,464/1,044	-	-	-	2,557/2,557/0,269	1,662/1,938/0,491	-0,105 (0,787)
Πατάτες							
Δραστηριότητα καταλάσης (ΔA ₂₄₀ /(min×g νωπού βάρους)	0,304/0,333/0,065 ^γ	0,323/0,321/0,050 ^ε	0,258/0,254/0,026 ^ε	0,267/0,261/0,031 ^ζ	0,369/0,377/0,050 ^δ	0,375/0,354/0,068 ^β	0,106 (0,543)
Δραστηριότητα υπεροξειδάσης (ΔA ₄₇₀ /(min×g νωπού βάρους)	1,85/3,107/2,99 ^γ	2,600/2,710/1,106 ^ε	3,000/2,930/0,441 ^ε	2,100/2,033/0,534 ^ζ	1,375/1,425/0,437 ^δ	2,700/2,692/1,471 ^β	-0,158 (0,365)
Επίπεδα Cr (μg/g ξηρού βάρους)	0,271/0,296/0,103 ^β	-	-	-	0,468/0,457/0,181 ^β	0,538/0,513/0,076 ^β	0,611 (0,012) ^α
Επίπεδα Ni (μg/g ξηρού βάρους)	1,005/0,924/0,253 ^β	-	-	-	0,791/0,955/0,291 ^α	1,192/1,174/0,094 ^ε	0,429 (0,126)

^a (n=3), ^β (n=6), ^γ (n=7), ^δ (n=4),
^ε (n=5), ^ζ (n=8)

* Spearman's rho

^αΣυσχέτιση στατιστικά σημαντική στο επίπεδο 0,05



Σχήμα 3.3: Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr στις πατάτες με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος

Στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση ($p\text{-value}=0,012$, Spearman's $\rho=0,611$) παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων Cr στις πατάτες και των επιπέδων Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος.

Από τα αποτελέσματα αυτά, προκύπτει ότι, υπό συνθήκες, η συγκέντρωση Cr στις πατάτες είναι ανάλογη της προστιθέμενης ποσότητας Cr(VI) και Ni(II), στο φυτό, μέσω του νερού ποτίσματος.

Οι Surdyk et al.¹⁶⁸, όπως αναφέρθηκε, σε πείραμα σε αγρούς, χρησιμοποιώντας πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις από αυτές της παρούσας έρευνας, βρήκαν ότι οι συγκεντρώσεις ολικού χρωμίου και νικελίου σε πατάτες δεν συσχετίζονταν με τις συγκεντρώσεις του νερού ποτίσματος σε ολικό χρώμιο και νικέλιο, όταν οι τελευταίες βρίσκονταν εντός των ορίων 0,6-15,1 µg/L σε Cr και 4-13 µg/L σε Ni (δηλαδή κατά τουλάχιστον 60 φορές μικρότερες από τις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν στο παρόν πείραμα).

Δεν βρέθηκε άλλη στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της δραστηριότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ή της συγκέντρωσης Cr και Ni με τις συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος, όπως είναι φανερό από τον Πίνακα 3.5 αλλά και από τα στικτογράμματα που αποτελούν το σχήμα 4.3 στο Παράρτημα Ι (σελ. 152).

Ίσως αυτό να οφείλεται στις σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις Cr και Ni στο νερό ποτίσματος.

3.2.1.2 Συγκρίσεις ομάδων φυτών ανά δύο

Οι στατιστικές σημαντικότητες (p-values) των διαφορών στα επίπεδα των διαφόρων παραμέτρων (Cr, Ni, δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης) μεταξύ των ομάδων φυτών που καλλιεργήθηκαν σε διαφορετικές γλάστρες (δηλαδή με διαφορετικές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων) παρατίθενται στον πίνακα 3.6.

Οι στατιστικές σημαντικότητες επισημαίνονται με τα σύμβολα «*» και «#» καθώς τα επίπεδα σημαντικότητας διορθώθηκαν χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία διόρθωσης Bonferroni και Sidak.

Πίνακας 3.6: P-values για τις συγκρίσεις ανά δύο, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης και συγκέντρωσης Cr και Ni, ανάμεσα στις ομάδες φυτών που ποτίστηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II).

	Cr	Ni	Καταλάση	Υπεροξειδάση
Κρεμμύδια (κορμοί)	0	0	0	0
0	1	1	1	1
10	-	-	0,658	0,05
50	-	-	0,275	0,05
250	-	-	0,275	0,05
500	0,513	0,513	0,827	0,513
1000	0,513	0,127	0,827	0,127
Κρεμμύδια (φύλλα)	0	0	0	0
0	1	1	1	1
10	-	-	0,275	0,05
50	-	-	0,05	0,275
250	-	-	0,513	0,05
500	0,513	0,275	0,513	0,127
1000	0,827	0,827	0,275	0,827
Πατάτες	0	0	0	0
0	1	1	1	1
10	-	-	0,807	0,745
50	-	-	0,018 [^]	0,104
250	-	-	0,015 [^]	0,817
500	0,749	0,465	0,255	0,089
1000	0,01 ^{^*#}	0,1	0,720	0,83

[^] Ενδεικτική στο επίπεδο 0,05

* Σημαντική στο επίπεδο σημαντικότητας 0,025 (διόρθωση Bonferroni)

Σημαντική στο επίπεδο σημαντικότητας 0,0253 (διόρθωση Sidak)

3.2.1.2.1 Κρεμμύδια

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα χρωμίου και νικελίου στα κρεμμύδια ανάμεσα στις τρεις συγκεντρώσεις ποτίσματος (0, 500 και 1.000 $\mu\text{g/L}$).

Όπως αναφέρθηκε, στο πρώτο πείραμα παρατηρήθηκαν, σε κάποιες περιπτώσεις, διαφορές ανάμεσα στις συγκεντρώσεις Cr και Ni στα φύλλα κρεμμυδιών που ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) έως 250 $\mu\text{g/L}$ σε σύγκριση με τα φυτά - μάρτυρες που ποτίστηκαν με καθαρό νερό.

Οι διαφορές αυτές δεν επαναλήφθηκαν στο δεύτερο πείραμα που οι συγκεντρώσεις ήταν από διπλάσιες έως τετραπλάσιες της μέγιστης συγκέντρωσης Cr και Ni στο νερό ποτίσματος, σε σχέση με το πρώτο πείραμα.

Το γεγονός αυτό ίσως οφείλεται στους εξής παράγοντες: (α) στον μικρότερο αριθμό κρεμμυδιών που αναλύθηκαν στο δεύτερο πείραμα ανά γλάστρα ($n=3$) σε σχέση με το πρώτο ($n=6$), (β) σε διαφορετικές συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας χώματος στις γλάστρες στις δύο καλλιεργητικές περιόδους (οι λοιποί παράγοντες καλλιέργειας ήταν οι ίδιοι όπως π.χ. χώμα, είδος και ποσότητα λίπανσης, φυτοφάρμακα κ.λπ.) καθώς το ποσοστό υγρασίας και η θερμοκρασία του χώματος είναι δυνατόν να επηρεάσει την πρόσληψη βαρέων μετάλλων (Chang et al. 1987) (γ) αντίδραση του μηχανισμού άμυνας του φυτού στην αύξηση του βιοδιαθέσιμου Cr(VI) και Ni(II) στη ριζόσφαιρα, κατά τη δεύτερη πειραματική περίοδο, σε σχέση με την πρώτη. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για να αποδειχθούν οι παραπάνω υποθέσεις.

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης στα κρεμμύδια μεταξύ των φυτών που ποτίστηκαν με καθαρό νερό και των φυτών που ποτίστηκαν με οποιαδήποτε από τις πέντε συγκεντρώσεις σε βαρέα μέταλλα. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στις χαμηλές συγκεντρώσεις Cr και Ni που χρησιμοποιήθηκαν στο παρόν πείραμα, σε σχέση με άλλες συγκεντρώσεις που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

Άλλοι ερευνητές, οι οποίοι αξιολόγησαν αρκετά μεγάλο αριθμό βαρέων μετάλλων σε μεγαλύτερες και τοξικότερες συγκεντρώσεις νερού ποτίσματος, διαπίστωσαν ότι η άρδευση κρεμμυδιών με βαρέα μέταλλα μπορεί να μεταβάλει τη δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης. Ενδεικτικά αναφέρεται παρακάτω μία μελέτη, ενώ, όλη η διαθέσιμη σχετική βιβλιογραφία, παρουσιάστηκε αναλυτικά στο κεφάλαιο 1.

Οι Fatima και Ahmad¹⁴⁶ πότισαν κρεμμύδια με υγρά απόβλητα που περιείχαν μεγάλες ποσότητες βαρέων μετάλλων όπως Cr (94 mg/L), Hg (242 µg/L), Cd (878 mg/L), Cu (564 mg/L), Pb (324 mg/L), Zn (242 mg/L). Το παραπάνω μίγμα οδήγησε σε πλήρη παρεμπόδιση της δραστικότητας πολλών αντιοξειδωτικών ενζύμων, μεταξύ των οποίων ήταν και η καταλάση. Όταν το παραπάνω μίγμα βαρέων μετάλλων αραιώθηκε 100 έως 2.000 φορές η καταλάση παρουσίασε αυξημένη δραστικότητα σε σύγκριση με το αρχικό μίγμα.

3.2.1.2.2 Πατάτες

Στατιστικά σημαντικές διαφορές, μετά και τη διόρθωση κατά Bonferroni και Sidak, παρατηρήθηκαν στα επίπεδα χρωμίου στις πατάτες μεταξύ των συγκεντρώσεων 0 και 1.000 µg/L (+77,6% στις διάμεσες τιμές, $p=0,01$).

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα νικελίου στις πατάτες ανάμεσα στις τρεις συγκεντρώσεις ποτίσματος (0, 500 και 1.000 µg/L).

Η μέγιστη ποσότητα Cr και Ni, στο πείραμα, που εφαρμόστηκε στις πατάτες οι οποίες καλλιεργήθηκαν σε κάδους/γλάστρες διαμέτρου 1 m ήταν 25,5 mg Cr και Ni/m² αρδευόμενων πατατών. Η ποσότητα αυτή είναι λίγο μεγαλύτερη από την ποσότητα που εφαρμόστηκε στις πατάτες μέσω λιπασμάτων, σε πείραμα από τους Srek et al.¹¹⁴. Συγκεκριμένα, οι Srek et al., σε πείραμα σε αγρούς, διερεύνησαν τις επιπτώσεις στις πατάτες από τη χρήση λιπασμάτων που περιείχαν 0,26 έως 19,9 mg/m² Ni και 1,52 έως 23,7 mg/m² Cr, αντίστοιχα. Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο χρώμιο και το νικέλιο στις ξεφλουδισμένες πατάτες σε κανένα από τα παραπάνω λιπάσματα σε σχέση με τα φυτά ελέγχου.

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Srek et al. όσον αφορά το Ni, όχι όμως το Cr. Αυτό, πιθανόν να οφείλεται στους εξής λόγους: (α) στο παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκε Cr(VI) το οποίο είναι πιο κινητικό από το Cr(III) που πιθανότατα περιέχεται στο λίπασμα που χρησιμοποίησαν οι Srek et al. και (β) το Cr στο νερό ποτίσματος είναι πιο εύκολα βιοδιαθέσιμο από το Cr στα λιπάσματα.

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη δραστικότητα υπεροξειδάσης ανάμεσα στις πατάτες που ποτίστηκαν με διαλύματα Cr και Ni και στις πατάτες-μάρτυρες.

Στατιστικά ενδεικτικές διαφορές ($p=0,05$) παρατηρήθηκαν στα επίπεδα καταλάσης στις πατάτες: (α) ανάμεσα στις συγκεντρώσεις 0 και 50 $\mu\text{g/L}$ (-15% στις διάμεσες τιμές, $p=0,018$) και (β) ανάμεσα στις συγκεντρώσεις 0 και 250 $\mu\text{g/L}$ (-12% στις διάμεσες τιμές, $p=0,015$).

Οι παραπάνω διαφορές στη δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης στις πατάτες, είναι αρκετά μικρές - και μη στατιστικά σημαντικές - και προκαλούν αμφιβολία σχετικά με το εάν οφείλονται στην άρδευση με διαλύματα Cr και Ni, αν λάβει κανείς υπόψη του και τα αποτελέσματα από σχετικό πείραμα των Shukla και Gopal¹²⁹ σε πατάτες.

Συγκεκριμένα, οι Shukla και Gopal¹²⁹, όπως αναφέρθηκε και στο Κεφάλαιο 1, ερεύνησαν την άρδευση πατατών με διαφορετικές συγκεντρώσεις Ni. Μετά από 12 ημέρες προσθήκης Ni, στα φυτά που ποτίζονταν με συγκέντρωση 30.000 $\mu\text{g/L}$, εκτός από μείωση της ανάπτυξης, παρατηρήθηκε και χλώρωση καθώς και καφέ νεκρωτικές περιοχές. Λίγες μέρες αργότερα, τα συμπτώματα εμφανίστηκαν και σε φυτά που αρδεύτηκαν με μικρότερες συγκεντρώσεις Ni (>20,000 $\mu\text{g/L}$). Οι δραστικότητες καταλάσης και υπεροξειδάσης μειώθηκαν στους βολβούς που αρδεύτηκαν με συγκεντρώσεις >6,000 $\mu\text{g/L}$ και 18,000 $\mu\text{g/L}$, αντίστοιχα, (οι οποίες είναι έξι και δέκα φορές μεγαλύτερες, αντίστοιχα, από τη μέγιστη συγκέντρωση Ni στο νερό άρδευσης που χρησιμοποιήθηκε στη παρούσα εργασία), ενώ μέχρι και αυτές τις συγκεντρώσεις (δηλαδή 6,000 $\mu\text{g/L}$ και 18,000 $\mu\text{g/L}$, αντίστοιχα) οι αντίστοιχες ενζυματικές αντιοξειδωτικές δραστικότητες παρέμεναν σχεδόν σταθερές.

Αξιολογώντας τα αποτελέσματα που παρατέθηκαν στους Πίνακες 3.5 και 3.6 οδηγείται κανείς στο εξής συμπέρασμα, το οποίο έχει πρακτικό αποτέλεσμα, όσον αφορά την καλλιέργεια φυτών με νερό ποτίσματος ρυπασμένο με χρώμιο και νικέλιο: το χρώμιο (ως ολικό χρώμιο) μπορεί, υπό συγκεκριμένες συνθήκες (συμβατική καλλιέργεια σε συγκεκριμένο είδος εδάφους και άρδευση με ρυπασμένο με Cr(VI) και Ni(II) νερό), να απορροφηθεί απ' ευθείας, μέσω του νερού άρδευσης (διασταυρούμενη επιμόλυνση), από τις πατάτες.

3.2.1.3 Διμεταβλητές συσχετίσεις μεταξύ συγκέντρωσης χρωμίου, νικελίου, δραστηριότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης σε κάθε κατηγορία φυτού

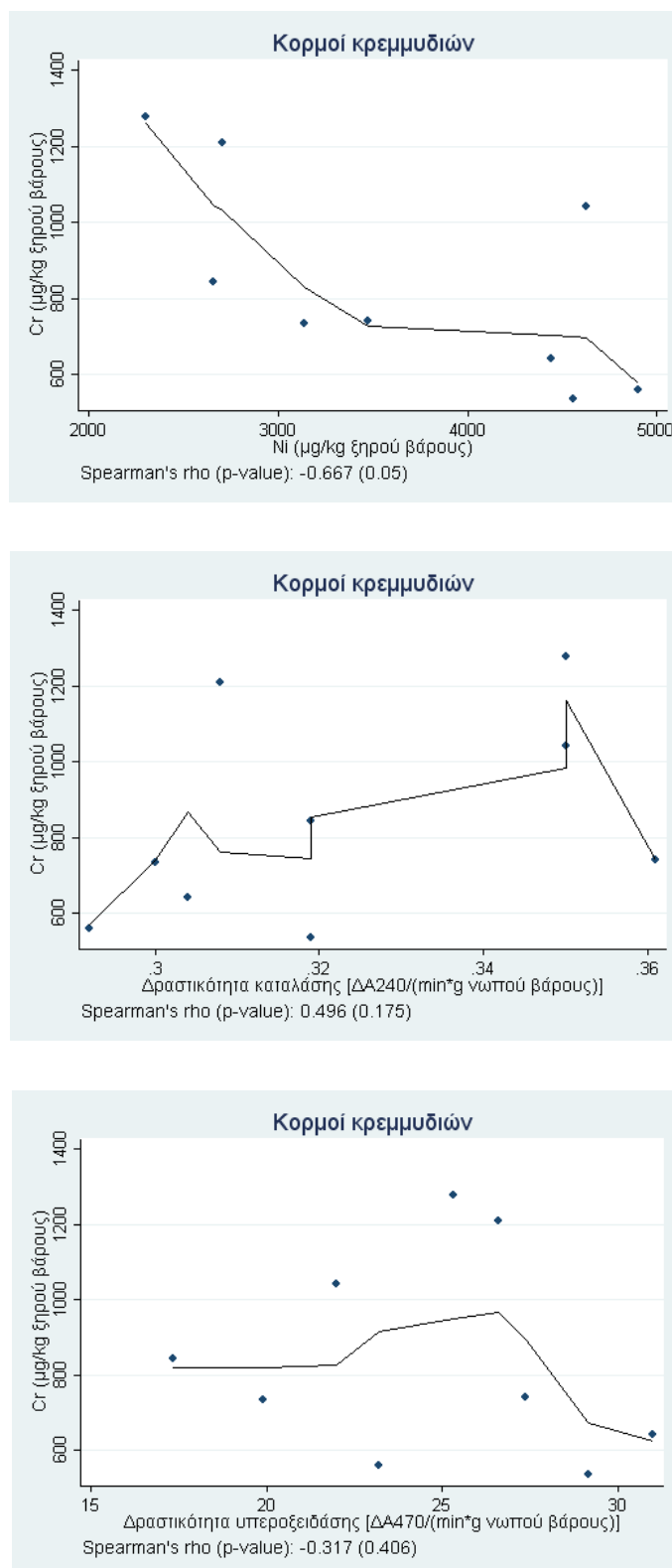
Οι συσχετίσεις ανάμεσα στα επίπεδα χρωμίου και νικελίου και τις δραστηριότητες καταλάσης και υπεροξειδάσης, στο συνολικό αριθμό κάθε κατηγορίας φυτών, αναφέρονται στον Πίνακα 3.7 και το Σχήμα 3.4.

Πίνακας 3.7: Συσχετίσεις ανάμεσα στα επίπεδα χρωμίου και νικελίου και τις δραστηριότητες καταλάσης και υπεροξειδάσης, στο συνολικό αριθμό κάθε κατηγορίας φυτών

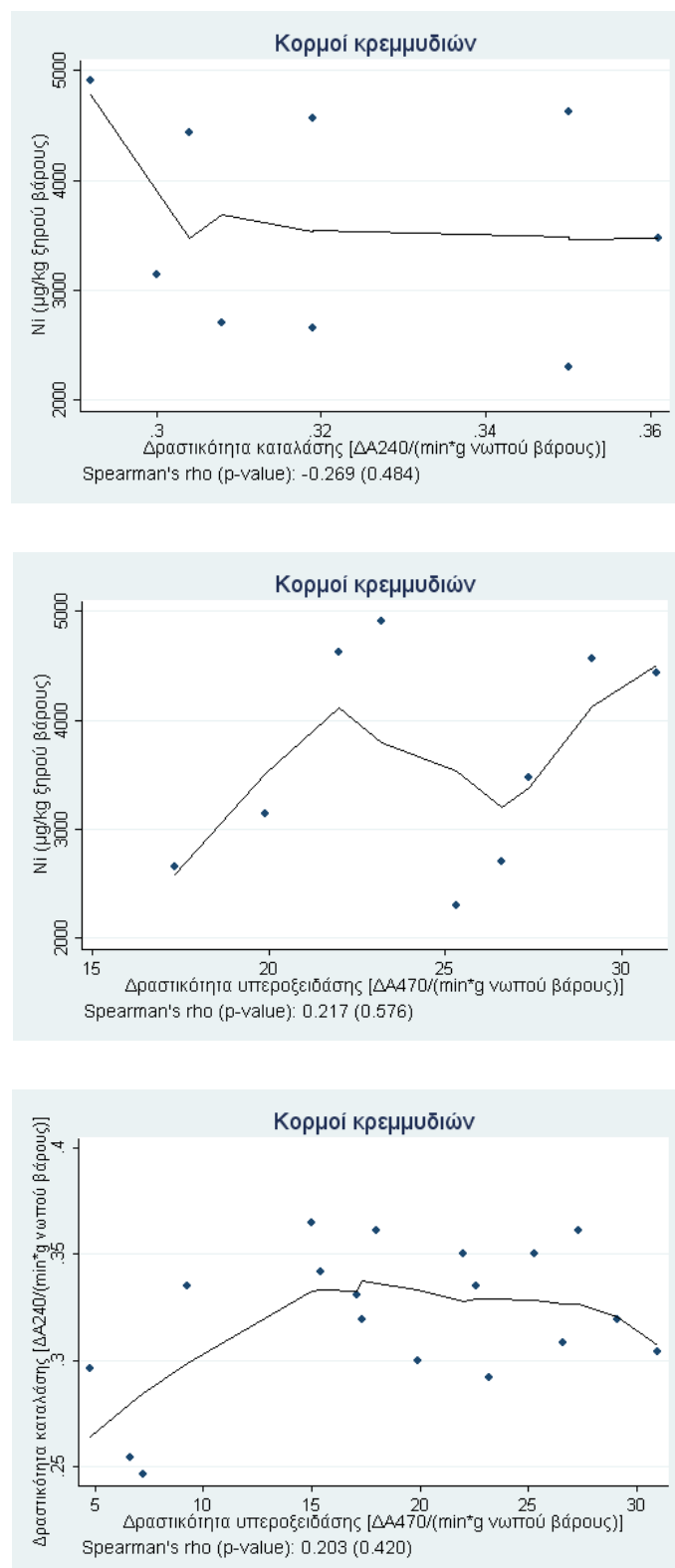
ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑ ΦΥΤΑ (0-1000 µg/L)						
ΚΟΡΜΟΙ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	-0,667 ^α	0,05	0,496 ^α	0,175	-0,317 ^α	0,406
Ni	1,000		-0,269 ^α	0,484	0,217 ^α	0,576
Καταλάση	-0,269 ^α	0,484	1,000		0,203 ^β	0,420
ΦΥΛΛΑ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	0,3 ^α	0,433	0,083 ^α	0,831	0,333 ^α	0,381
Ni	1,000		-0,267 ^α	0,488	0,75 ^α	0,02
Καταλάση	-0,267 ^α	0,488	1,000		0,181 ^β	0,473
ΠΑΤΑΤΕΣ						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	0,552 ^γ	0,041	0,588 ^γ	0,017	0,295 ^γ	0,268
Ni	1,000		0,187 ^γ	0,522	0,350 ^γ	0,220
Καταλάση	0,187 ^γ	0,522	1,000		0,005 ^δ	0,975

^α Συσχέτιση σημαντική στο επίπεδο 0,05

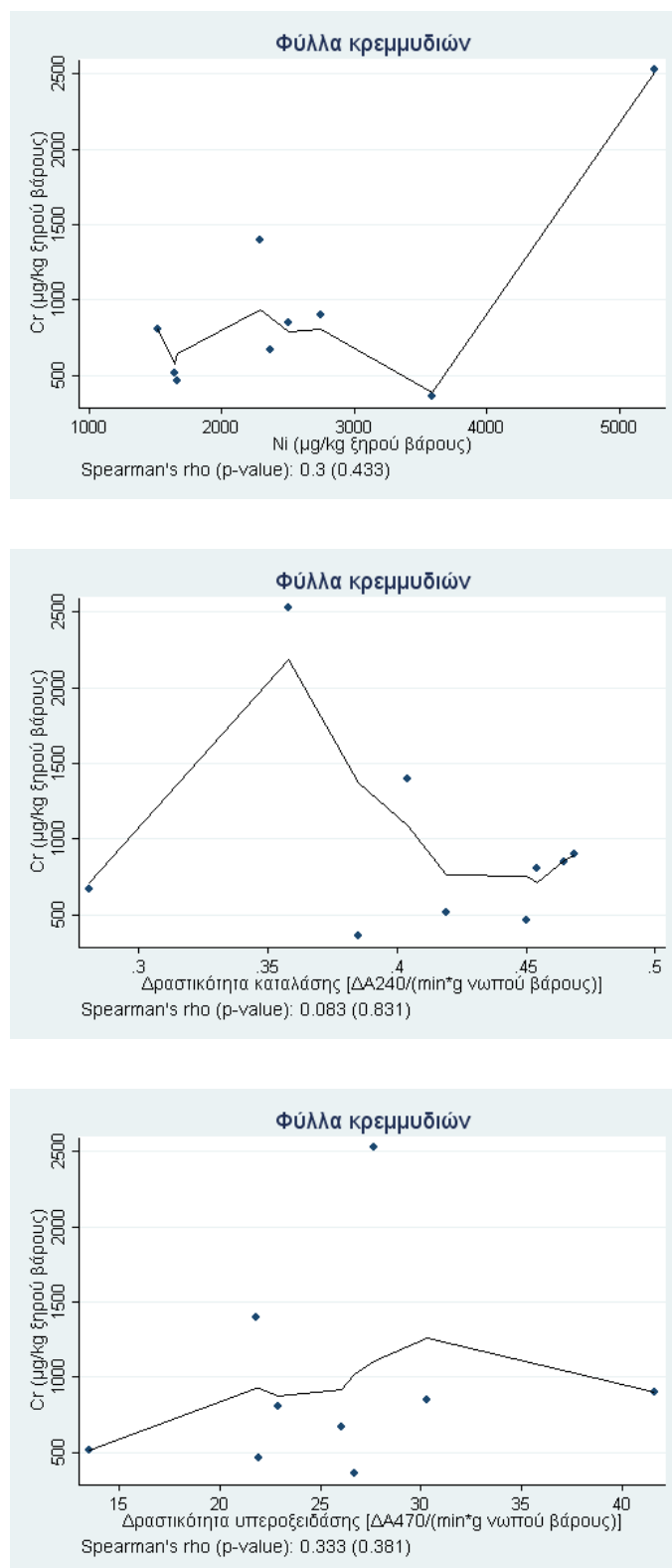
^α(n=9), ^β(n=18), ^γ(n=16), ^δ(n=35)



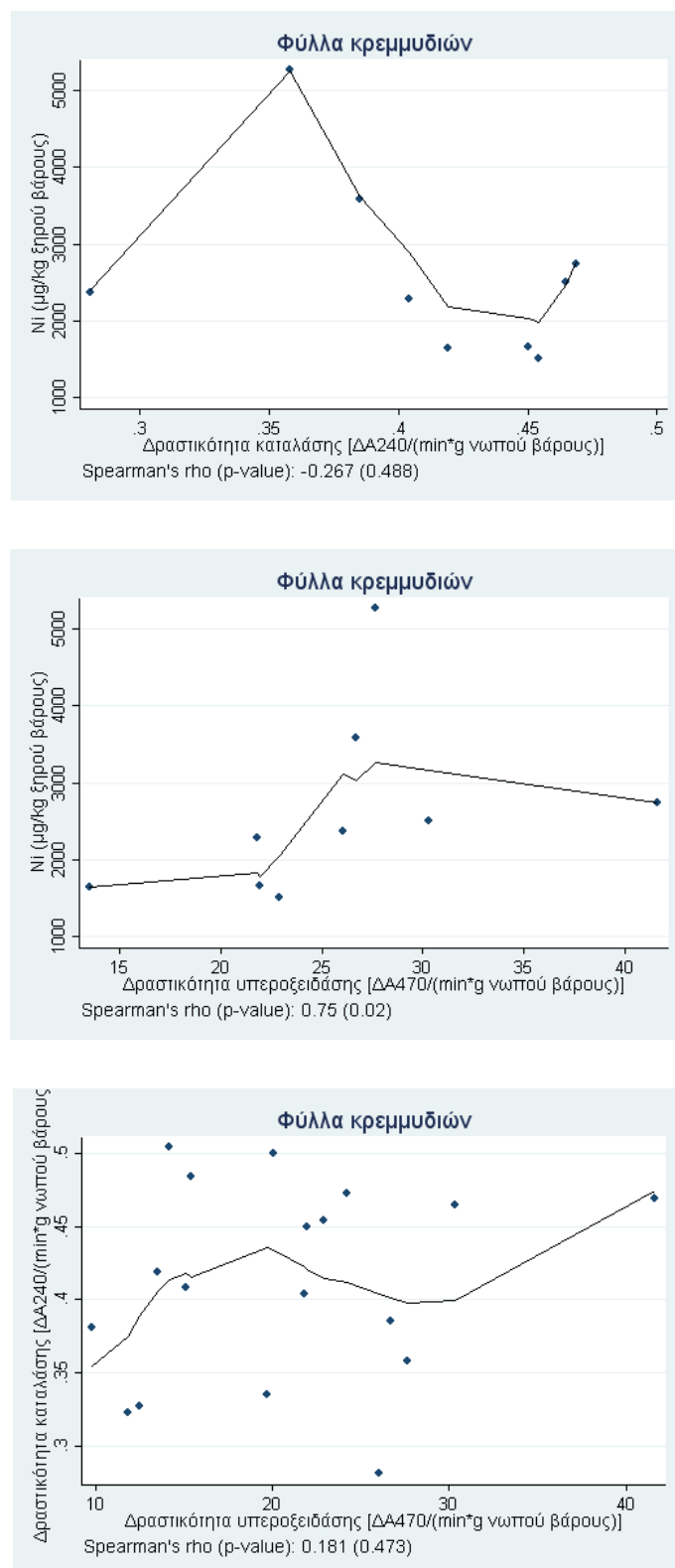
Σχήμα 3.4: Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης στο συνολικό αριθμό των φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



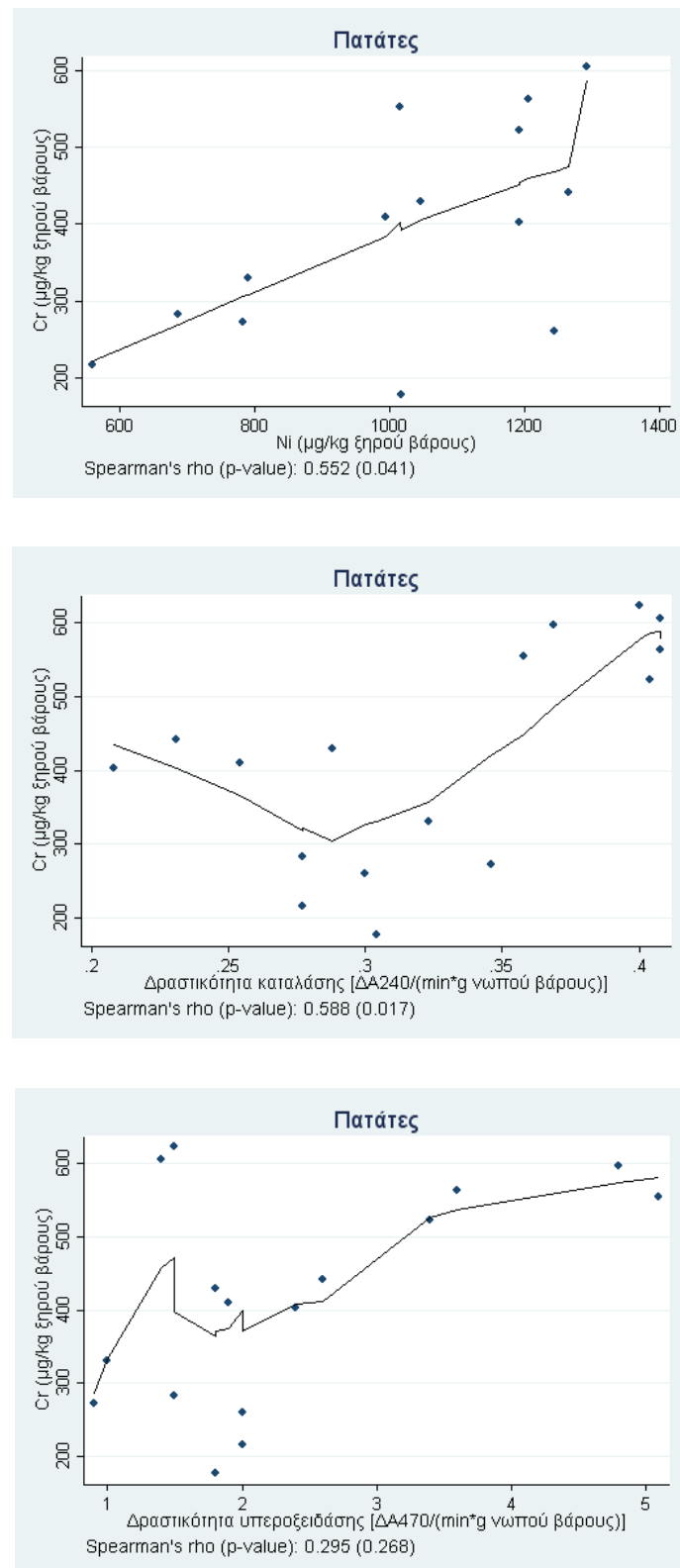
Σχήμα 3.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης στο συνολικό αριθμό των φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



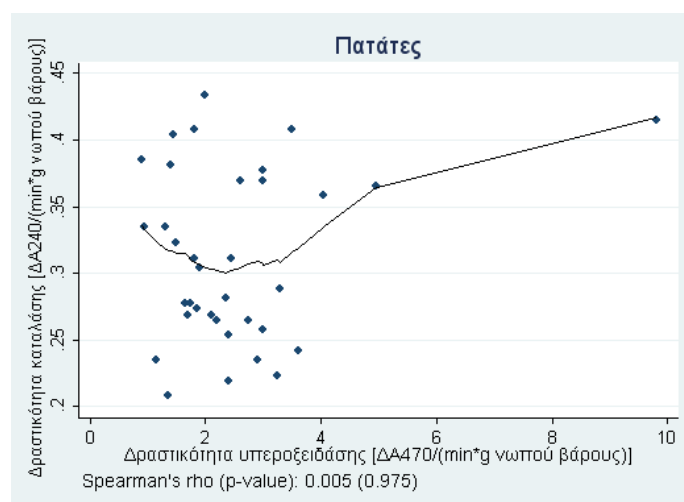
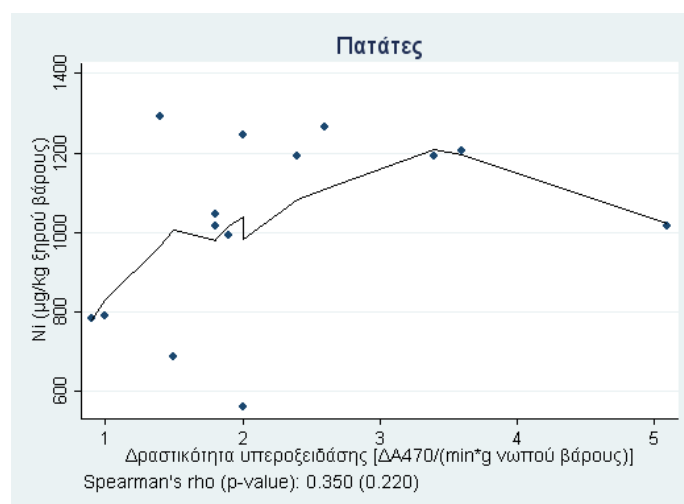
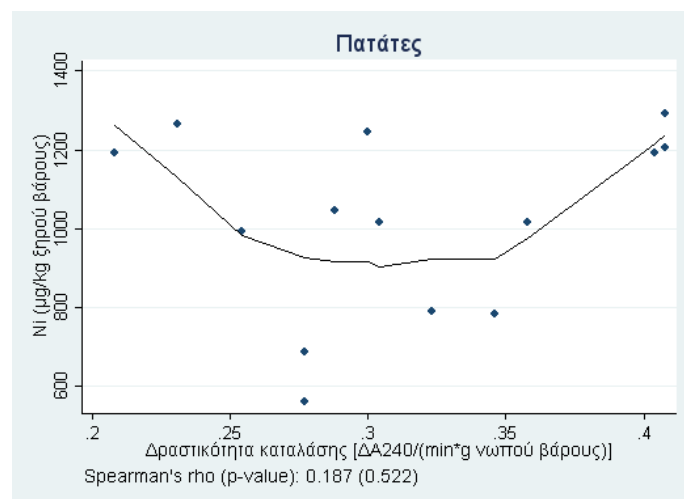
Σχήμα 3.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης στο συνολικό αριθμό των φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



Σχήμα 3.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης στο συνολικό αριθμό των φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



Σχήμα 3.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης στο συνολικό αριθμό των φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



Σχήμα 3.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης στο συνολικό αριθμό των φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).

Στατιστικά σημαντικές θετικές και αρνητικές συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης παρατηρήθηκαν ανάμεσα στα φυτά που καλλιεργήθηκαν και σε επί μέρους γλάστρες (δηλαδή φυτά που ποτίστηκαν με την ίδια συγκέντρωση Cr και Ni) όπως φαίνεται στον πίνακα 4.1 (σελ. 150) και το σχήμα 4.4 (σελ.156) στο Παράρτημα Ι. Παρά ταύτα, πολλές από αυτές τις συσχετίσεις δεν επαναλήφθηκαν όταν η σύγκριση έγινε στο σύνολο των καλλιεργούμενων φυτών (τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με όλες τις συγκεντρώσεις Cr και Ni στο νερό ποτίσματος μαζί και με τα φυτά - μάρτυρες), όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.7 και στο Σχήμα 3.4 και περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω.

Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για να εξηγηθούν οι ειδικές συνθήκες που δημιουργούν τις συσχετίσεις (συνέργειες, ανταγωνισμούς) μεταξύ των παραμέτρων Cr, Ni, καταλάση και υπεροξειδάση στα φυτά που ποτίστηκαν με τις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις Cr και Ni.

3.2.1.3.1 Κορμοί κρεμμυδιών

Στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων χρωμίου και νικελίου στο συνολικό αριθμό κορμών κρεμμυδιού ($p\text{-value}=0,05$, Spearman's $\rho=-0,667$) (βλ. επίσης, κορμούς κρεμμυδιών που ποτίστηκαν με 0 και 1.000 $\mu\text{g/L}$ Cr και Ni). Το αποτέλεσμα αυτό καταδεικνύει ότι μπορεί να υπάρχουν ανταγωνισμοί ανάμεσα στο χρώμιο και το νικέλιο σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις των δύο βαρέων μετάλλων στους κορμούς κρεμμυδιών (δηλαδή τα δύο βαρέα μέταλλα να απορροφώνται αντιστρόφως ανάλογα, πιθανόν λόγω του ότι το ένα αντικαθιστά το άλλο κατά τη διαδικασία απορρόφησής τους).

Η αρνητική αυτή συσχέτιση μεταξύ Cr και Ni στους κορμούς κρεμμυδιών, δεν παρατηρήθηκε στα φυτά του πρώτου πειράματος που ποτίστηκαν με μικρότερες συγκεντρώσεις Cr και Ni, ίσως διότι ο μηχανισμός ανταγωνισμού Cr και Ni ενεργοποιείται σε συνθήκες εντονότερου στρες του φυτού σε βαρέα μέταλλα. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για να τεκμηριωθεί ο ισχυρισμός αυτός.

3.2.1.3.2 Φύλλα κρεμμυδιών

Στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων νικελίου και των επιπέδων υπεροξειδάσης στα φύλλα κρεμμυδιών ($p\text{-value}=0,02$, Spearman's $\rho=0,75$) (βλ. επίσης, τα φύλλα των κρεμμυδιών που ποτίστηκαν με 1.000 $\mu\text{g/L}$ Cr και Ni).

Το γεγονός αυτό καταδεικνύει ότι αύξηση Ni στα φύλλα του φυτού δημιουργεί οξειδωτικό στρες μέσω της παραγωγής ελευθέρων μορφών οξυγόνου (ROS) και ενεργοποιείται ο αμυντικός αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού, μέσω της παραγωγής υπεροξειδάσης.

3.2.1.3.3 Πατάτες

Στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων χρωμίου και νικελίου στις πατάτες ($p\text{-value}=0,041$, Spearman's $\rho=0,552$) (βλ. επίσης τις πατάτες που ποτίστηκαν με 500 $\mu\text{g/L}$ Cr και Ni).

Αντίστοιχη συσχέτιση μεταξύ Cr και Ni παρατηρήθηκε και στο σύνολο των πατατών του πρώτου πειράματος ($p\text{-value}=0,021$, Spearman's $\rho=0,319$).

Τα συγκλίνοντα αποτελέσματα αυτά, των δύο πειραματικών περιόδων, καταδεικνύουν ότι μπορεί να υπάρχουν συνέργειες ανάμεσα στο χρώμιο και το νικέλιο στις πατάτες (δηλαδή τα δύο βαρέα μέταλλα να απορροφώνται σε αναλογία, πιθανόν μέσω κοινού συστήματος απορρόφησης).

Στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε, επίσης, μεταξύ των επιπέδων χρωμίου και της δραστηρότητας καταλάσης στις πατάτες ($p\text{-value}=0,017$, Spearman's $\rho=0,588$), για τιμές δραστηρότητας καταλάσης μεγαλύτερες από 0,25 $\Delta A_{240}/(\text{min} \times \text{g νωπού βάρους})$.

Το γεγονός αυτό καταδεικνύει ότι αύξηση των επιπέδων Cr στις πατάτες δημιουργεί οξειδωτικό στρες, μέσω της παραγωγής ROS και υπάρχει αντίστοιχη ενεργοποίηση της αντιοξειδωτικής άμυνας του φυτού μέσω της παραγωγής καταλάσης.

3.2.2 Αναλύσεις Cr(VI) και Cr(III) στα φυτά

Είναι γνωστό ότι το εξασθενές χρώμιο του νερού ποτίσματος ανάγεται, σε πολύ μεγάλο βαθμό, μέσα στις ρίζες των λαχανικών, σε τρισθενές χρώμιο. Το μεγαλύτερο μέρος του τρισθενούς πλέον χρωμίου παραμένει εντός των ριζών ενώ μόνο ένα μικρό ποσοστό οδηγείται στα ανώτερα μέρη του φυτού⁴³.

Παρά ταύτα, αποφασίστηκε να γίνει ανάλυση εξασθενούς και τρισθενούς χρωμίου, σε ένα μικρό μέρος των φυτών, λυοφιλιωμένων και μη, που καλλιεργήθηκαν στο δεύτερο πείραμα και ποτίστηκαν με Cr(VI), έτσι, ώστε να διαπιστωθεί ο βαθμός μετατροπής του μετάλλου στην πλέον ακίνδυνη μορφή του.

Οι αναλύσεις έγιναν το 2012, από τον κ. Μάριο Κωστάκη, χημικό, στο πλαίσιο μεταπτυχιακής του εργασίας στον Τομέα Αναλυτικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του ΕΚΠΑ¹⁶⁹.

Οι αναλύσεις έγιναν σε δείγματα κρεμμυδιού και πατάτας, καθώς και σε λυοφιλιωμένα δείγματα των φυτών που καλλιεργήθηκαν στη δεύτερη καλλιεργητική περίοδο. Στο νωπό δείγμα του λαχανικού (κρεμμύδι-πατάτα) η συγκέντρωση ήταν πολύ χαμηλή, καθώς όλα τα αποτελέσματα ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης.

Στα τρία λυοφιλιωμένα δείγματα που αναλύθηκαν (στα οποία απομακρύνθηκε το 90% του βάρους τους, το οποίο ήταν νερό) η συγκέντρωση κυμάνθηκε οριακά πάνω και κάτω από το όριο ποσοτικοποίησης. Παράλληλα με την μέτρηση εξασθενούς χρωμίου έγινε και μέτρηση της τρισθενούς μορφής του.

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα:

Πίνακας 3.8: Αποτελέσματα δειγμάτων τροφίμων του δεύτερου πειράματος για εξασθενές και ολικό χρώμιο.

	α/α	Εξασθενές χρώμιο (μg/Kg)	Ολικό χρώμιο (μg/Kg)
Δείγματα φύλλων κρεμμυδιού	1	<18,9	494
	2	<18,9	251
	3	<18,9	294
Δείγματα κορμών κρεμμυδιού	4	<18,9	166
	5	<18,9	183
	6	<18,9	148
Δείγματα πατάτας	7	<18,9	76,0
	8	<18,9	78,4
	9	<18,9	107
Λυοφιλιωμένη πατάτα	11	43*	217
Λυοφιλιωμένο κρεμμύδι	12	38*	1.396
	13	55**	513

*ποτίστηκε με καθαρό νερό

**ποτίστηκε με συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) 1.000 μg/L

Από τα αποτελέσματα είναι φανερό ότι το μεγαλύτερο μέρος του ολικού χρωμίου είναι σε τρισθενή μορφή, αλλά υπάρχει και μία μικρή ποσότητα εξασθενούς χρωμίου, η οποία όπως αναφέρθηκε είναι κοντά στο όριο ποσοτικοποίησης και προσδιορίστηκε μόνο στα τρία λυοφιλοποιημένα δείγματα βολβών.

Το ποσοστό Cr(VI) σε σχέση με το ολικό στα λυοφιλιωμένα δείγματα κυμάνθηκε από 2,7% έως 19,8%. Ποσοστά [Cr(VI)/ολικό Cr] μεταξύ 3% και 12% βρέθηκαν επίσης σε ξηραμένα δείγματα καρότων, κρεμμυδιών και πατατών στη Θήβα από τους Economou-Eliopoulos et al.¹¹⁵.

Τα αποτελέσματα που έδειξαν ύπαρξη Cr(VI) στους βολβούς ενδέχεται να είναι ψευδώς θετικά, σύμφωνα με τους Novotnic et al¹⁷⁰.

3.3 Σύγκριση συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων στα φυτά των πειραμάτων με φυτά διαφόρων περιοχών στην Ελλάδα

Η μέγιστη διάμεση τιμή Cr και Ni στα φυτά που καλλιεργήθηκαν στην παρούσα εργασία (και από τις δύο καλλιεργητικές περιόδους) αναφέρεται στον Πίνακα 3.9. Ο υπολογισμός των τιμών σε μg/kg νωπού βάρους, έγινε λαμβάνοντας υπόψιν την υγρασία των φυτών που κατά μέσο όρο ήταν 88%, 89% και 80% για καρότα, κρεμμύδια και πατάτες, αντίστοιχα.

Η συνολική συγκέντρωση Cr και Ni στα κρεμμύδια υπολογίστηκε λαμβάνοντας υπόψη ότι τα φύλλα και ο κορμός κρεμμυδιού καταλαμβάνουν κατά μέσο όρο το 90% και 10% του βάρους του φυτού, αντίστοιχα.

Πίνακας 3.9. Μέγιστες διάμεσες τιμές φυτών διδακτορικής εργασίας

Λαχανικό	Μέγιστη διάμεση τιμή Cr (μg/kg ξηρού βάρους)	Μέγιστη διάμεση τιμή Cr (μg/kg νωπού βάρους)	Μέγιστη διάμεση τιμή Ni (μg/kg ξηρού βάρους)	Μέγιστη διάμεση τιμή Ni (μg/kg ξηρού βάρους)
Καρότα	301	36,1	1.007	120,9
Φρέσκα Κρεμμύδια	Φύλλα: 785 Κορμοί: 788 Σύνολο φυτού: 785	Φύλλα: 86,4 Κορμοί: 86,7 Σύνολο φυτού: 86,4	Φύλλα: 4.594 Κορμοί: 2.557 Σύνολο φυτού : 4.390	Φύλλα: 505,3 Κορμοί: 281,3 Σύνολο φυτού: 482,9
Πατάτες	538	107,6	1.192	238,4

Στον Πίνακα 3.10 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις Cr και Ni σε καρότα, κρεμμύδια και πατάτες Ελληνικών περιοχών που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

Οι μέγιστες διάμεσες τιμές Cr και Ni στα καρότα που καλλιεργήθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν μικρότερες από τις δημοσιευμένες, ενώ οι αντίστοιχες τιμές για τα κρεμμύδια και τις πατάτες της παρούσας εργασίας ήταν εντός του εύρους των δημοσιευμένων αλλά πιο κοντά στις χαμηλότερες δημοσιευμένες τιμές.

Αυτό, ίσως φαίνεται εκ πρώτης όψεως οξύμωρο, καθώς τα φυτά στην παρούσα διδακτορική εργασία ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II)

έως και 1.000 $\mu\text{g/L}$, ενώ τόσο υψηλές συγκεντρώσεις σε αρδευτικό νερό δεν έχουν αναφερθεί στον Ελληνικό χώρο.

Όπως, όμως, σημειώθηκε: (α) το χώμα καλλιέργειας στα πειράματα της παρούσας εργασίας δεν είχε ρυπανθεί ποτέ με Cr(VI) και Ni(II) και (β) η πρόσληψη Cr και Ni από τα φυτά δεν εξαρτάται μόνο από τη συγκέντρωση Cr και Ni στο νερό ποτίσματος αλλά και από τις συγκεντρώσεις Cr και Ni στο χώμα καλλιέργειας καθώς και από τις ιδιότητες του χώματος αυτού (pH , οργανική ύλη, υγρασία, αργιλικό ποσοστό²⁷⁻³⁹ κ.λπ.).

Πίνακας 3.10: Συγκέντρωση Cr και Ni σε καρότα, κρεμμύδια και πατάτες από διάφορες Ελληνικές περιοχές

	Καρότα				Κρεμμύδια				Πατάτες			
Βιβλιογραφία	Cr (μg/kg νωπού βάρους)	Ni (μg/kg νωπού βάρους)	Cr (μg/kg ξηρού βάρους)	Ni (μg/kg ξηρού βάρους)	Cr (μg/kg νωπού βάρους)	Ni (μg/kg νωπού βάρους)	Cr (μg/kg ξηρού βάρους)	Ni (μg/kg ξηρού βάρους)	Cr (μg/kg νωπού βάρους)	Ni (μg/kg νωπού βάρους)	Cr (μg/kg ξηρού βάρους)	Ni (μg/kg ξηρού βάρους)
Παρούσα εργασία	36,1	120,9	301	1.007	86,4	482,9	785	4.390	107,6	238,4	538	1.192
Θήβα (Kirkillis et al., 2012) ¹¹⁶	43±22	474±148			<10	422±147			63±93	800±961		
Αυλίδα (Megremi, 2010) ⁷			1.000	8.000							1.300	8.000
Ασωπός (Economou-Eliopoulos et al., 2011) ¹⁰							700	2.900				
Μεσσηνία (Economou-Eliopoulos et al., 2011) ¹⁰							2.000	4.300			1.300	3.300
Χαλκίδα (Economou-Eliopoulos et al., 2011) ¹⁰							1.500	5.550			5.400	5.400
Ύπατο (Θήβα) (Economou-Eliopoulos et al., 2012) ¹¹⁵			2.200	3.500								
Ύπατο- Ελαιώνας- Χαραϊδί (Θήβα) (Economou-Eliopoulos et al., 2012) ¹¹⁵											2.100 ^a	4.800 ^a
Χαραϊδί (Θήβα) (Economou-Eliopoulos et al., 2012) ¹¹⁵			2.400	5.200			3.800	9.600				
Οινόφυτα - Σχηματάρι - Αγ.Θωμάς - Οινόη - Θήβα (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2011) ¹⁷¹	124-512	215-415			531	478			367-688	39-811		
Ελλάδα (Bratakos et al., 2002) ¹²⁴	60±50				160±70				40±20			

^aμη ξεφλουδισμένες πατάτες

3.4 Ημερήσια διατροφική πρόσληψη Cr και Ni από καρότα, κρεμμύδια και πατάτες. Πιθανοί κίνδυνοι για τη δημόσια υγεία.

Προκειμένου να υπολογιστεί η έκθεση των καταναλωτών σε επικίνδυνα στοιχεία και ουσίες όπως και ο αντίστοιχος κίνδυνος για την ανθρώπινη υγεία, χρησιμοποιούνται οι δείκτες: Αποδεκτή Ημερήσια Πρόσληψη (Acceptable Daily Intake, ADI), Δόση Αναφοράς Τοξικότητας (Referense Dose, RfD), Προσωρινό Μέγιστο Ανεκτό Όριο Ημερήσιας Πρόσληψης (Provisional Maximum Tolerable Daily Intake, PMTDI), Συνιστώμενη Ημερήσια Πρόσληψη (Recommended Dietary Allowance, RDA), Εκτιμώμενη Ασφαλής και Επαρκής Ημερήσια Διατροφική Πρόσληψη (Estimated Safe and Adequate Daily Dietary Intake, ESADDI), Επίπεδο Μη Εμφανιζόμενης Δυσμενούς Επίδρασης (No Observable Adverse Effect Level, NOAEL) όπως αυτοί αναφέρονται στους διάφορους Διεθνείς Οργανισμούς, όπως Food and Agriculture Organisation/World Health Organisation (FAO/WHO), United States National Reserch Council (NRC), United States Environmental Protection Agency (US EPA) κ.λπ.

Στον Πίνακα 3.11 γίνεται υπολογισμός της ημερήσιας πρόσληψης ολικού Cr, και Ni μέσω της κατανάλωσης κρεμμυδιών, πατατών και καρότων, λαμβάνοντας υπόψιν τη μεγαλύτερη διάμεση τιμή που μετρήθηκε σε φυτά, μέσω ποτίσματος με διαλύματα βαρέων μετάλλων κατά την παρούσα εργασία.

Λήφθηκαν υπόψιν οι καταναλώσεις καρότων, κρεμμυδιών και πατατών στην Ελλάδα, μέσω του προγράμματος DAFNE (Data Food Network, 2004)¹⁷², το οποίο βασίζεται στη μέση κατανάλωση τροφίμων ανά άτομο και ημέρα στην Ευρώπη. Στο πρόγραμμα DAFNE η μέση κατανάλωση στην Ελλάδα καρότων, φρέσκων κρεμμυδιών και πατατών είναι 8,19, 3,25 και 123 g νωπού βάρους/άτομο/d.

Η μέγιστη υπολογιζόμενη συνολική πρόσληψη Ni και Cr από καρότα, κρεμμύδια και πατάτες που ποτίστηκαν με διαλύματα Ni και Cr, υπολογίστηκε 31,9 και 13,8 $\mu\text{g}/\text{άτομο}/\text{d}$, αντίστοιχα.

Για τους ανθρώπους θεωρείται, ως Εκτιμώμενη Κατάλληλη Δόση (Estimated Appropriate Intake, EAI) νικελίου, η ποσότητα 25-30 $\mu\text{g}/\text{άτομο}/\text{d}$ από το

German Society of Nutrition (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, DGE), to Austrian Society of Nutrition (Österreichische Gesellschaft für Ernährung, ÖGE), to Swiss Society of Nutrition Research (Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung, SGE), και to Swiss Organization of Nutrition (Schweizerische Vereinigung für Ernährung, SVE. Επίσης, για το νικέλιο έχει προταθεί, ως Προσωρινό Μέγιστο Ανεκτό Όριο Ημερήσιας Πρόσληψης PMTDI (Provisional Maximum Tolerable Daily Intake, PMTDI) - δηλαδή η μέγιστη ποσότητα ουσίας για την οποία θεωρείται ότι δεν υπάρχει συσσώρευση στον ανθρώπινο οργανισμό - από το US Food and Nutrition Board (FNB) και το US Institute of Medicine (IOM) τα 200 µg/d για παιδιά 1-3 ετών και τα 300 µg/d για παιδιά 4-8 ετών¹⁷³.

Στον Καναδά, η Αποδεκτή Ημερήσια Πρόσληψη (ADI) - δηλαδή η μέγιστη ποσότητα μίας ουσίας που μπορεί να λαμβάνει ένας άνθρωπος εφ' όρου ζωής χωρίς να διατρέχει κανένα εκτιμήσιμο κίνδυνο η υγεία του - για το Ni θεωρείται το εύρος 4,4-5,7 µg/kg και 22 µg/kg βάρους σώματος για ηλικίες <12 ετών και >12 ετών, αντίστοιχα¹⁷⁴. Συνεπώς, ένα βρέφος βάρους π.χ. 7 κιλών μπορεί να λαμβάνει δόση 30,8 µg/d, ενώ ένας ενήλικας βάρους 70 kg μπορεί να λαμβάνει δόση 1.540 µg/d.

Στις ΗΠΑ, η Δόση Αναφοράς Τοξικότητας (RfD) (ισοδύναμο του ADI) για το Ni θεωρείται το 20 µg/kg βάρους σώματος για ενήλικες¹⁷⁵, ή 1.400 µg/d για ένα άτομο 70 kg.

Η Συνιστώμενη Ημερήσια Πρόσληψη (RDA) για το Cr - δηλαδή η ποσότητα στοιχείου που θεωρείται ικανή να καλύψει τις γνωστές διατροφικές ανάγκες ενός ατόμου χωρίς να παρατηρηθεί πρόβλημα υγείας από έλλειψη του στοιχείου - για ένα άτομο βάρους 70 kg, είναι 50-200 Cr µg/d¹⁷⁶⁻¹⁷⁸ ενώ το Επίπεδο Μη Εμφανιζόμενης Δυσμενούς Επίδρασης (No Observable Adverse Effect Level, NOAEL) είναι 1,5 mg/kg βάρους σώματος ατόμου/d¹⁷⁹.

Η Committee on the Medical Aspects of Food and Nutrition Policy (COMA) του Ηνωμένου Βασιλείου έχει θέσει ως RDA για το τρισθενές χρώμιο τιμή >25 µg/d για ενήλικες και μεταξύ 0,1 και 1 µg/kg/d για παιδιά και εφήβους¹⁸⁰. Το COMA, επίσης προτείνει ως NOAEL 1.000 – 2.000 mg/d τρισθενούς χρωμίου για ένα άτομο βάρους 70 kg.

Η Εκτιμώμενη Ασφαλής και Επαρκής Ημερήσια Διατροφική Πρόσληψη (ESADDI) για το τρισθενές χρώμιο, σύμφωνα με το US National Research Council (NRC) είναι 50-200 $\mu\text{g}/\text{d}$ για ενήλικες και 10-40 $\mu\text{g}/\text{d}$ για βρέφη 0 – 0,5 ετών.

Παράλληλα, το ισχύον σύμφωνα με το US EPA Επίπεδο Μη Εμφανιζόμενης Δυσμενούς Επίδρασης (No Observable Adverse Effect Level, NOAEL) για κατάποση Cr(VI) είναι 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ βάρους σώματος ατόμου/ d ¹⁸¹. Από το US EPA έχει τεθεί από το Σεπτέμβριο του 2010, για διαβούλευση, τιμή στόχος για το NOAEL εξασθενούς χρωμίου ίση με 0,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ βάρους σώματος ατόμου/ d ¹⁸². Το όριο αυτό δεν ισχύει σήμερα και η απόφαση για το νέο όριο θα ληφθεί εντός του 2013, σύμφωνα με την ιστοσελίδα του US EPA.

3.4.1 Νικέλιο

Υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις σήμερα ότι μπορεί να προκληθεί δερματίτιδα από την κατάποση νικελίου σε άτομα ευαίσθητα στο Ni¹⁷³. Η κατανάλωση λαχανικών αποτελεί το κύριο μονοπάτι έκθεσης σε νικέλιο στους ανθρώπους που δεν εκτίθενται επαγγελματικά σε πηγές νικελίου¹⁸³.

Ένα βρέφος 7 κιλών καταναλώνοντας μία σούπα 500 mL με ποσότητα πατάτας και καρότου ίση με το μέσο όρο που αναφέρεται στον Πίνακα 3.11 έχει ουσιαστικά προσλάβει 30,3 μg Ni/ d . Αν το νερό στο οποίο παρασκευάστηκε η σούπα έχει συγκέντρωση Ni ίση με το εθνικό και κοινοτικό όριο των 20 $\mu\text{g}/\text{L}$ νερού (βλ. Παράρτημα 1, άρθρο 18, της Κοινής Υπουργικής Απόφασης Υ2/2600/2001¹⁸⁴) τότε θα υπάρχει επιπλέον πρόσληψη 10 μg Ni και η συνολική πρόσληψη θα είναι 40,3 μg Ni/ d , δηλαδή κατά 40,3-30,8=9,5 $\mu\text{g}/\text{d}$ μεγαλύτερη από την Ανεκτή Ημερήσια Δόση (ADI) που ισχύει στον Καναδά. Στην παραπάνω υπέρβαση δεν έχει ληφθεί υπόψη τυχόν ποσότητα νικελίου που μπορεί να ληφθεί από άλλα τρόφιμα όπως κρέας, ψάρι, γάλα κ.λπ. ή ακόμα και από απομάκρυνση ίχνους νικελίου από επινικελωμένα μαγειρικά σκεύη και κουτάλια.

Κατά συνέπεια, η κατανάλωση μίας ημερήσια δόσης λαχανικών-βολβών με αυξημένες συγκεντρώσεις νικελίου, από βρέφη, μπορεί να οδηγήσει σε υπέρβαση του ADI κατά 9,5/30,8~31%. Αν ληφθεί υπόψη και η πρόσληψη

νικελίου από άλλα τρόφιμα, επινικελωμένα αντικείμενα κ.λπ. τότε η υπέρβαση είναι μεγαλύτερη και εγείρεται προβληματισμός για τη θέση της υγείας των βρεφών σε κίνδυνο. Ο κίνδυνος που τυχόν δημιουργείται από τη συνολική έκθεση σε τρόφιμα και άλλες πηγές νικελίου για τα βρέφη και τις υπόλοιπες ευπαθείς ομάδες του πληθυσμού, θα πρέπει να αξιολογηθεί.

Για μη ευπαθείς ομάδες πληθυσμού δεν τίθεται θέμα υπέρβασης των επιτρεπόμενων/ανεκτών ορίων ως προς των νικέλιο λόγω κατανάλωσης βολβών.

3.4.2 Ολικό χρώμιο

Δεν τίθεται θέμα υπέρβασης των επιτρεπόμενων/ανεκτών ορίων ως προς το ολικό ή το τρισθενές χρώμιο από τα λαχανικά που καλλιεργήθηκαν στην παρούσα εργασία.

Σημειώνεται, όμως, ότι άλλα χαρακτηριστικά χρώματος από αυτά του χρώματος που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία ή και μακροχρόνια χρήση ρυπασμένου νερού με Cr(VI) στο ίδιο χρώμα, θα μπορούσαν, ενδεχομένως, να οδηγήσουν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις χρωμίου στα φυτά οι οποίες να ήταν μεγαλύτερες από 25 μg/d (RDA του UK COMA).

Η χαμηλή τιμή ESADDI 10-40 μg/d του US NRC που αφορά συνολική δόση τρισθενούς χρωμίου για βρέφη 0 – 0,5 ετών δεν μπορεί να συσχετιστεί με καρότα, κρεμμύδια και πατάτες καθώς τα λαχανικά αυτά καταναλώνονται μετά τον έκτο μήνα ζωής.

Περαιτέρω μελέτη απαιτείται για να διερευνηθεί αν τα λαχανικά-βολβοί με υψηλές συγκεντρώσεις Cr μπορούν, σε συνδυασμό με την πρόσληψη από άλλες πηγές, να δημιουργήσουν υπερβάσεις στις συνιστώμενες δόσεις του στοιχείου για τις ευπαθείς ομάδες του πληθυσμού όπως π.χ. τα βρέφη και οι έγκυες γυναίκες.

Πίνακας 3.11: Πρόσληψη ολικού Cr, και Ni από καρότα, κρεμμύδια και πατάτες. Σύγκριση με όρια διεθνών και εθνικών οργανισμών.

			Ni		Cr	
Λαχανικό	Μέση ημερήσια πρόσληψη (g νωπού βάρους/άτομο/d) ^α	Μέση ημερήσια πρόσληψη (g ξηρού βάρους/άτομο/d) ^β	Μέγιστη διάμεση τιμή (μg/g ξηρού βάρους)	Πρόσληψη (μg/d)	Μέγιστη διάμεση τιμή (μg/g ξηρού βάρους)	Πρόσληψη (μg/d)
Καρότα	8,19	0,98	1,007	0,99	0,301	0,29
Φρέσκα Κρεμμύδια	3,25	0,36	Φύλλα: 4,594 Κορμοί: 2,557	1,58 ^γ	Φύλλα: 0,785 Κορμοί: 0,788	0,28
Πατάτες	123	24,6	1,192	29,3	0,538	13,2
ΣΥΝΟΛΟ				31,9		13,8
EAI				25-30 ^δ		
RfD				1.400 ^ε		
PMTDI				200-300 ^ς		
RDA						50-200 ^η 25 ^θ
NOAEL						105.000 ^ε 1.000.000 - 2.000.000 ^θ
ESADDI						10-40 ^ι

^αΣτοιχεία από το Data Food Network (DAFNE), 2004

^βτο ποσοστό υγρασίας σε καρότα, κρεμμύδια και πατάτες είναι 88%, 89% και 80%, αντίστοιχα¹⁸⁵

^γΤα φύλλα και οι κορμοί αποτελούν το 90% και το 10%, αντίστοιχα, του βάρους του κρεμμυδιού, σύμφωνα με τις μετρήσεις του γράφοντος την παρούσα εργασία

^δDGE, OGE, SGE, SVE (συνολική δόση για ενήλικα βάρους 70 kg)

^εUS EPA (συνολική δόση για ενήλικα βάρους 70 kg)

^ςFNB, IOM (συνολική δόση για παιδιά ηλικίας 1-3 ετών και 4-8 ετών)

^ηFAO/WHO, NRC (συνολική δόση τρισθενούς χρωμίου για ενήλικα βάρους 70 kg)

^θUK COMA (συνολική δόση τρισθενούς χρωμίου για ενήλικα βάρους 70 kg)

^ιNRC (συνολική δόση τρισθενούς χρωμίου για βρέφη 0 – 0,5 ετών)

3.5 Συμπεράσματα

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας, οδηγεί στα παρακάτω συμπεράσματα τα οποία θα μπορούσαν να έχουν πρακτική αξία, όσον αφορά την καλλιέργεια βολβών με νερό ρυπασμένο με εξασθενές χρώμιο και νικέλιο: το νικέλιο και το χρώμιο (ως ολικό χρώμιο) του νερού άρδευσης μπορούν να απορροφηθούν από τα κρεμμύδια (κορμούς και φύλλα), το χρώμιο (ως ολικό χρώμιο) μπορεί να απορροφηθεί και από τις πατάτες, ενώ επίσης, βρέθηκαν ισχυρές ενδείξεις ότι και το νικέλιο μπορεί να απορροφηθεί από τις πατάτες.

Έτσι, ειδικότερα, κρεμμύδια και πατάτες που καλλιεργούνται σε χώμα το οποίο δεν είχε ποτέ ρυπανθεί ανθρωπογενώς στο παρελθόν με νικέλιο και εξασθενές χρώμιο, αποδείχθηκε ότι μπορεί να υποστούν διασταυρούμενη επιμόλυνση (cross-contamination) από το νικέλιο και το χρώμιο του νερού άρδευσης.

Η ποσότητα Cr που προσλήφθηκε από τις πατάτες βρέθηκε, μάλιστα, ότι, για κάποιες συγκεντρώσεις, συσχετίστηκε θετικά με τη συγκέντρωση του Cr και του Ni στο νερό ποτίσματος.

Βρέθηκε, επίσης, ότι οι δραστηρότητες καταλάσης και υπεροξειδάσης στις πατάτες και τα κρεμμύδια που ποτίστηκαν με συγκεντρώσεις έως και 1.000 $\mu\text{g/L}$ δεν συσχετίστηκαν με τις συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος.

Ίσως αυτό να οφείλεται και στις σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις του νερού ποτίσματος.

Έτσι, στην παρούσα διδακτορική εργασία, δεν βρέθηκαν αποδείξεις ότι το πότισμα με νερό που περιέχει συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) έως και 1.000 $\mu\text{g/L}$, σε χώμα με τις συγκεκριμένες ιδιότητες, μπορεί να οδηγήσει σε δραστηρότητες καταλάσης και υπεροξειδάσης, στα κρεμμύδια και στις πατάτες σημαντικά διαφορετικές σε σχέση με το πότισμα με καθαρό νερό. Αν συνέβαινε κάτι τέτοιο, θα μπορούσε να αποδοθεί στην αύξηση της συγκέντρωσης ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης Cr και Ni στα φυτά. Η συγκέντρωση Cr και η δραστηρότητα

καταλάσης, όμως, στο σύνολο των βολβών πατάτας, βρέθηκε ότι παρουσιάζουν θετική συσχέτιση. Επίσης, η συγκέντρωση Cr στις πατάτες βρέθηκε ότι συσχετίζεται θετικά με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Αν τα παραπάνω ευρήματα συνδυαστούν, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι, υπό άλλες συνθήκες (π.χ. υψηλότερες συγκεντρώσεις Cr στο νερό ποτίσματος ή/και χρόνια άρδευση ενός εδάφους η οποία αυξάνει το βιοδιαθέσιμο-κινητικό ποσοστό Cr ή/και διαφορετικά χαρακτηριστικά χώματος) η άρδευση πατατών με νερό που περιέχει Cr(VI) θα μπορούσε να οδηγήσει στην αύξηση της δραστηριότητας καταλάσης, έτσι ώστε να μπορέσει το φυτό να αντιμετωπίσει το σχηματισμό H_2O_2 στο εσωτερικό του.

Η συγκέντρωση Ni, στα φύλλα κρεμμυδιών, βρέθηκε, επίσης, ότι συσχετίζεται θετικά με τη δραστηριότητα υπεροξειδάσης. Παράλληλα, στο πρώτο πείραμα της παρούσας διατριβής βρέθηκε ότι τα επίπεδα Ni στους κορμούς και τα φύλλα κρεμμυδιών που ποτίστηκαν με κάποιες συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni ήταν μεγαλύτερα από αυτά των φυτών - μαρτύρων. Τα αποτελέσματα αυτά, αν συνδυαστούν, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι - όπως αναφέρθηκε και για τις πατάτες - υπό άλλες συνθήκες (νερό άρδευσης ή/και χαρακτηριστικά εδάφους) η άρδευση κρεμμυδιών με νερό ρυπασμένο με Ni θα μπορούσε να οδηγήσει σε αυξημένη δραστηριότητα υπεροξειδάσης.

Περαιτέρω έρευνα απαιτείται ώστε να επιβεβαιωθεί ότι η αύξηση της δραστηριότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης στις πατάτες και στα κρεμμύδια, λόγω πρόσληψης Cr και Ni, αντίστοιχα, συνοδεύεται και από αντίστοιχη αύξηση των ενεργών μορφών οξυγόνου, γεγονός που θα οδηγούσε σε μείωση της διατροφικής αξίας των βολβών.

Τα δεδομένα της παρούσας εργασίας αποτελούν τα πρώτα αποτελέσματα ενός πειράματος, σε θερμοκήπιο, στο οποίο επιχειρήθηκε να προσομοιωθούν οι συνθήκες άρδευσης βολβών που επικρατούν στην ευρύτερη περιοχή Ασωπού Βοιωτίας και Μεσσαπίας Εύβοιας, δηλαδή σε δύο περιοχές οι οποίες αποτελούν τις μεγαλύτερες παραγωγούς βολβών στη χώρα.

Οι περιοχές αυτές έχουν υδροφόρους ορίζοντες με υψηλά επίπεδα Cr(VI) και Ni(II).

Ο στόχος της παρούσας ερευνητικής εργασίας ήταν, μεταξύ άλλων, να απαντηθεί το ερώτημα αν τα βαρέα μέταλλα από τις δύο παραπάνω περιοχές θα μπορούσαν να προσροφηθούν από τρόφιμα-βολβούς και σε ποιο βαθμό.

Επίσης, επιχειρήθηκε να απαντηθεί κατά πόσον η τυχόν πρόσληψη των παραπάνω βαρέων μετάλλων δημιουργεί οξειδωτικό στρες στα φυτά.

Αν λάβει κανείς υπόψη τα χαρακτηριστικά του υδροφόρου ορίζοντα του Ασωπού και της Μεσσαπίας [Cr(VI) έως και 200 $\mu\text{g/L}$ και Ni(II) έως και 300 $\mu\text{g/L}$] και το γεγονός ότι οι παραπάνω περιοχές αρδεύονται μακροχρόνια με τις συγκεντρώσεις αυτές, τότε είναι φανερό ότι θα μπορούσε να υπάρξει διασταυρούμενη επιμόλυνση στα κρεμμύδια και πατάτες της περιοχής, και οξειδωτικό στρες στα φυτά αυτά, υπό την προϋπόθεση ότι κάτι τέτοιο θα ευνοείτο και από τα χαρακτηριστικά του εδάφους. Για τα καρότα δεν προέκυψαν στοιχεία ότι μπορούν να ρυπανθούν με Cr και Ni σε συγκεντρώσεις έως και 250 $\mu\text{g/L}$ Cr και Ni και τις συγκεκριμένες ιδιότητες εδάφους.

Τα παραπάνω αποτελέσματα θα πρέπει να ληφθούν υπόψιν από τους κρατικούς φορείς ελέγχου τροφίμων έτσι ώστε να αξιολογηθεί η σχέση μεταξύ των επιπέδων Cr(VI) και Ni(II) στο αρδευτικό νερό και στα φυτά βολβούς που παράγονται στον Ασωπό και τη Μεσσαπία.

Έτσι, λαμβάνοντας υπόψη και την αρχή της προφύλαξης, η πολιτεία θα πρέπει να αξιολογήσει τον ενδεχόμενο κίνδυνο, που συνεπάγεται για τις ευπαθείς ομάδες του πληθυσμού, η μακροχρόνια κατανάλωση πατατών και κρεμμυδιών με αυξημένες συγκεντρώσεις των παραπάνω βαρέων μετάλλων και να προμηθεύσει τους αγρότες που χρησιμοποιούν ρυπασμένο νερό με νέο, απαλλαγμένο από τα μέταλλα αυτά.

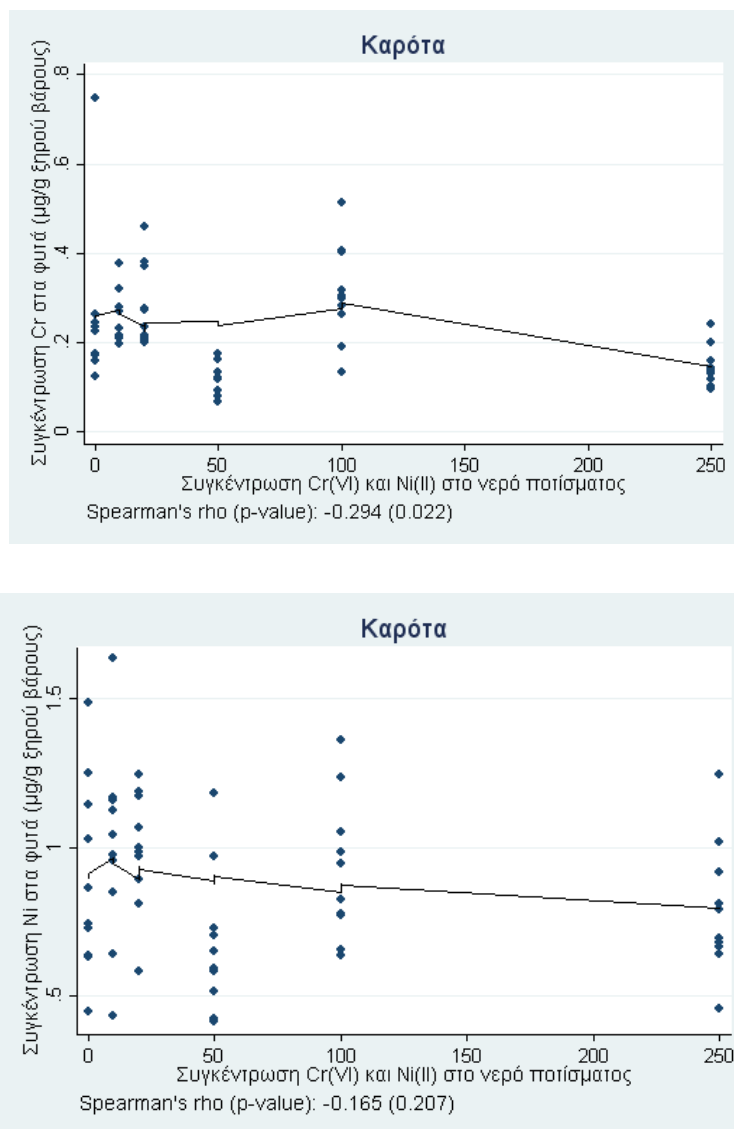
Η επιβάρυνση της εθνικής οικονομίας, για λόγους προφύλαξης, με έργα μεταφοράς καθαρού νερού προς περιοχές που το έχουν ανάγκη, θα πρέπει να θεωρείται από την πολιτεία, αλλά και τους πολίτες, ως αναγκαία και δεδομένη.

Η ζωή έστω και ενός παιδιού, που μπορεί να ασθενήσει, καταναλώνοντας επί μακρόν, μη αναγκαίες ποσότητες χρωμίου και νικελίου, αξίζει περισσότερο από την ευημερία όλων μας.

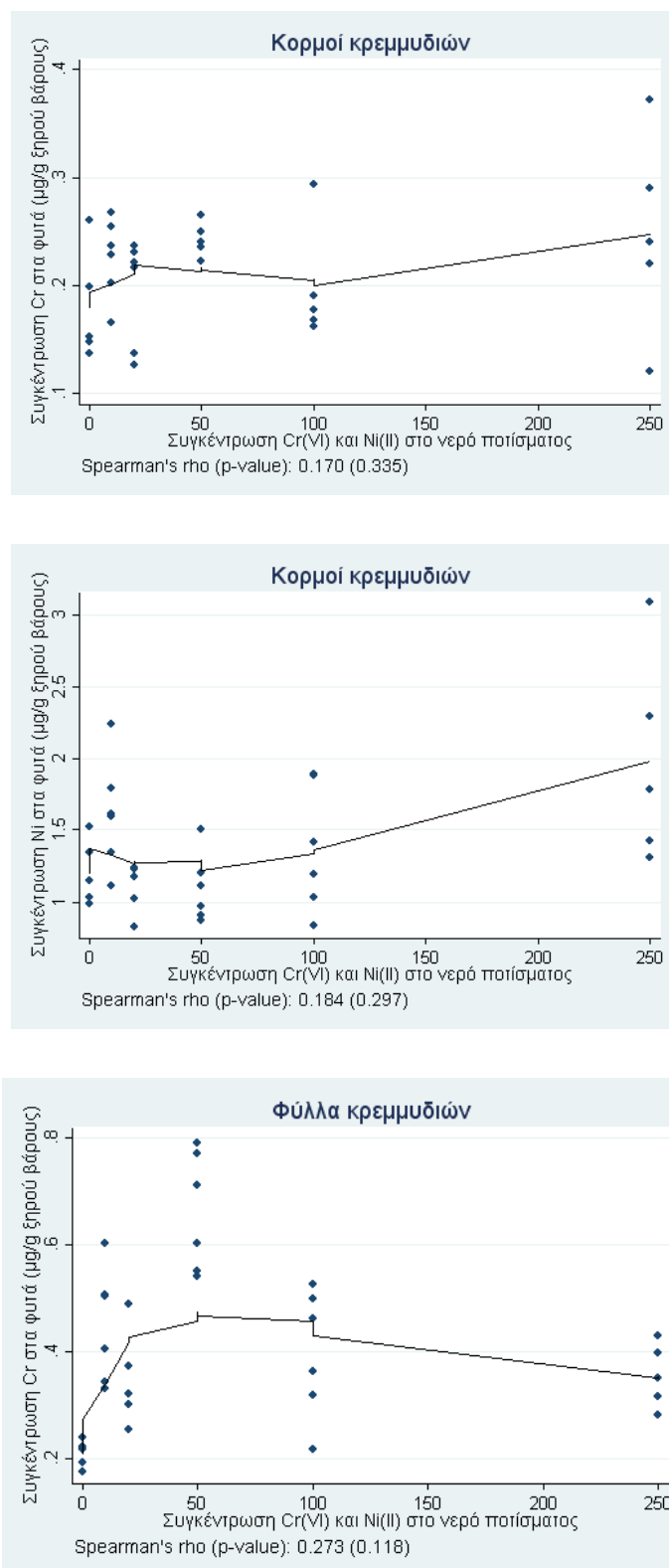
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΑ ΣΤΙΚΤΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΙΝΑΚΑΣ

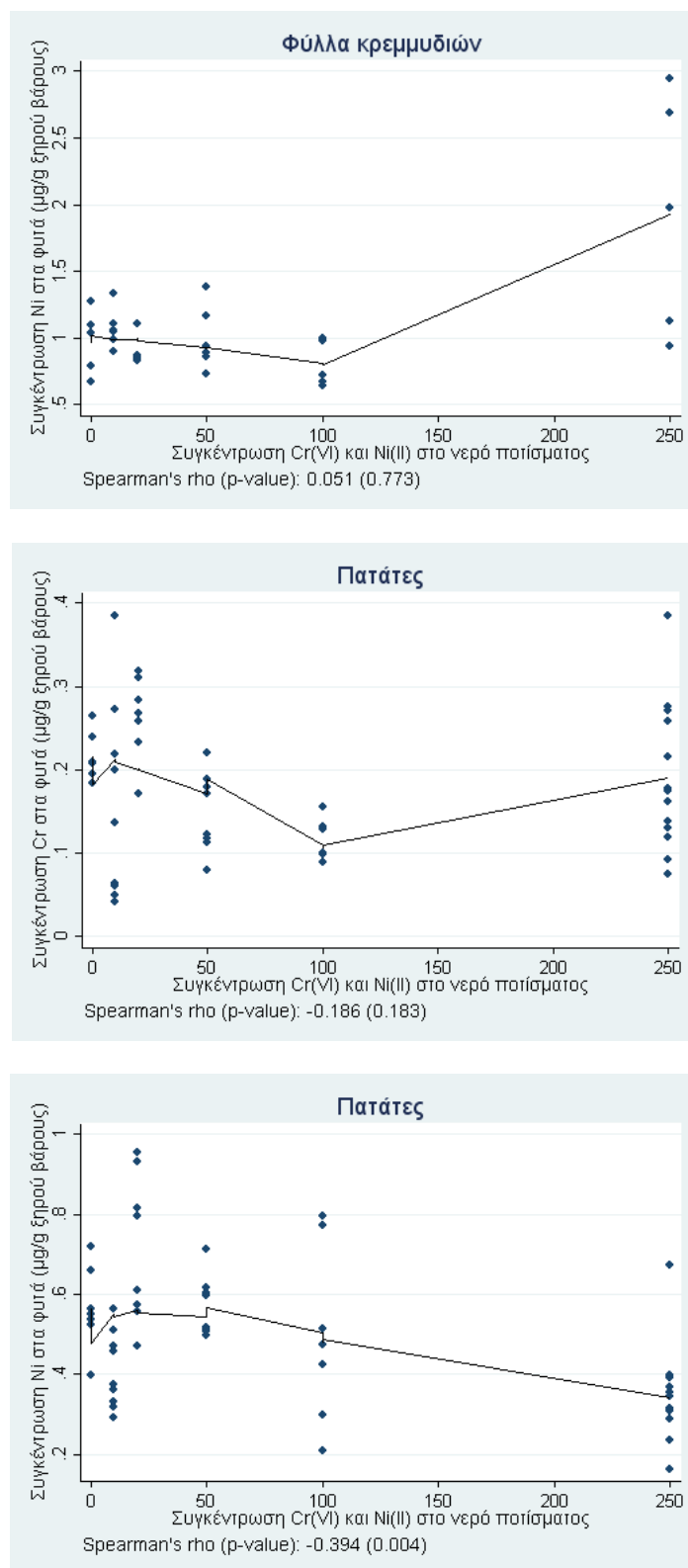
Α. Στικτογράμματα πρώτης καλλιεργητικής περιόδου



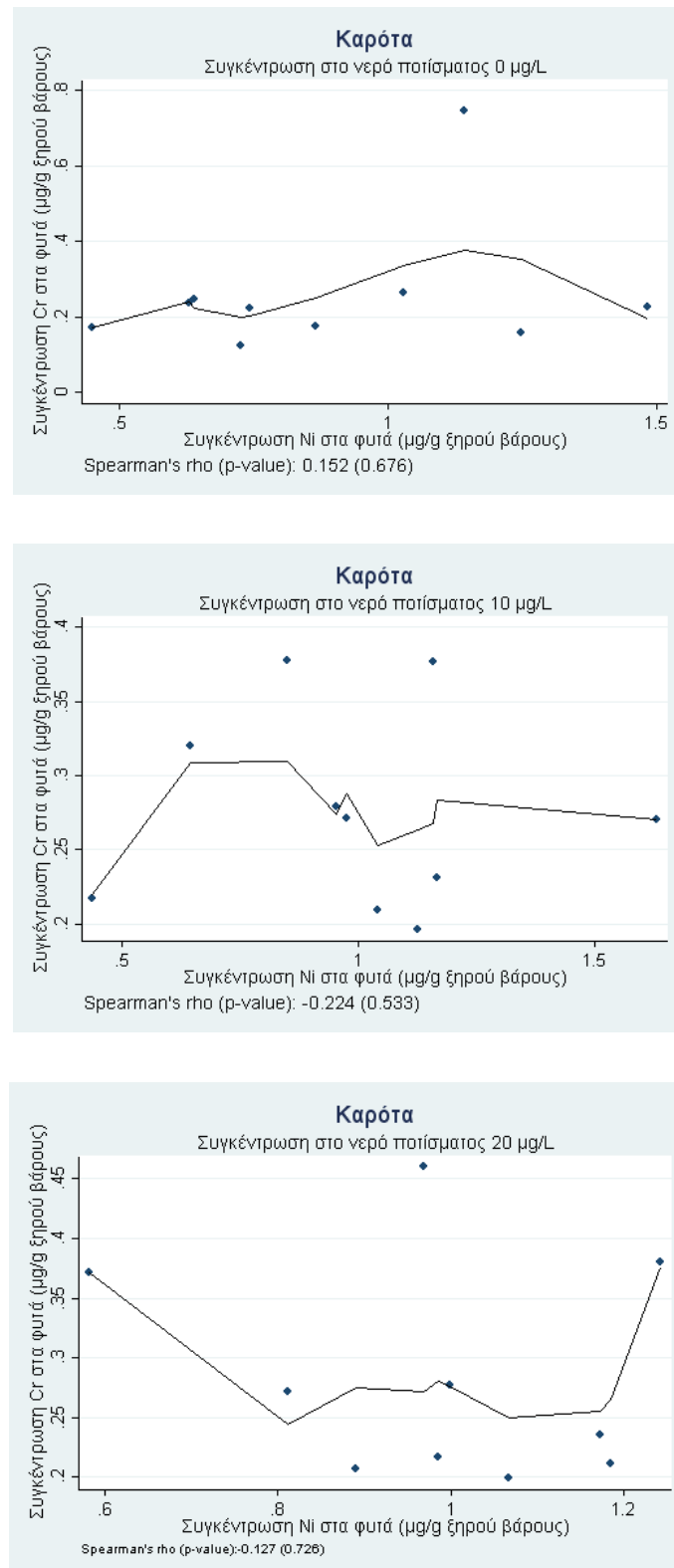
Σχήμα 4.1: Συγκεντρώσεις Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες σε συνάρτηση με τις συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



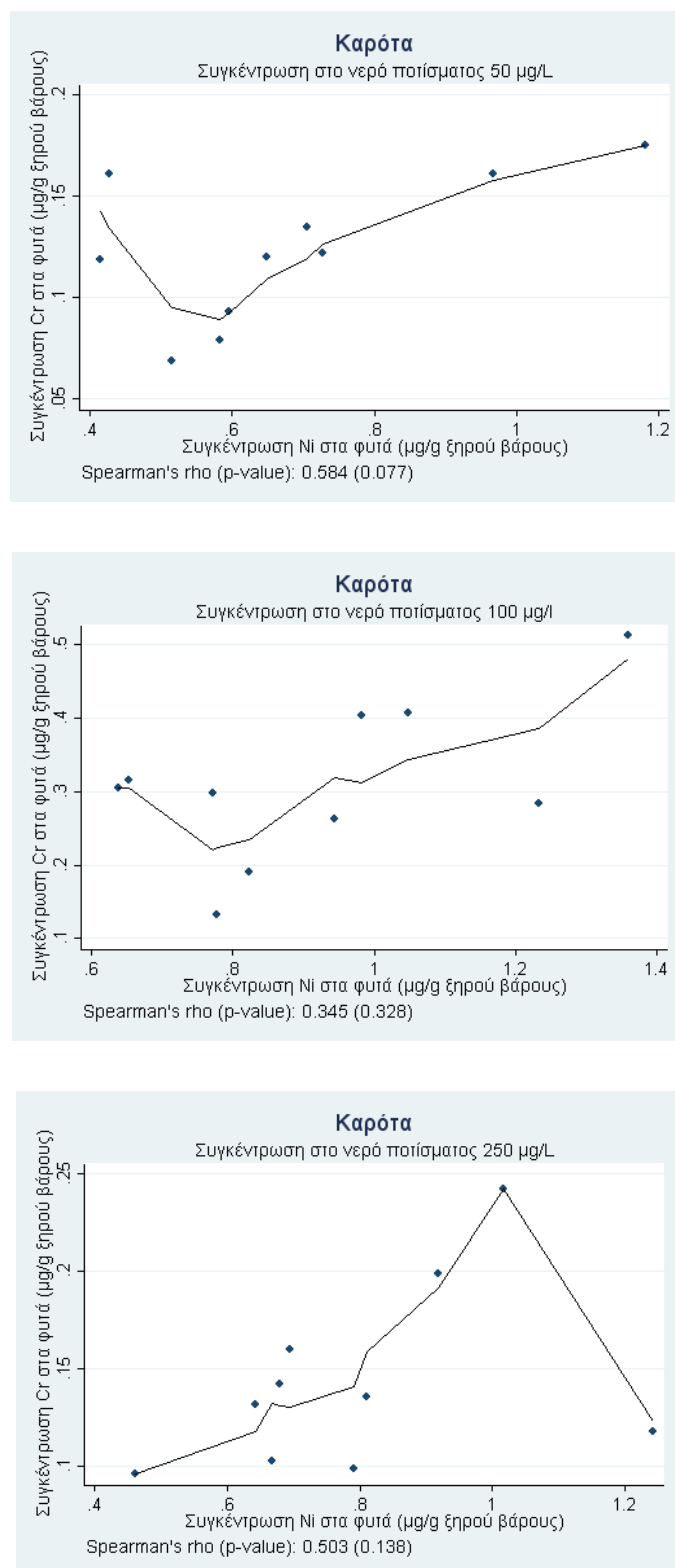
Σχήμα 4.1 (συνέχεια): Συγκεντρώσεις Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες σε συνάρτηση με τις συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



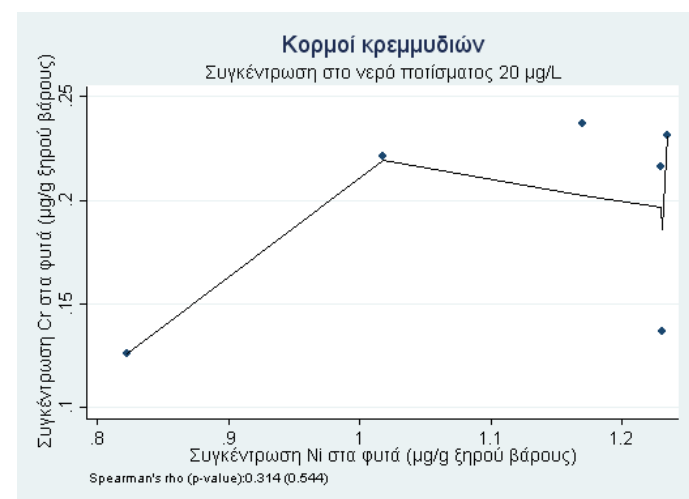
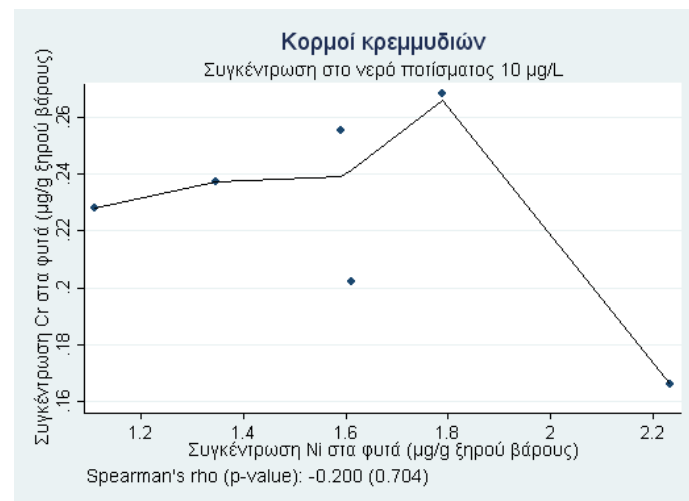
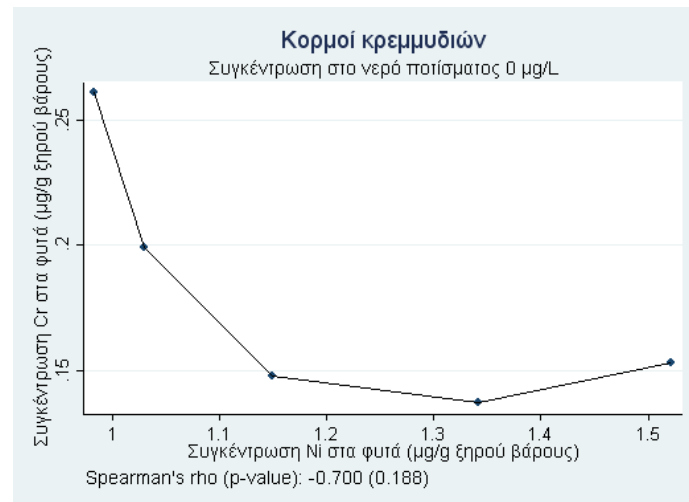
Σχήμα 4.1 (συνέχεια): Συγκεντρώσεις Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες σε συνάρτηση με τις συγκεντρώσεις Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess)



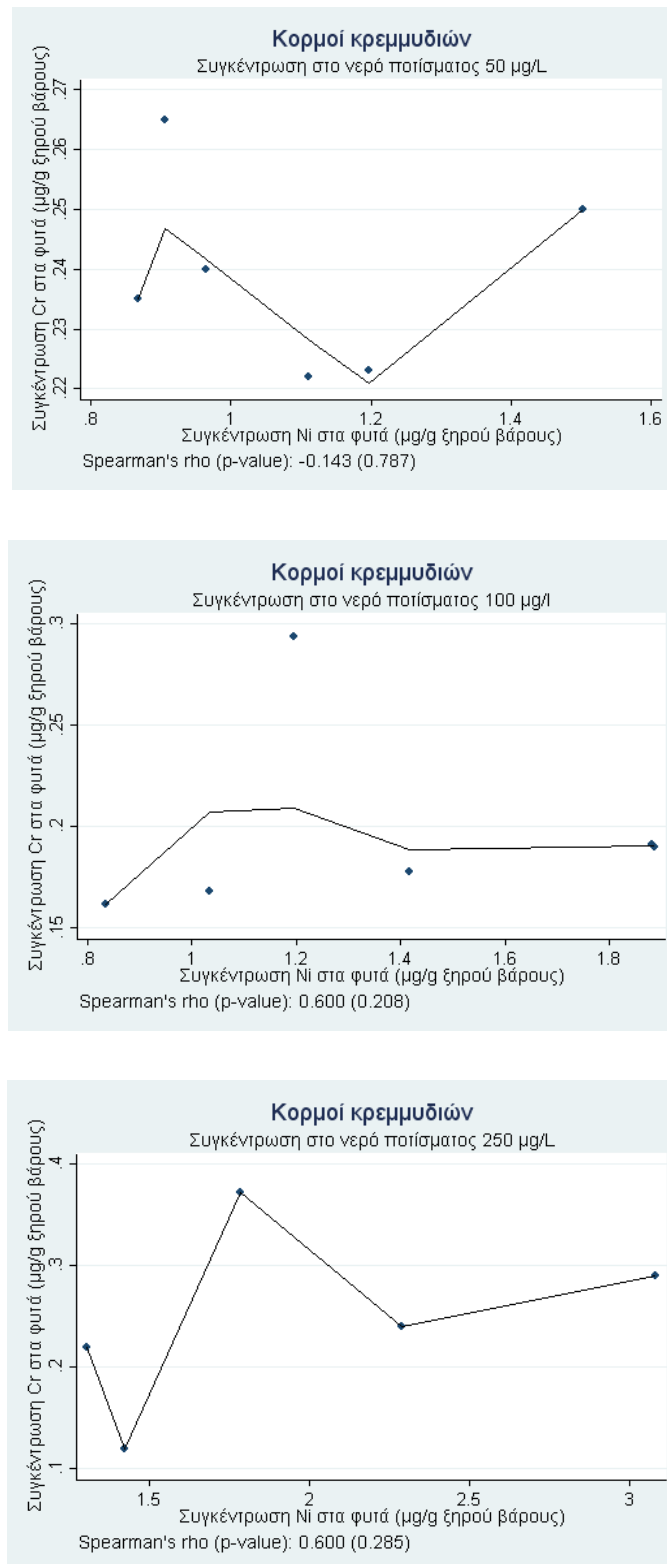
Σχήμα 4.2: Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες, σε επί μέρους κατηγορίες φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



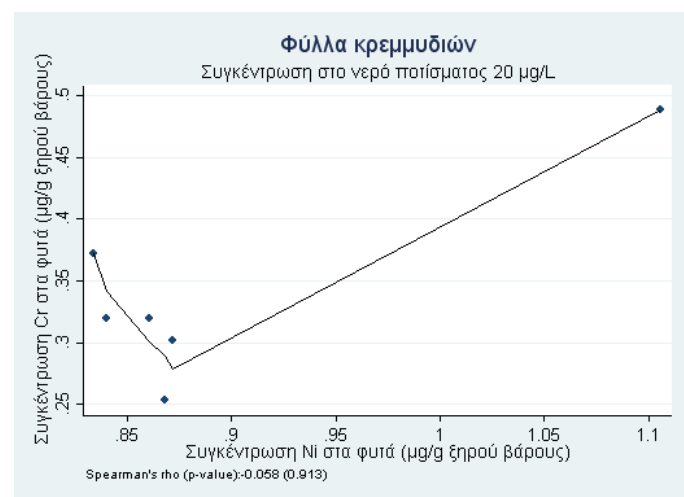
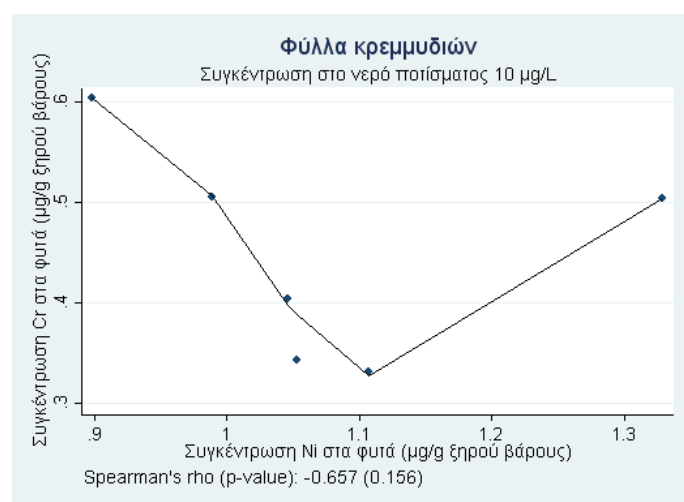
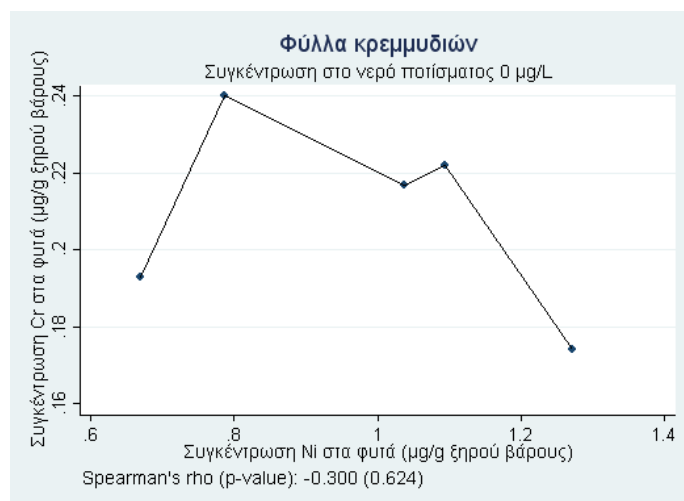
Σχήμα 4.2 (συνέχεια): Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες, σε επί μέρους κατηγορίες φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



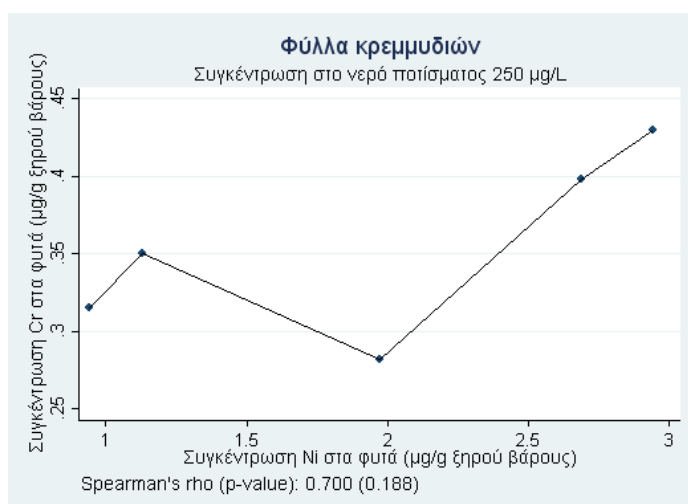
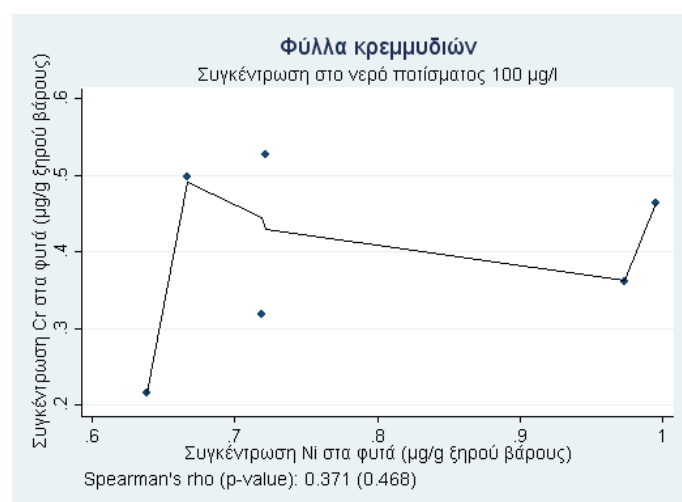
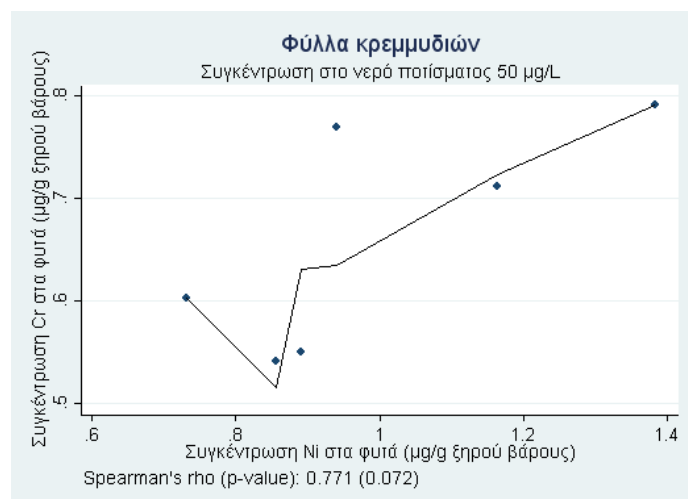
Σχήμα 4.2 (συνέχεια): Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες, σε επί μέρους κατηγορίες φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



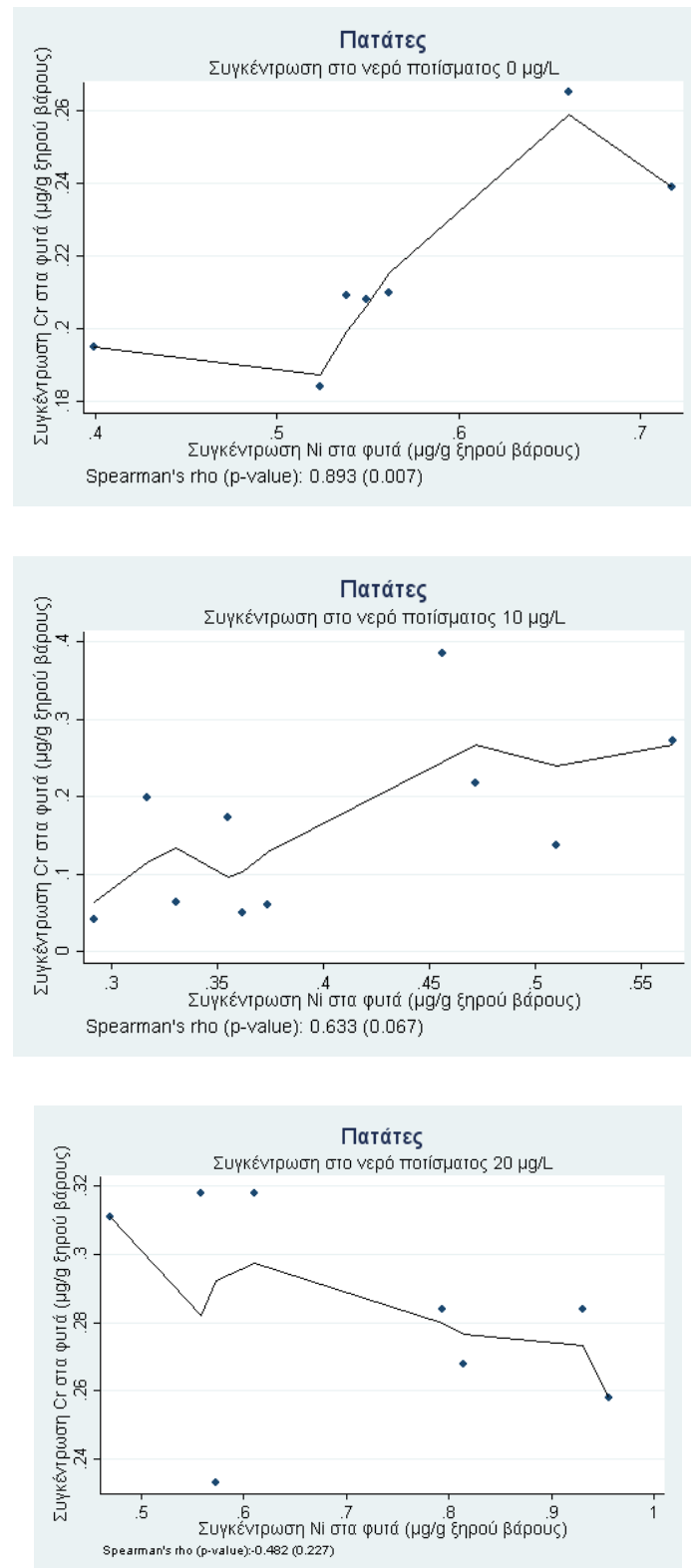
Σχήμα 4.2 (συνέχεια): Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες, σε επί μέρους κατηγορίες φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



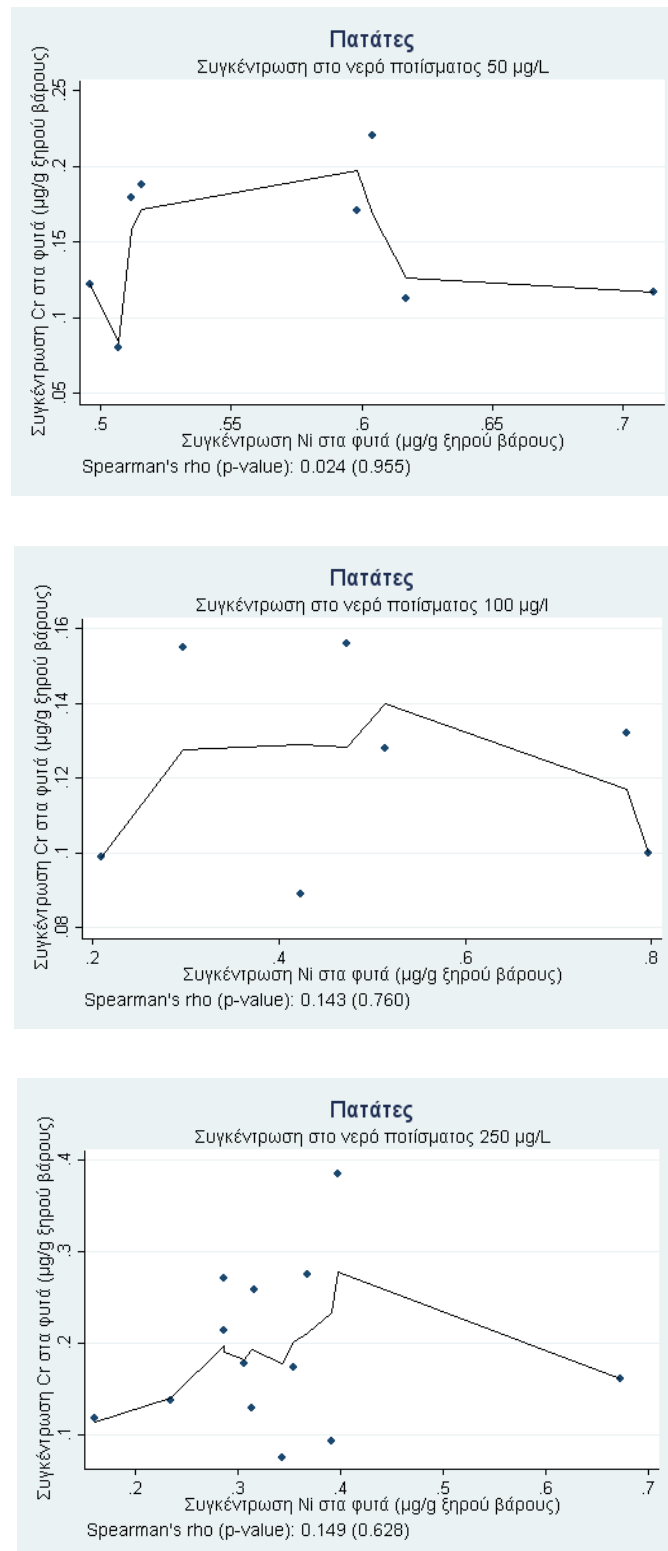
Σχήμα 4.2 (συνέχεια): Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες, σε επί μέρους κατηγορίες φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



Σχήμα 4.2 (συνέχεια): Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες, σε επί μέρους κατηγορίες φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



Σχήμα 4.2 (συνέχεια): Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες, σε επί μέρους κατηγορίες φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



Σχήμα 4.2 (συνέχεια): Συσχέτιση Cr και Ni σε καρότα, κορμούς κρεμμυδιών, φύλλα κρεμμυδιών και πατάτες, σε επί μέρους κατηγορίες φυτών. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).

Β. Πίνακας και στικτογράμματα δεύτερης καλλιεργητικής περιόδου

Πίνακας 4.1: Συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων Cr, Ni, δραστηριότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ανάμεσα στα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε επί μέρους γλάστρες

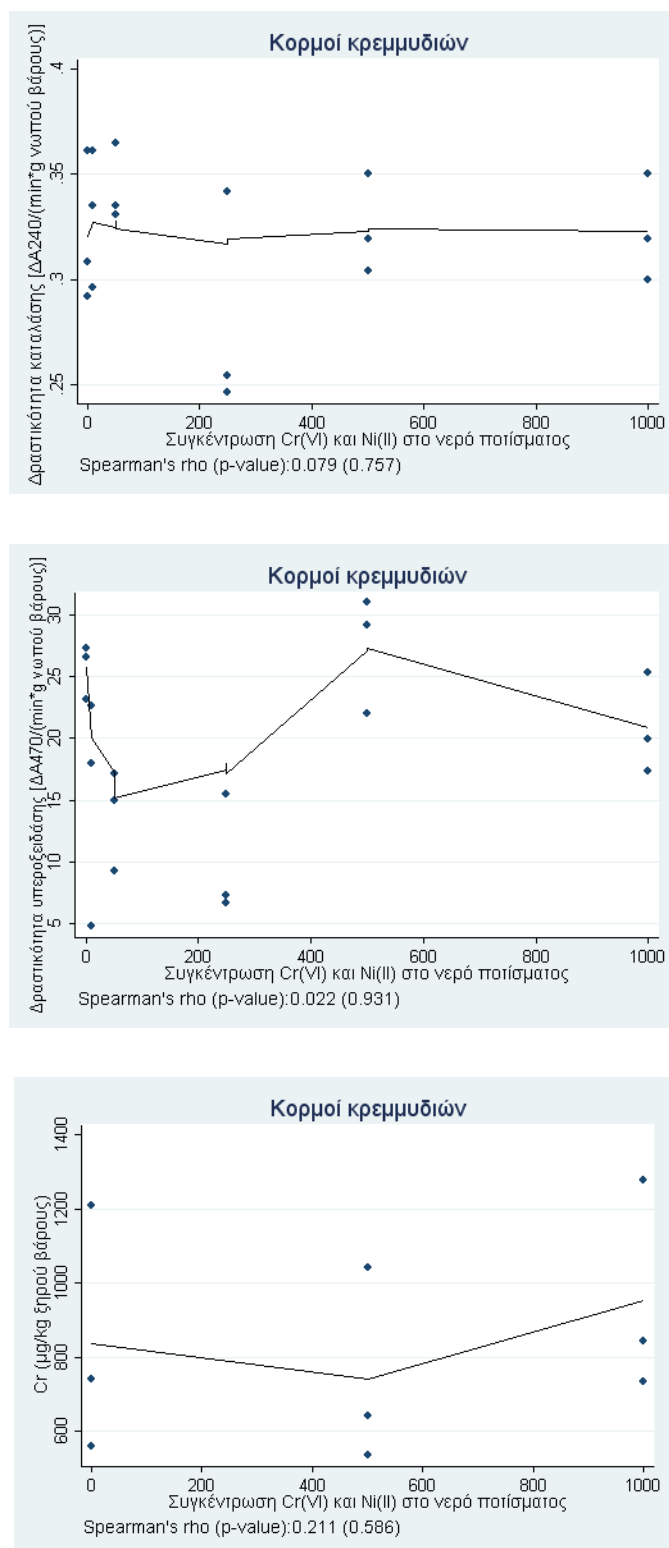
0 µg/L						
ΚΟΡΜΟΙ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ ^α						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	-1,000*	<0,001	0,500	0,667	0,500	0,667
Ni	1,000		-0,500	0,667	-0,500	0,667
Καταλάση	-0,500	0,667	1,000		1,000*	<0,001
ΦΥΛΛΑ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ ^α						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	-0,500	0,667	0,500	0,667	-1,000*	<0,001
Ni	1,000		-1,000*	<0,001	0,500	0,667
Καταλάση	-1,000*	<0,001	1,000		-0,500	0,667
ΠΑΤΑΤΕΣ						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	0,2 ^β	0,704	-0,493 ^β	0,321	-0,265 ^β	0,612
Ni	1,000		0,638 ^β	0,173	0,088 ^β	0,868
Καταλάση	0,638 ^β	0,173	1,000		0,595 ^γ	0,159
10 µg/L						
	ΚΟΡΜΟΙ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ ^α		ΦΥΛΛΑ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ ^α		ΠΑΤΑΤΕΣ ^δ	
	Υπεροξειδάση		Υπεροξειδάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Καταλάση	0,500	0,667	0,500	0,667	0,1	0,873
50 µg/L						
	ΚΟΡΜΟΙ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ ^α		ΦΥΛΛΑ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ ^α		ΠΑΤΑΤΕΣ ^δ	
	Υπεροξειδάση		Υπεροξειδάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	P	Spearman's rho	p
Καταλάση	-0,500	0,667	-1,000*	<0,001	0,1	0,873
250 µg/L						
	ΚΟΡΜΟΙ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ ^α		ΦΥΛΛΑ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ ^α		ΠΑΤΑΤΕΣ ^ε	
	Υπεροξειδάση		Υπεροξειδάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	P	Spearman's rho	p
Καταλάση	0,500	0,667	0,500	0,667	0,515	0,192

500 µg/L						
ΚΟΡΜΟΙ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ^α						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	0,500	0,667	0,500	0,667	-0,500	0,667
Ni	1,000		1,000*	<0,001	-1,000	<0,001
Καταλάση	1,000*	<0,001	1,000		-1,000*	<0,001
ΦΥΛΛΑ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ^α						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	1,000*	<0,001	0,500	0,667	0,500	0,667
Ni	1,000		0,500	0,667	0,500	0,667
Καταλάση	0,500	0,667	1,000		1,000*	<0,001
ΠΑΤΑΤΕΣ						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	1,000* ^α	<0,001	0,600 ^ζ	0,400	1,000* ^κ	<0,001
Ni	1,000		0,500 ^α	0,667	1,000* ^α	<0,001
Καταλάση	0,500	0,667	1,000		0,949 ^ζ	0,051
1000 µg/L						
ΚΟΡΜΟΙ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ^α						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	-1,000*	<0,001	1,000*	<0,001	0,500	0,667
Ni	1,000		-1,000*	<0,001	-0,500	0,667
Καταλάση	-1,000*	<0,001	1,000		0,500	0,667
ΦΥΛΛΑ ΚΡΕΜΜΥΔΙΩΝ^α						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	0,500	0,667	0,500	0,667	0,500	0,667
Ni	1,000		1,000*	<0,001	1,000*	<0,001
Καταλάση	1,000*	<0,001	1,000		1,000*	<0,001
ΠΑΤΑΤΕΣ						
	Ni		Καταλάση		Υπεροξειδάση	
	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p	Spearman's rho	p
Cr	-0,200 ^δ	0,747	0,714 ^β	0,111	0,829 ^{αβ}	0,042
Ni	1,000		-0,100 ^δ	0,873	-0,500 ^δ	0,391
Καταλάση	-0,100	0,873	1,000		-0,200 ^β	0,704

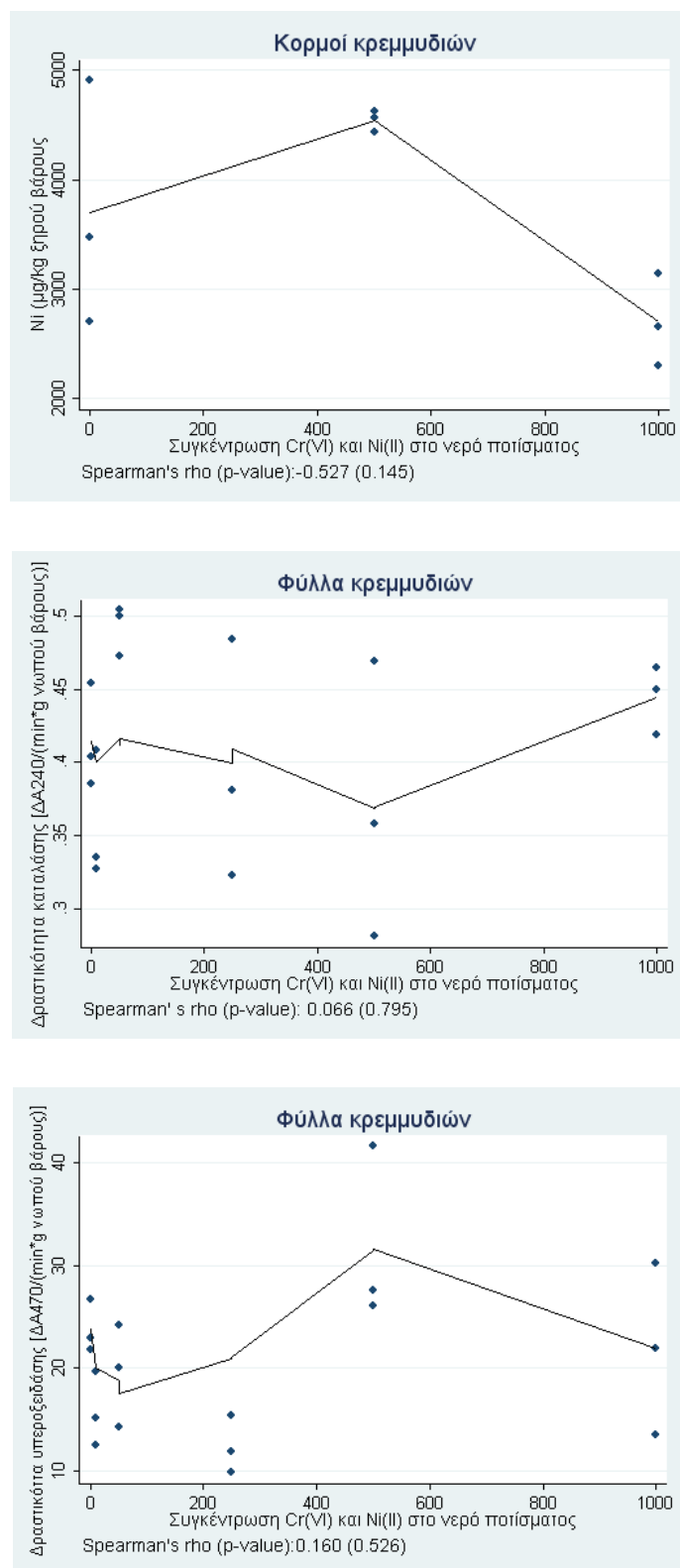
^αΣυσχέτιση σημαντική στο επίπεδο 0,05

* Συσχέτιση σημαντική στο επίπεδο 0,001

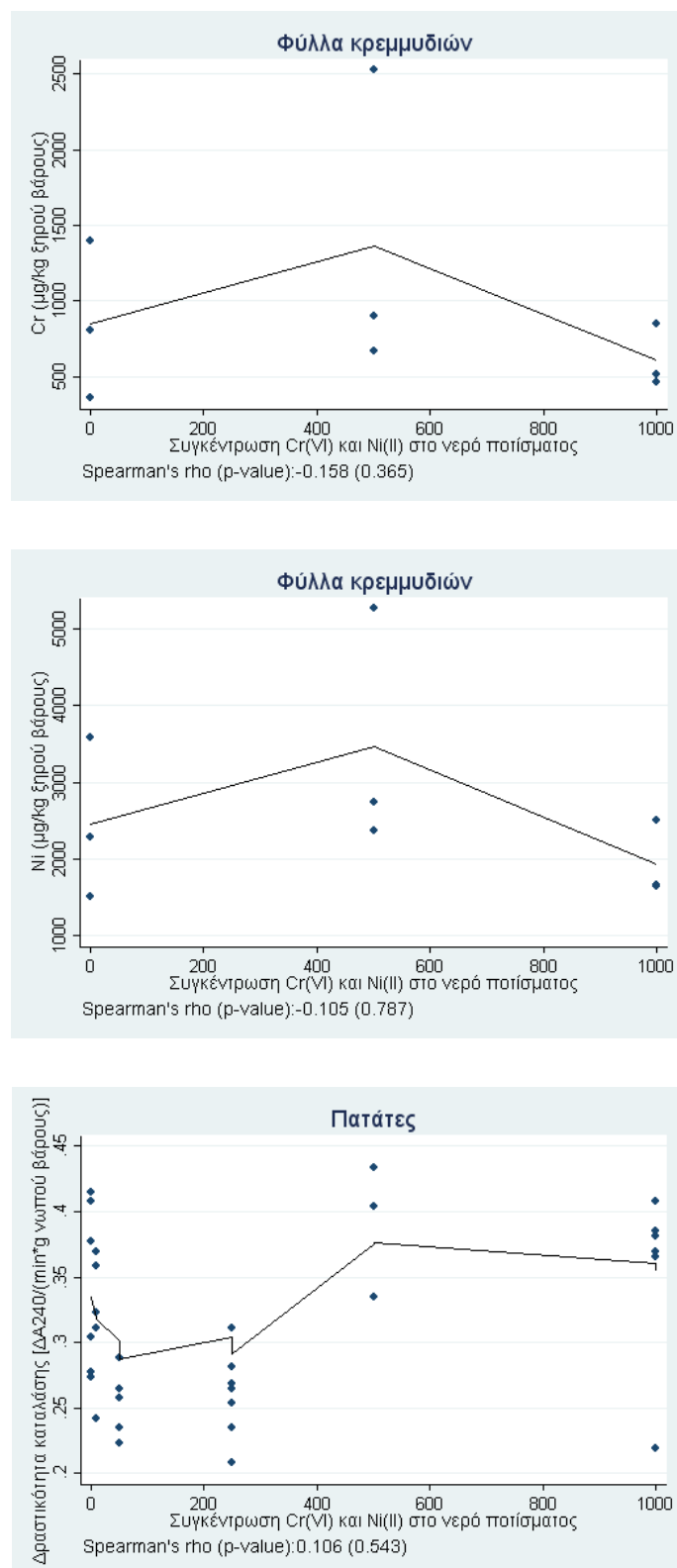
^α(n=3), ^β(n=6), ^γ(n=7), ^δ(n=5), ^ε(n=8), ^ζ(n=4)



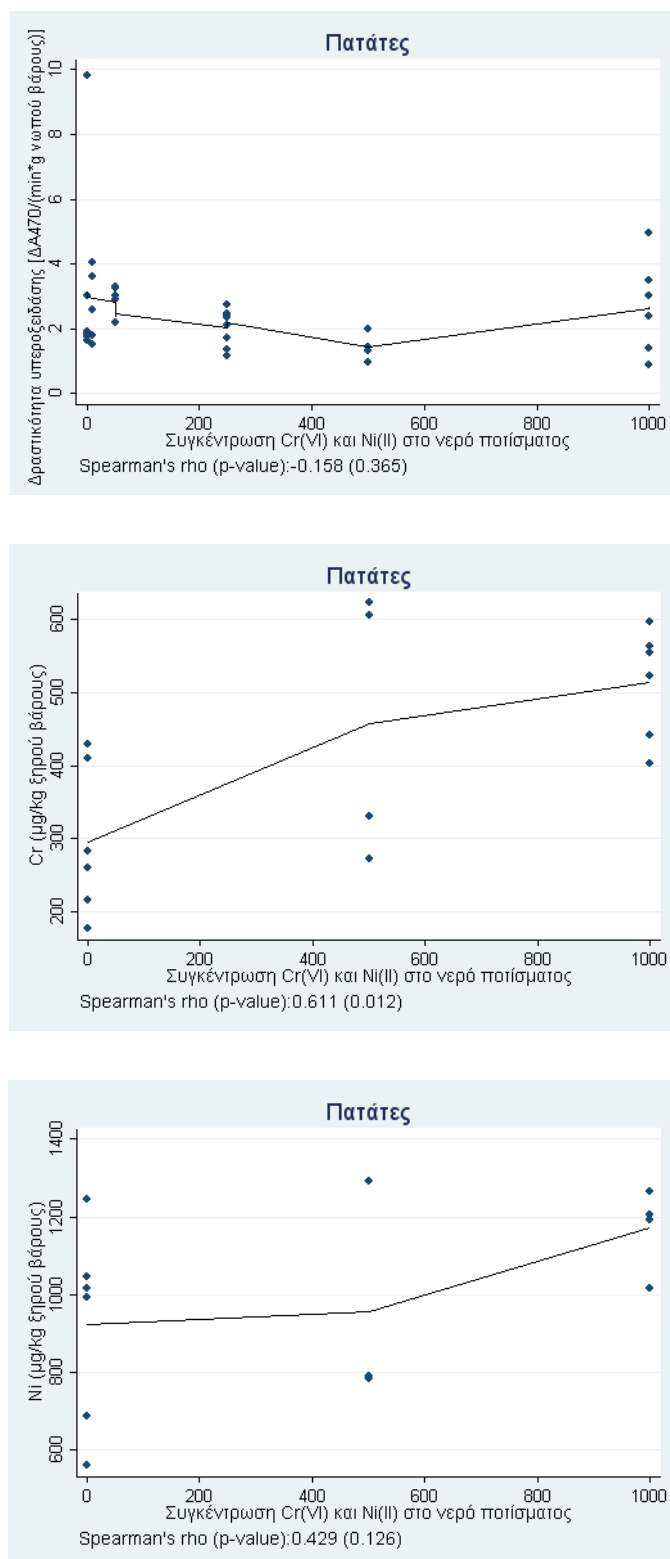
Σχήμα 4.3: Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni και δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης στα φυτά με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



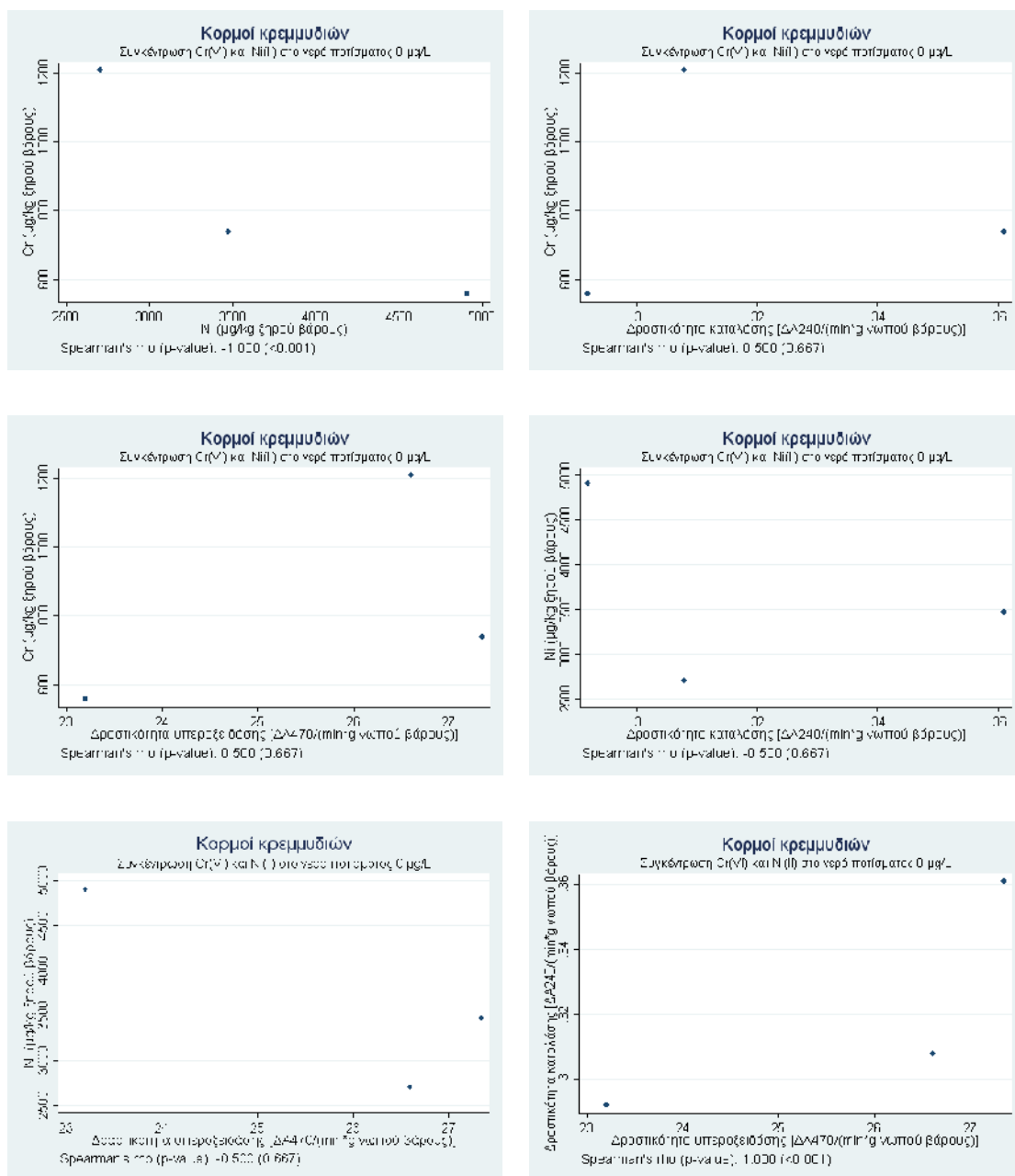
Σχήμα 4.3 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni και δραστηκότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης στα φυτά με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



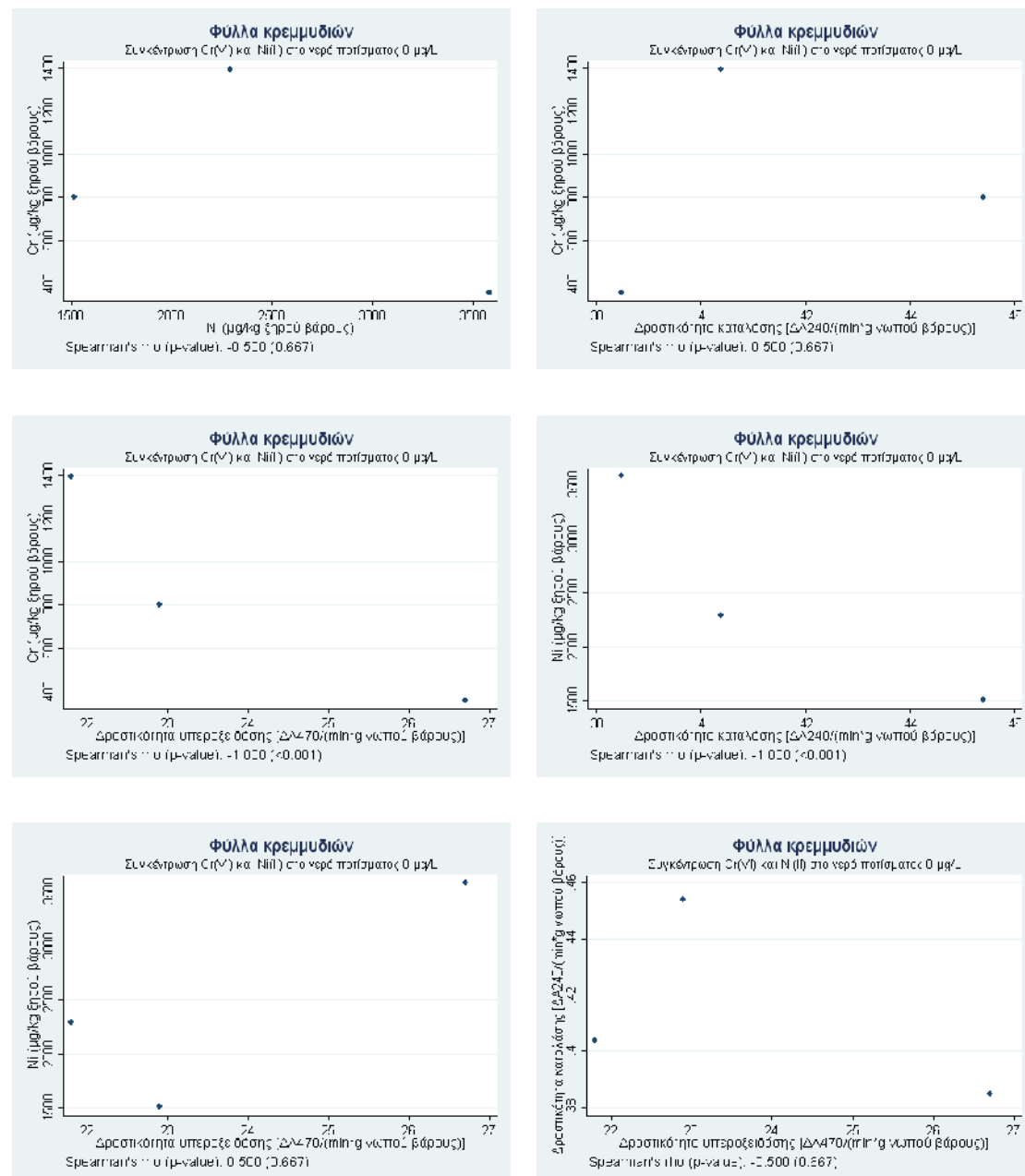
Σχήμα 4.3 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni και δραστηκότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης στα φυτά με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



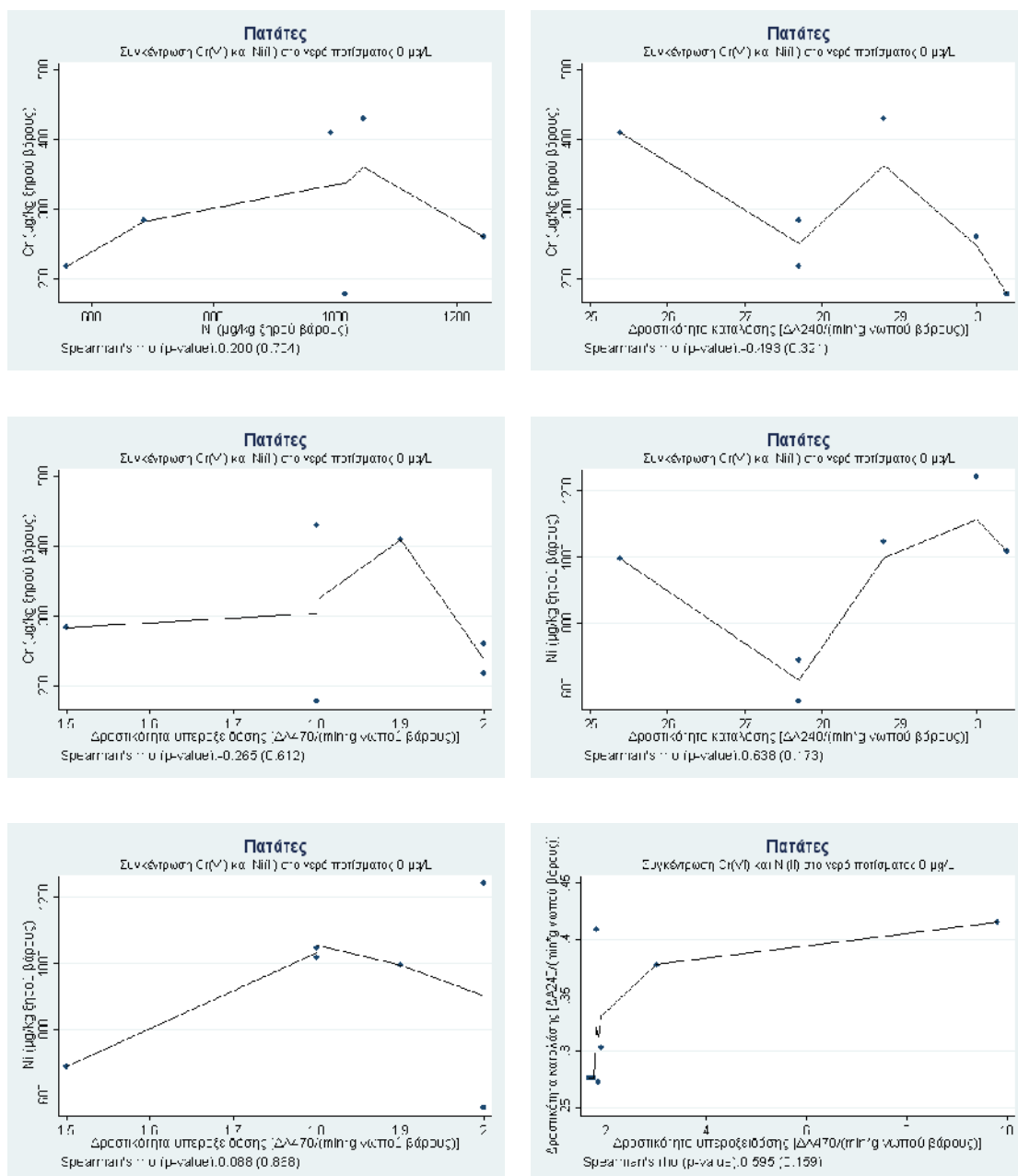
Σχήμα 4.3 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni και δραστικότητα καταλάσης και υπεροξειδάσης στα φυτά με τη συγκέντρωση Cr(VI) και Ni(II) στο νερό ποτίσματος. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



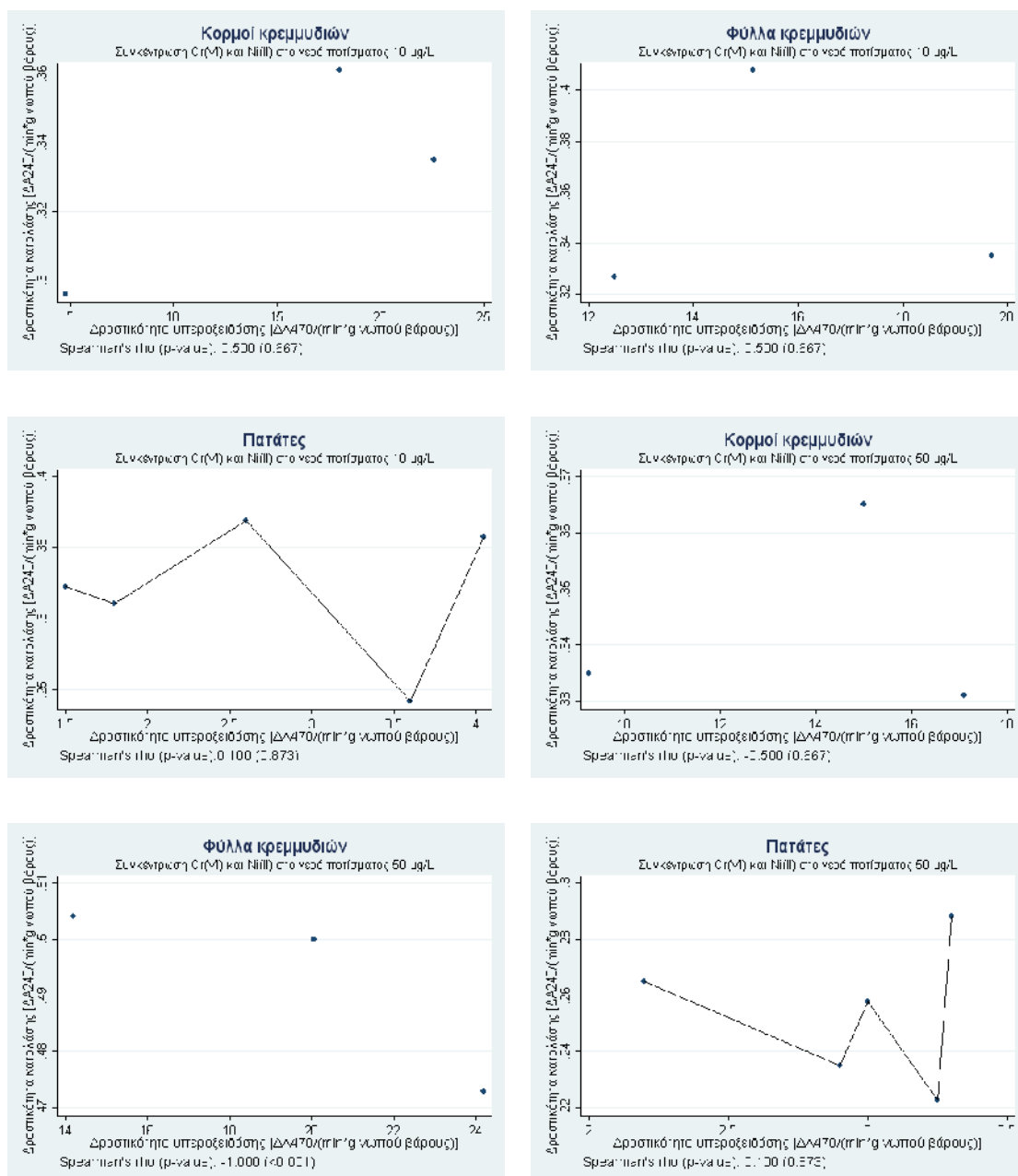
Σχήμα 4.4: Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστηκότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



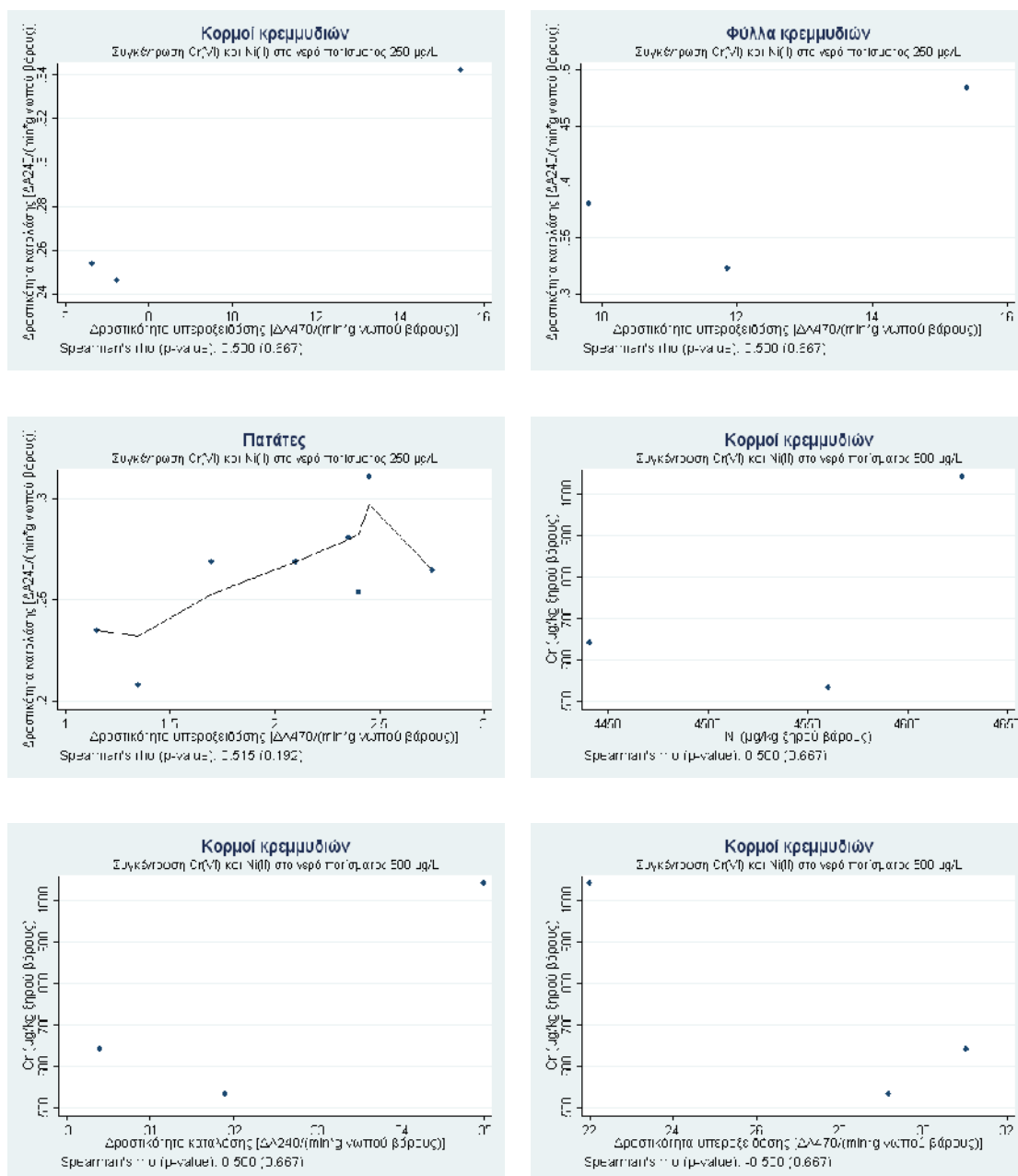
Σχήμα 4.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστηκότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



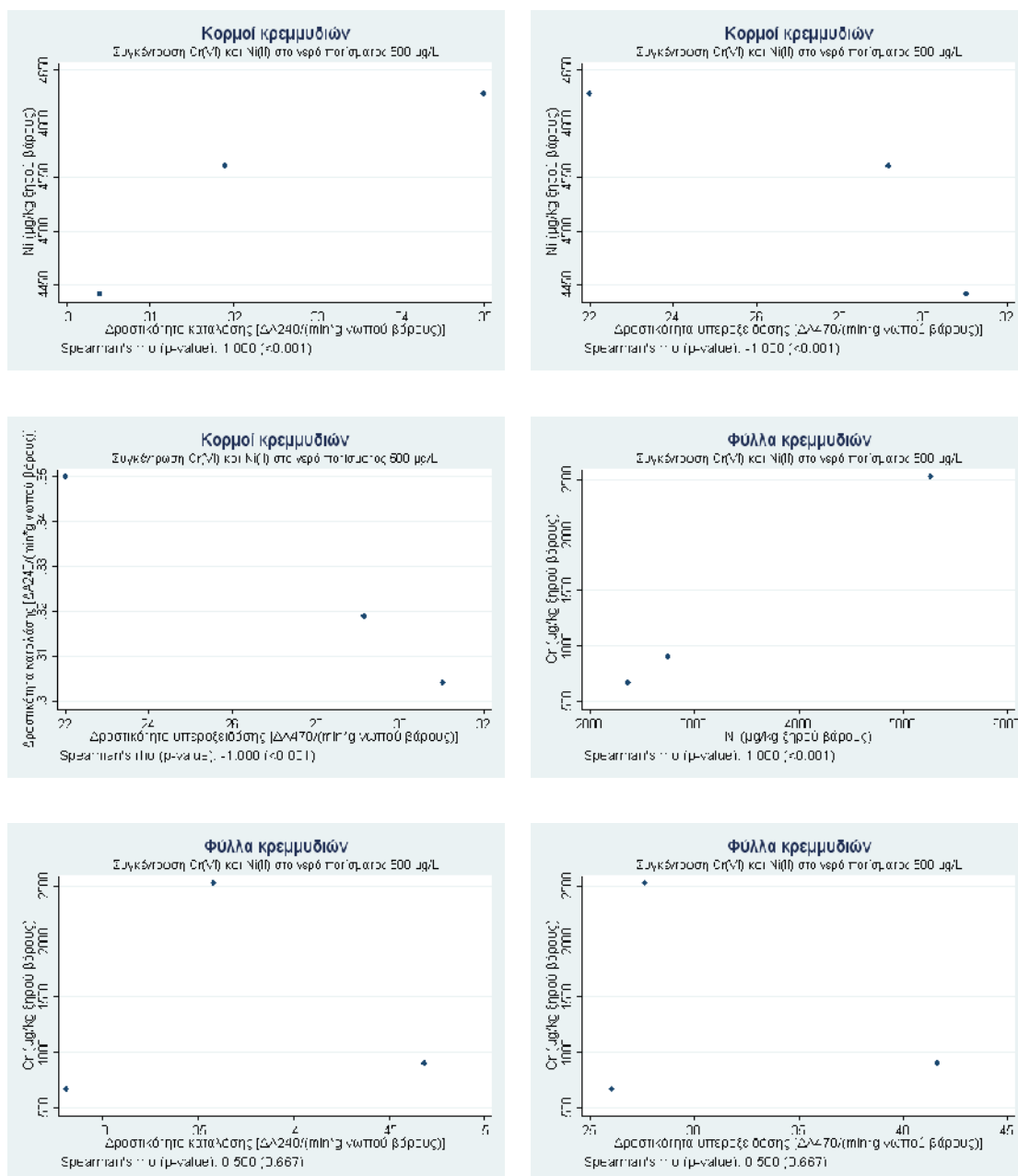
Σχήμα 4.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστηριότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



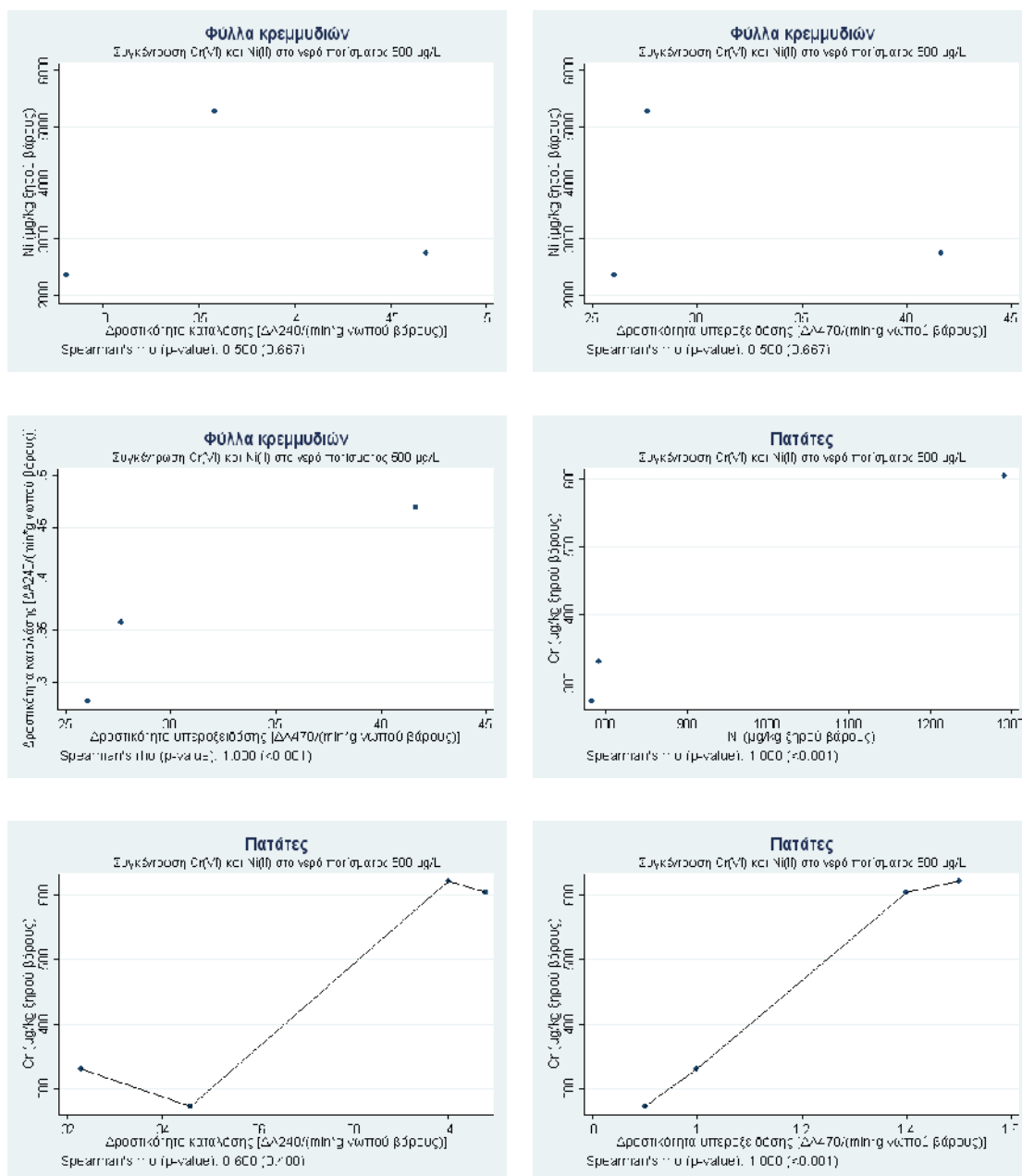
Σχήμα 4.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστηκότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



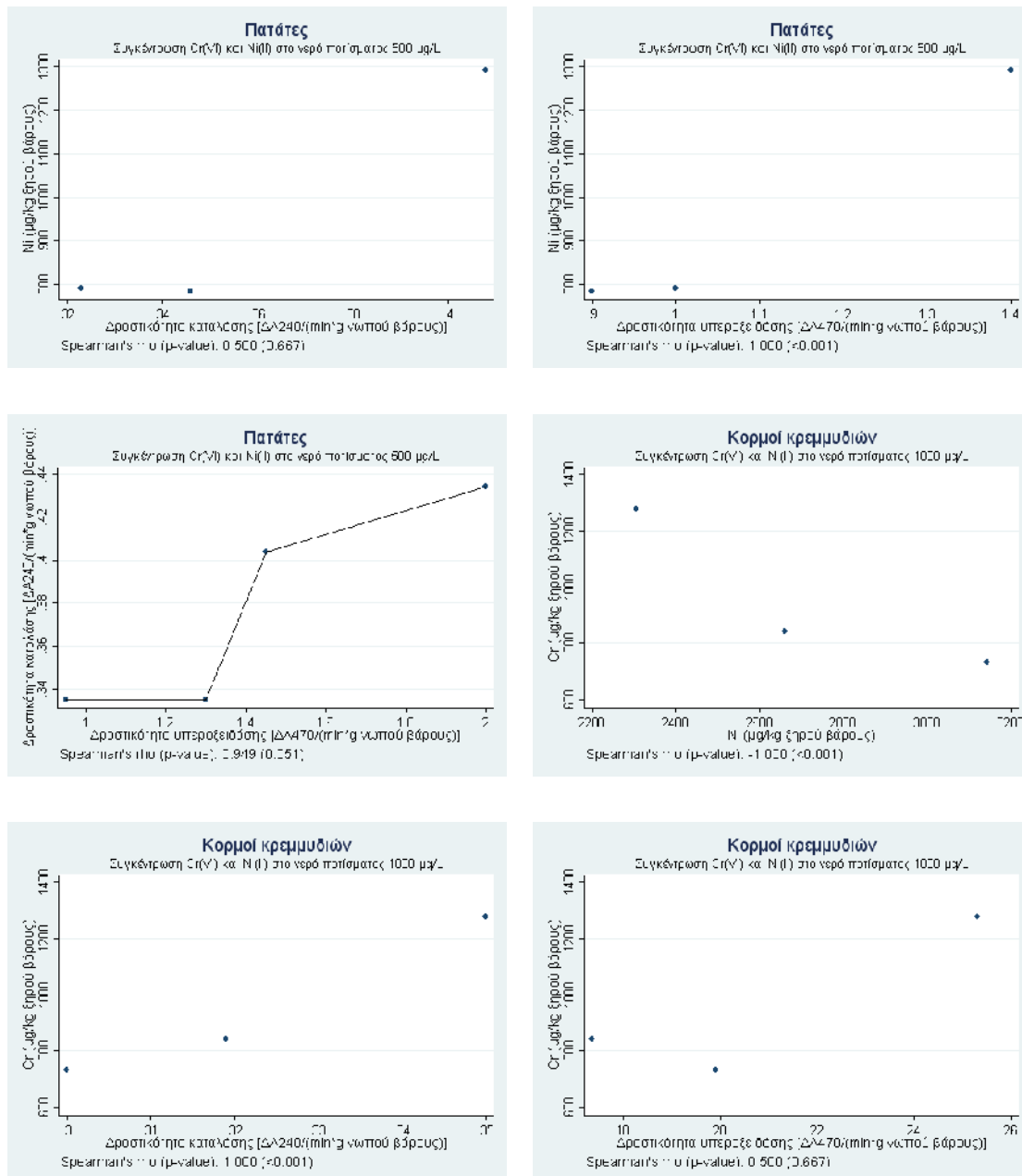
Σχήμα 4.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστηριότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



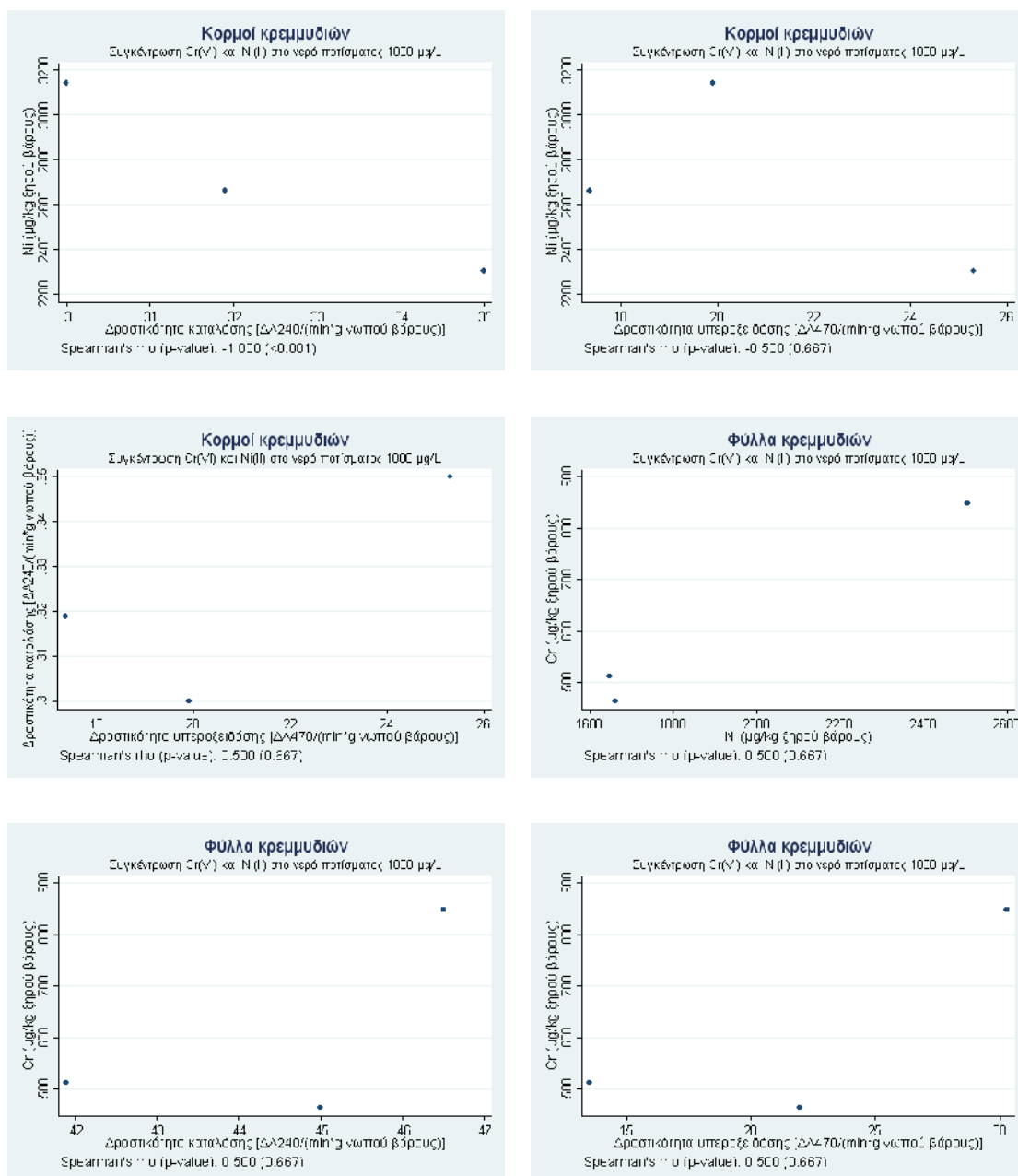
Σχήμα 4.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



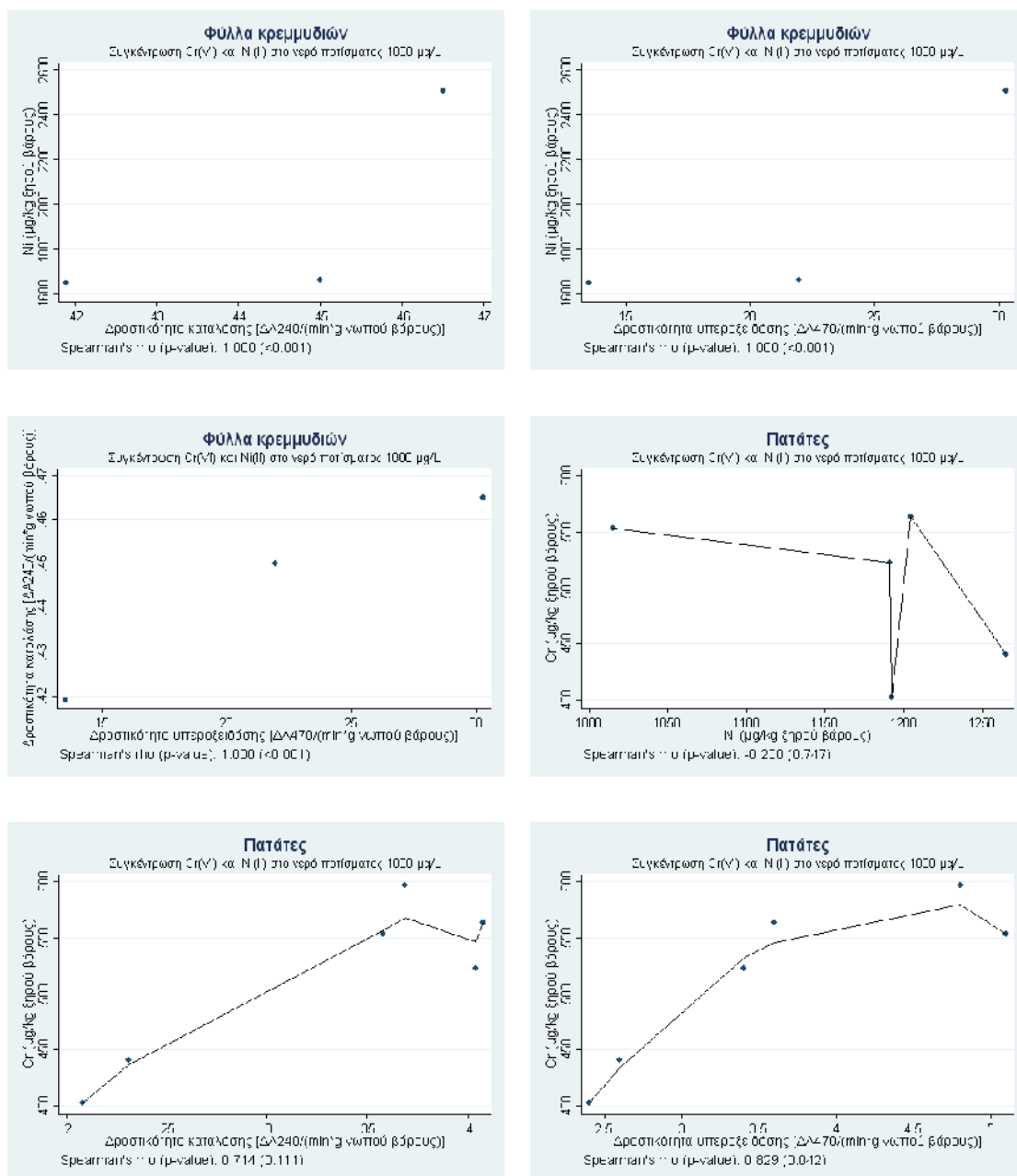
Σχήμα 4.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστηκότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



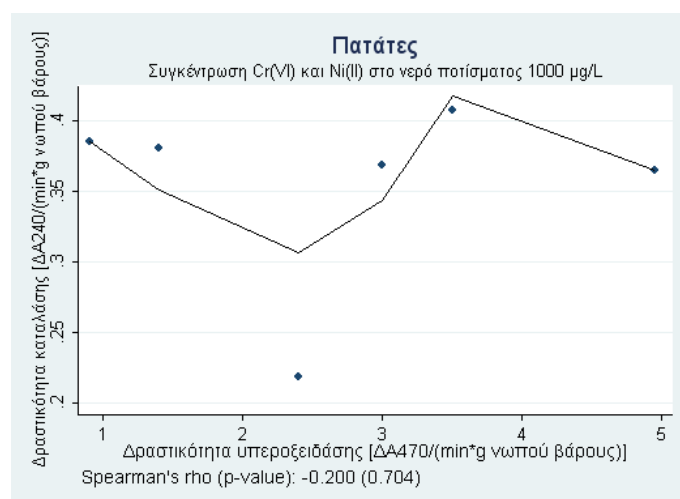
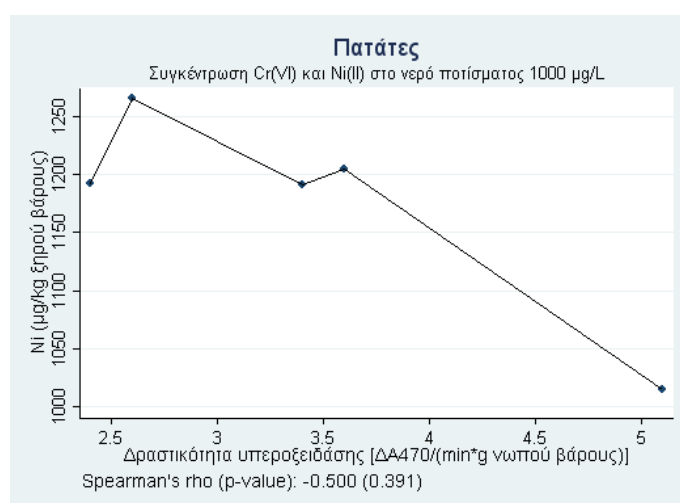
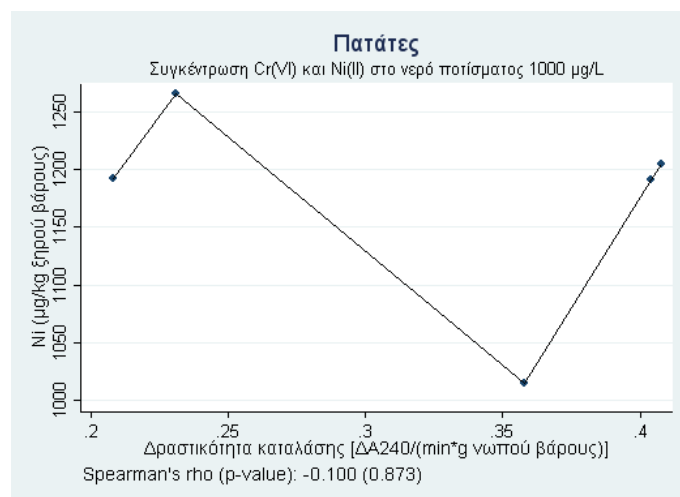
Σχήμα 4.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



Σχήμα 4.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



Σχήμα 4.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπερξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).



Σχήμα 4.4 (συνέχεια): Συσχέτιση συγκέντρωσης Cr, Ni, δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης ξεχωριστά στα φυτά κάθε γλάστρας. Spearman's rho, p-value και τοπικά σταθμισμένη παλινδρόμηση (lowess).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

ΑΝΑΛΥΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πίνακας 5.1: Αναλυτικά αποτελέσματα συγκέντρωσης Cr και Ni και δραστηριότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης διδακτορικής εργασίας

ΠΡΩΤΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟΣ				
Αριθμός Δείγματος	Είδος Φυτού	Συγκέντρωση (μg/L)	Συγκέντρωση Cr στο φυτό (μg/g)	Συγκέντρωση Ni στο φυτό (μg/g)
1	Κρεμμύδια κορμός	0	0,137	1,341
2	Κρεμμύδια κορμός	0	0,148	1,150
3	Κρεμμύδια κορμός	0	0,153	1,522
4	Κρεμμύδια κορμός	0	0,261	0,983
5	Κρεμμύδια κορμός	0	0,199	1,030
6	Κρεμμύδια κορμός	10	0,202	1,610
7	Κρεμμύδια κορμός	10	0,166	2,350
8	Κρεμμύδια κορμός	10	0,268	1,788
9	Κρεμμύδια κορμός	10	0,228	1,109
10	Κρεμμύδια κορμός	10	0,237	1,345
11	Κρεμμύδια κορμός	10	0,255	1,590
12	Κρεμμύδια κορμός	20	0,126	0,823
13	Κρεμμύδια κορμός	20	0,231	1,235
14	Κρεμμύδια κορμός	20	0,137	1,231
15	Κρεμμύδια κορμός	20	0,237	1,170
16	Κρεμμύδια κορμός	20	0,221	1,018
17	Κρεμμύδια κορμός	20	0,216	1,230
18	Κρεμμύδια κορμός	50	0,222	1,111
19	Κρεμμύδια κορμός	50	0,24	0,965
20	Κρεμμύδια κορμός	50	0,235	0,868
21	Κρεμμύδια κορμός	50	0,265	0,906
22	Κρεμμύδια κορμός	50	0,25	1,502
23	Κρεμμύδια κορμός	50	0,223	1,197
24	Κρεμμύδια κορμός	100	0,162	0,835
25	Κρεμμύδια κορμός	100	0,191	1,882
26	Κρεμμύδια κορμός	100	0,19	1,887
27	Κρεμμύδια κορμός	100	0,168	1,034
28	Κρεμμύδια κορμός	100	0,178	1,416
29	Κρεμμύδια κορμός	100	0,294	1,195
30	Κρεμμύδια κορμός	250	0,372	1,782
31	Κρεμμύδια κορμός	250	0,24	2,288
32	Κρεμμύδια κορμός	250	0,29	3,082
33	Κρεμμύδια κορμός	250	0,22	1,304
34	Κρεμμύδια κορμός	250	0,12	1,423
35	Κρεμμύδια φύλλα	0	0,193	0,670
36	Κρεμμύδια φύλλα	0	0,222	1,093
37	Κρεμμύδια φύλλα	0	0,174	1,272
38	Κρεμμύδια φύλλα	0	0,24	0,787
39	Κρεμμύδια φύλλα	0	0,217	1,037
40	Κρεμμύδια φύλλα	10	0,506	0,989
41	Κρεμμύδια φύλλα	10	0,331	1,107
42	Κρεμμύδια φύλλα	10	0,343	1,053
43	Κρεμμύδια φύλλα	10	0,604	0,898
44	Κρεμμύδια φύλλα	10	0,404	1,046
45	Κρεμμύδια φύλλα	10	0,504	1,329

Παράρτημα II.Αναλυτικά αποτελέσματα

46	Κρεμμύδια φύλλα	20	0,372	0,834
47	Κρεμμύδια φύλλα	20	0,32	0,861
48	Κρεμμύδια φύλλα	20	0,32	0,840
49	Κρεμμύδια φύλλα	20	0,302	0,872
50	Κρεμμύδια φύλλα	20	0,253	0,868
51	Κρεμμύδια φύλλα	20	0,489	1,106
52	Κρεμμύδια φύλλα	50	0,603	0,732
53	Κρεμμύδια φύλλα	50	0,77	0,941
54	Κρεμμύδια φύλλα	50	0,55	0,891
55	Κρεμμύδια φύλλα	50	0,542	0,857
56	Κρεμμύδια φύλλα	50	0,791	1,383
57	Κρεμμύδια φύλλα	50	0,712	1,163
58	Κρεμμύδια φύλλα	100	0,498	0,667
59	Κρεμμύδια φύλλα	100	0,527	0,722
60	Κρεμμύδια φύλλα	100	0,463	0,995
61	Κρεμμύδια φύλλα	100	0,362	0,973
62	Κρεμμύδια φύλλα	100	0,216	0,638
63	Κρεμμύδια φύλλα	100	0,318	0,719
64	Κρεμμύδια φύλλα	250	0,43	2,943
65	Κρεμμύδια φύλλα	250	0,398	2,687
66	Κρεμμύδια φύλλα	250	0,282	1,972
67	Κρεμμύδια φύλλα	250	0,35	1,128
68	Κρεμμύδια φύλλα	250	0,315	0,941
69	Καρότα	0	0,747	1,142
70	Καρότα	0	0,123	0,726
71	Καρότα	0	0,224	0,744
72	Καρότα	0	0,176	0,865
73	Καρότα	0	0,171	0,450
74	Καρότα	0	0,16	1,246
75	Καρότα	0	0,265	1,028
76	Καρότα	0	0,226	1,483
77	Καρότα	0	0,236	0,631
78	Καρότα	0	0,246	0,639
79	Καρότα	10	0,32	0,643
80	Καρότα	10	0,271	0,974
81	Καρότα	10	0,217	0,436
82	Καρότα	10	0,231	1,166
83	Καρότα	10	0,377	1,156
84	Καρότα	10	0,378	0,849
85	Καρότα	10	0,279	0,952
86	Καρότα	10	0,209	1,041
87	Καρότα	10	0,196	1,125
88	Καρότα	10	0,27	1,631
89	Καρότα	20	0,217	0,985
90	Καρότα	20	0,207	0,891
91	Καρότα	20	0,272	0,811
92	Καρότα	20	0,211	1,185
93	Καρότα	20	0,371	0,582
94	Καρότα	20	0,46	0,969
95	Καρότα	20	0,235	1,173
96	Καρότα	20	0,199	1,067
97	Καρότα	20	0,277	0,999
98	Καρότα	20	0,38	1,243
99	Καρότα	50	0,12	0,649
100	Καρότα	50	0,175	1,810
101	Καρότα	50	0,069	0,516
102	Καρότα	50	0,079	0,583
103	Καρότα	50	0,093	0,595
104	Καρότα	50	0,161	0,427

Παράρτημα II.Αναλυτικά αποτελέσματα

105	Καρότα	50	0,135	0,706
106	Καρότα	50	0,119	0,414
107	Καρότα	50	0,161	0,967
108	Καρότα	50	0,122	0,728
109	Καρότα	100	0,316	0,654
110	Καρότα	100	0,298	0,772
111	Καρότα	100	0,133	0,777
112	Καρότα	100	0,304	0,638
113	Καρότα	100	0,403	0,983
114	Καρότα	100	0,284	1,232
115	Καρότα	100	0,19	0,824
116	Καρότα	100	0,406	1,049
117	Καρότα	100	0,263	0,943
118	Καρότα	100	0,512	1,359
119	Καρότα	250	0,16	0,695
120	Καρότα	250	0,242	1,017
121	Καρότα	250	0,132	0,642
122	Καρότα	250	0,103	0,667
123	Καρότα	250	0,136	0,810
124	Καρότα	250	0,199	0,918
125	Καρότα	250	0,096	0,461
126	Καρότα	250	0,118	1,243
127	Καρότα	250	0,099	0,791
128	Καρότα	250	0,142	0,680
129	Πατάτες	0	0,209	0,538
130	Πατάτες	0	0,208	0,549
131	Πατάτες	0	0,184	0,524
132	Πατάτες	0	0,265	0,661
133	Πατάτες	0	0,195	0,399
134	Πατάτες	0	0,239	0,718
135	Πατάτες	0	0,21	0,562
136	Πατάτες	10	0,041	0,292
137	Πατάτες	10	0,064	0,331
138	Πατάτες	10	0,061	0,374
139	Πατάτες	10	0,137	0,510
140	Πατάτες	10	0,218	0,472
141	Πατάτες	10	0,273	0,565
142	Πατάτες	10	0,05	0,362
143	Πατάτες	10	0,385	0,456
144	Πατάτες	10	0,199	0,317
145	Πατάτες	20	0,311	0,470
146	Πατάτες	20	0,258	0,956
147	Πατάτες	20	0,284	0,930
148	Πατάτες	20	0,284	0,794
149	Πατάτες	20	0,233	0,573
150	Πατάτες	20	0,318	0,558
151	Πατάτες	20	0,318	0,611
152	Πατάτες	20	0,268	0,814
153	Πατάτες	20	0,172	N.D.
154	Πατάτες	50	0,117	0,712
155	Πατάτες	50	0,113	0,617
156	Πατάτες	50	0,171	0,598
157	Πατάτες	50	0,22	0,604
158	Πατάτες	50	0,122	0,496
159	Πατάτες	50	0,179	0,512
160	Πατάτες	50	0,188	0,516
161	Πατάτες	50	0,08	0,507
162	Πατάτες	100	0,155	0,297
163	Πατάτες	100	0,099	0,209

Παράρτημα II.Αναλυτικά αποτελέσματα

164	Πατάτες	100	0,132	0,773
165	Πατάτες	100	0,1	0,797
166	Πατάτες	100	0,128	0,514
167	Πατάτες	100	0,156	0,473
168	Πατάτες	100	0,089	0,423
169	Πατάτες	250	0,075	0,344
170	Πατάτες	250	0,162	0,673
171	Πατάτες	250	0,093	0,392
172	Πατάτες	250	0,119	0,161
173	Πατάτες	250	0,138	0,235
174	Πατάτες	250	0,275	0,368
175	Πατάτες	250	0,271	0,287
176	Πατάτες	250	0,178	0,307
177	Πατάτες	250	0,215	0,287
178	Πατάτες	250	0,385	0,398
179	Πατάτες	250	0,259	0,316
180	Πατάτες	250	0,13	0,314
181	Πατάτες	250	0,174	0,355

Πίνακας 5.1 (συνέχεια): Αναλυτικά αποτελέσματα συγκέντρωσης Cr και Ni και δραστικότητας καταλάσης και υπεροξειδάσης διδακτορικής εργασίας

ΔΕΥΤΕΡΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟΣ								
Αριθμός Δείγματος	Είδος Φυτού	Συγκέντρωση (μg/L)	Συγκέντρωση Cr στο φυτό (μg/g)	Συγκέντρωση Ni στο φυτό (μg/g)	CAT (ΔA₂₄₀/min*g νωπού βάρους)	POX (ΔA₄₇₀/min*g νωπού βάρους)		
1	Κρεμμύδια κορμός	0	1	2,704	0,308	26,6		
2	Κρεμμύδια κορμός	0	0,739	3,475	0,361	27,35		
3	Κρεμμύδια κορμός	0	0,557	4,904	0,292	23,2		
4	Κρεμμύδια κορμός	10	-	-	0,296	4,75		
5	Κρεμμύδια κορμός	10	-	-	0,335	22,6		
6	Κρεμμύδια κορμός	10	-	-	0,361	18		
7	Κρεμμύδια κορμός	50	-	-	0,365	15		
8	Κρεμμύδια κορμός	50	-	-	0,335	9,25		
9	Κρεμμύδια κορμός	50	-	-	0,331	17,1		
10	Κρεμμύδια κορμός	250	-	-	0,246	7,25		
11	Κρεμμύδια κορμός	250	-	-	0,254	6,65		
12	Κρεμμύδια κορμός	250	-	-	0,342	15,45		
13	Κρεμμύδια κορμός	500	0,534	4,560	0,319	29,15		
14	Κρεμμύδια κορμός	500	1	4,627	0,35	22		
15	Κρεμμύδια κορμός	500	0,641	4,441	0,304	31		
16	Κρεμμύδια κορμός	1000	1,279	2,305	0,35	25,3		
17	Κρεμμύδια κορμός	1000	0,844	2,658	0,319	17,35		
18	Κρεμμύδια κορμός	1000	0,733	3,142	0,3	19,9		
19	Κρεμμύδια φύλλα	0	0,806	1,515	0,454	22,9		
20	Κρεμμύδια φύλλα	0	0,358	3,583	0,385	26,7		
21	Κρεμμύδια φύλλα	0	1,396	2,293	0,404	21,8		
22	Κρεμμύδια φύλλα	10	-	-	0,327	12,5		
23	Κρεμμύδια φύλλα	10	-	-	0,408	15,15		
24	Κρεμμύδια φύλλα	10	-	-	0,335	19,7		
25	Κρεμμύδια φύλλα	50	-	-	0,5	20,05		
26	Κρεμμύδια φύλλα	50	-	-	0,504	14,2		
27	Κρεμμύδια φύλλα	50	-	-	0,473	24,2		

Παράρτημα II.Αναλυτικά αποτελέσματα

28	Κρεμμύδια φύλλα	250	-	-	0,381	9,8		
29	Κρεμμύδια φύλλα	250	-	-	0,323	11,85		
30	Κρεμμύδια φύλλα	250	-	-	0,484	15,4		
31	Κρεμμύδια φύλλα	500	0,902	2,747	0,469	41,65		
32	Κρεμμύδια φύλλα	500	0,668	2,367	0,281	26,05		
33	Κρεμμύδια φύλλα	500	2,525	5,268	0,358	27,65		
34	Κρεμμύδια φύλλα	1000	0,463	1,662	0,45	21,95		
35	Κρεμμύδια φύλλα	1000	0,513	1,648	0,419	13,5	ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΕ ΠΑΤΑΤΕΣ	
36	Κρεμμύδια φύλλα	1000	0,848	2,505	0,465	30,3	CAT (ΔA₂₄₀/min*g νωπού βάρους)	POX (ΔA₄₇₀/min*g νωπού βάρους)
37	Πατάτες	0	0,217	0,560	0,277	2	0,415	9,8
38	Πατάτες	0	0,283	0,687	0,277	1,5	0,377	3
39	Πατάτες	0	0,41	0,993	0,254	1,9	0,277	1,75
40	Πατάτες	0	0,43	1,046	0,288	1,8	0,273	1,85
41	Πατάτες	0	0,177	1,016	0,304	1,8	0,408	1,8
42	Πατάτες	0	0,26	1,244	0,3	2	0,304	1,9
43	Πατάτες	0	-	-	-	-	0,277	1,65
44	Πατάτες	10	-	-	-	-	0,242	3,6
45	Πατάτες	10	-	-	-	-	0,311	1,8
46	Πατάτες	10	-	-	-	-	0,323	1,5
47	Πατάτες	10	-	-	-	-	0,369	2,6
48	Πατάτες	10	-	-	-	-	0,358	4,05
49	Πατάτες	50	-	-	-	-	0,265	2,2
50	Πατάτες	50	-	-	-	-	0,223	3,25
51	Πατάτες	50	-	-	-	-	0,288	3,3
52	Πατάτες	50	-	-	-	-	0,235	2,9
53	Πατάτες	50	-	-	-	-	0,258	3
54	Πατάτες	250	-	-	-	-	0,235	1,15
55	Πατάτες	250	-	-	-	-	0,269	2,1
56	Πατάτες	250	-	-	-	-	0,311	2,45
57	Πατάτες	250	-	-	-	-	0,265	2,75
58	Πατάτες	250	-	-	-	-	0,254	2,4
59	Πατάτες	250	-	-	-	-	0,269	1,7
60	Πατάτες	250	-	-	-	-	0,208	1,35
61	Πατάτες	250	-	-	-	-	0,281	2,35

Παράρτημα ΙΙ.Αναλυτικά αποτελέσματα

62	Πατάτες	500	0,273	0,783	0,346	0,9	0,335	0,95
63	Πατάτες	500	0,331	0,791	0,323	1	0,434	2
64	Πατάτες	500	0,605	1,291	0,408	1,4	0,335	1,3
65	Πατάτες	500	0,622	-	0,4	1,5	0,404	1,45
66	Πατάτες	1000	0,553	1,015	0,358	5,1	0,385	0,9
67	Πατάτες	1000	0,597	-	0,369	4,8	0,365	4,95
68	Πατάτες	1000	0,403	1,192	0,208	2,4	0,369	3
69	Πατάτες	1000	0,441	1,265	0,231	2,6	0,219	2,4
70	Πατάτες	1000	0,523	1,191	0,404	3,4	0,408	3,5
71	Πατάτες	1000	0,564	1,204	0,408	3,6	0,381	1,4

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ι. Ζαμπετάκης, Σ. Θεοχάρης, Χ. Καραντώνης, Χ. Κιρκιλλής, Α. Παντελόγλου, Σ. Στασινός, *Νομοθεσία Τροφίμων και Διατροφικοί Κίνδυνοι*, Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, 2011, 28.
2. California Environmental Protection Agency, Environmental Health Hazard Assessment, Pesticide and Environmental Toxicology Branch Office, *Public health goal for hexavalent chromium in drinking water*, 2011, 80, 96.
3. Α. Δούνας, Γ. Καλλέργης, Α. Μόρφης, Μ. Παγούνης, *Υδρογεωλογική έρευνα λεκάνης μέσου ρου Ασωπού ποταμού*, ΙΓΜΕ, 1978, αρ.21, 33-42.
4. Δ.Ξ.Σταυρόπουλος, *Υποβάθμιση της ποιότητας των υπόγειων νερών στη βιομηχανική ζώνη Οινοφύτων*, Τομέας Γεωλογικών Επιστημών, ΕΜΠ, 1990, 181-192.
5. Π.Γιαννουλόπουλος, *Αναγνωριστική υδρογεωλογική-υδροχημική έρευνα ποιοτικής επιβάρυνσης των υπόγειων νερών της ευρύτερης περιοχής της λεκάνης του Ασωπού Ν.Βοιωτίας*, ΙΓΜΕ, 2008, 65-68
6. Τεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδας, *Το πρόβλημα του Ασωπού ποταμού. Προτάσεις αντιμετώπισής του*, Αθήνα, Ιούλιος 2009, 47.
7. Ι. Megremi, *Distribution and bioavailability of Cr in Central Euboea, Greece*, Central European Journal of Geosciences, 2009, vol. 2, (2)103-123.
8. Α. Moraki, *Assessment of groundwater contamination by hexavalent chromium and its remediation at Avlida area, Central Greece*, Hellenic Journal of Geosciences, 2010, Vol. 45, 175-184.
9. Χ. Τσαραμπάρης, *Υδρογεωλογικό καθεστώς στο άνω ρου του Ασωπού ποταμού. Διερεύνηση των ποιοτικών παραγόντων υποβάθμισης των υπογείων υδάτων*, Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2010, 110-119.

10. M. Economou-Eliopoulos, I. Megremi, C. Vasilatos, *Factors controlling the heterogeneous distribution of Cr(VI) in soil, plants and groundwater: Evidence from Assopos basin, Greece*, *Chemie Erde – Geochemistry*, 2011, vol. 71, (1), 39-52.
11. A. Linos, A. Petralias, C.A. Christophi, E. Christoforidou, P. Kouroutou, M. Stoltidis, A. Veloudaki, E. Tzala, K.C. Makris, M.R. Karagas. *Oral ingestion of hexavalent chromium through drinking water and cancer mortality in an industrial area of Greece - An ecological study*. *Environmental Health*, 2011, 10-50.
12. R.K. Sharma, M. Agrawal, F. Marshal, *Heavy metal contamination of soil and vegetables in suburban areas of Varanasi*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 66, 258-266.
13. M. Muchuweti, J.W. Birkett, E. Chinyanga, R. Zvauya, M.D. Scrimshaw, J.N. Lester, *Heavy metal content of vegetables irrigated with mixtures of wastewater and sewage sludge in Zimbabwe. Implications for human health, Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2006, 112, 41-48.
14. B. Devkota, G.H. Schmidt, *Accumulation of heavy metals in food plants and grasshoppers from the Taigetos Mountains, Greece*. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2008, 78, 85–91.
15. H.L. Frost, L.H. Ketchum, *Trace metal concentration in durum wheat from application of sewage sludge and commercial fertilizer*. *Advances in Environmental Research*, 2000, 4, 347–355.
16. E.S. Mangwayana, *Heavy metals pollution from sewage sludge and effluent of soil and grasses at Crowborough Farm*. B.Sc. Thesis, University of Zimbabwe, 1995, 63.
17. R.K. Yadav, B. Goyal, R.K. Sharma, S.K. Dubey, P.S. Minhas, *Post irrigation impact of domestic sewage effluent on composition of soils, crop and ground water - a case study*, *Environmental International*, 2002, 28, 481-486.

18. J. Horsewell, T.W. Speir, A.P. van Schaik, *Bio-indicators to assess impacts of heavy metals in the land applied sewage sludge*. Soil, Biology and Biochemistry, 2003, 35, 1501-1505.
19. F. Mapanda, E.N. Mangwayana, J. Nyamangara, K.E. Giller, *Uptake of Heavy Metals by Vegetables Irrigated Using Wastewater and the Subsequent Risks in Harare, Zimbabwe*. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2007, 107, 151-165.
20. Z. Nan, J. Li, C. Zhang, G. Cheng, *Cadmium and zinc Interaction and their transfer in soil–crop system under actual field conditions*, Science of the Total Environment, 2002, 285, 187–195.
21. K.P. Singh, D. Mohan, S. Sinha, R. Dalwani, *Impact assessment of treated/untreated wastewater toxicants discharge by sewage treatment plants on health, agricultural, and environmental quality in wastewater disposal area*, Chemosphere, 2004, 55, 227–255.
22. G.D. Agrawal, *Diffuse agricultural water pollution in India*, Water Science and Technology, 1999, 39 (3), 33–47.
23. R.K. Rattan, S.P. Datta, P.K. Chhonkar, K. Suribabu, A.K. Singh, *Long-term impact of irrigation with sewage effluents on heavy metal content in soils, crops and groundwater—a case study*. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2005, 109, 310–322.
24. R.K. Rattan, S.P. Datta, S. Chandra, N. Saharan, *Heavy metals and environmental quality: Indian scenario*. Fertilizer News, 2002, 47 (11), 21–40.
25. N. Sridhara Chary, C.T. Kamala, D. Samuel Suman Raj, *Assessing risk of heavy metals from consuming food grown on sewage irrigated soils and food chain transfer*, Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 69, 513–524.
26. C. Siebe, *Heavy metal availability to plants in soil irrigated with waste water from Mexico city*, Water Research, 1995, 32 (12), 29–34.
27. K. Mengel, E.A. Kirkby, *Principles of plant nutrition*, International Potash Institute Bern, Switzerland, 1982, 207-219.

28. W. Salomons, U. Forstner, *Metals in the hydrocycle*, Springer, Berlin Heidelberg New York, 1984, 349.
29. N. König, P. Baccini, B. Ulrich, *The influence of natural organic matter on the transport of metals in soils and soil solutions in an acidic forest soil*, Z Pflanzenernaehr Bodenkd, 1986, 149: 68-82.
30. J. Buffle, *Complexation reactions in aquatic systems, an analytical approach*, John Wiley, Chichester, 1988, 700.
31. L.D. King, *Effect of selected soil properties on cadmium content in tobacco*. Journal of Environmental Quality, 1988, 17: 251-255.
32. S.P. McGrath, J.R. Sanders, M.H. Shalaby, *The effect of soil organic matter levels on soil solution concentrations and extractabilities of manganese, zinc and copper*, Geoderma, 1988, 42: 177-188.
33. P.H. Brown, L. Dunemann, R. Schulz, Marschner, *Influence of redox potential and plant species on the uptake of nickel and cadmium from soil*, Z Pflanzenernaehr Bodenkd, 1989, 152: 85-91.
34. J.V. Lagerwerff, *Pb, Hg and Cd as contaminants. In Mortvedt JJ, Giordano PM, Lindsay WL (eds) Micronutrients in agriculture*. Soil Science Society of America, Madison, 1972, 593-636.
35. F.E. Haghiri, *Plant uptake of cadmium as influenced by cation exchange capacity, organic matter, zinc and soil temperature*, Journal of Environmental Quality, 1974, 3: 180-182.
36. D.E. Williams, J. Vlamis, A.H. Purkitt, J.E. Corey, *Trace element accumulation movement and distribution in the soil profile from massive applications of sewage sludge*, Soil Science, 1980, 129: 119-132.
37. T.J. Logan, R.L. Chaney, *Metals. In Page AL (ed) Utilization of municipal wastewater and sludge on land*. University of California, Riverside, CA, 1983, 235-326.
38. M. Verloo, M. Eeckhout. *Metal species transformations in soil: an analytical approach*, In International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 1990, 39: 179-186.

39. A.C. Chang, A.L. Page, J.E. Warneke, *Long-term slugde application on cadmium and zinc accumulation in Swiss chard and radish*, Journal of Environmental Quality, 1987, 16: 217-221.
40. C. Cervantes, J.C. Garcia, S. Devars, F.G. Corona, H.L. Tavera, J. Torres-guzman, *Interactions of chromium with micro-organisms and plants*. FEMS Microbiology Reviews, 2001, 25:335– 347.
41. A. Wallace, S.M. Soufi, J.W. Cha, E.M. Romney, *Some effects of chromium toxicity on bush bean plants grown in soil*, Plant and Soil 1976, 44:471– 473.
42. R.A. Skeffington, P.R. Shewry, P.J. Petersen, *Chromium uptake and transport in barley seedlings Hordeum vulgare*, Planta 1976, 132:209– 214.
43. A. Zayed, C.M. Lytle, Q. Jin-Hong, N. Terry, J.H. Qian. *Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops*, Planta, 1998, 206:293– 299.
44. S.E. Golovatyj, E.N. Bogatyreva, *Effect of levels of chromium content in a soil on its distribution in organs of corn plants*, Soil Research and the use of Fertilizers, 1999, 197–204.
45. E.W.D. Huffman Jr, H.W. Allaway, *Chromium in plants: distribution in tissues, organelles, and extracts and availability of bean leaf Cr to animals*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1973, 21:982– 986.
46. A.K. Shanker, M. Djanaguiraman, R. Sudhagar, C.N. Chandrashekar, G. Pathmanabhan, *Differential antioxidative response of ascorbate glutathione pathway enzymes and metabolites to chromium speciation stress in green gram (Vigna radiata (L) R Wilczek, cv CO 4) roots*, Plant Science, 2004, 166:1035–1043.
47. A.K. Shanker, C. Cervantes, H. Loza-Tavera, S. Avudainayagam, *Chromium toxicity in plants*. Environment International 31, 2005, 739– 753.

48. U. Ermler, *Active sites of transition -metal enzymes with a focus on nickel*, Current Opinion in Structural Biology, 1998, 8, 749 – 758.
49. H. Kupper, P. M. H. Kroneck, *In Metal Ions in Life Sciences (Eds: A. Sigel, H. Sigel, R. K. O. Sigel)*, Vol. 2, John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2007, 31 – 62.
50. S. W. Ragsdale, *Nickel biochemistry*, Current Opinion in Chemical Biology, 1998, 2, 208 – 215.
51. S. B. Mulrooney, R. P. Hausinger, *Nickel uptake and utilization by microorganisms*, FEMS Microbiology Reviews, 2003, 27, 239 – 261.
52. T. Maier, A. Jacobi, M. Sauter, A. Bock, *The product of the hypB gene, which is required for nickel incorporation into hydrogenases, is a novel guanine nucleotide protein*, Journal of Bacteriology, 1993, 175, 630 – 635.
53. J. M. Collard, *Plasmids for heavy metal resistance in Alcaligenes eutrophus CH34: Mechanisms and applications*, FEMS Microbiology Reviews, 1994, 14, 405 – 414.
54. I. V. Seregin, A. D. Kozhevnikova, *Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants*, Russian Journal of Plant Physiology, 2006, 53, 257 – 277.
55. T. V. Dan, S. Krishnaraj, P. K. Saxena, *Cadmium and nickel uptake and accumulation in scented Geranium (Pelargonium sp. 'Frensham')*, Water Air & Soil Pollution, 2002, 137, 355 – 364.
56. K. Vogel-Mikus, D. Drobne, M. Regvar, *Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonization of pennycress Thlaspi praecox Wulf. (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia*, Environmental Pollution, 2005, 133, 233–242.
57. D. A. Cataldo, T. R. Garland, R. E. Wildung, *Nickel in plants: I. uptake kinetics using intact soybean seedlings*, Plant Physiology, 1978, 62, 563–565.

58. L. E. Korner, L. M. Moller, P. Jensen, *Effects of Ca^{2+} and other divalent cations on uptake of Ni^{2+} by excised barley roots*, Plant Physiology, 1987, 71, 49–54.
59. L. V. Kochian, in *Micronutrients in Agriculture* (Eds: J. J. Mortvedt), Soil Science Society of America Madison, WI, 1991, 251–270.
60. A. R. Oller, M. Costa, G. Oberdorster, *Carcinogenicity assessment of selected nickel compounds*, Toxicology and Applied Pharmacology, 1997, 143, 152–166.
61. L. Wolfram, B. Friedrich, T. Eitinger, *The *Alcaligenes eutrophus* protein HoxN mediates nickel transport in *Escherichia coli**, Journal of Bacteriology, 1995, 177, 1840–1843.
62. T. Eitinger, M. A. Mandrand-Berthelot, *Nickel transport systems in microorganisms*, Archives of Microbiology, 2000, 173, 1–9.
63. T. Schor-Fumbarov, P. B. Goldsbrough, Z. Adam, E. Tel-Or, *Characterization and expression of a metallothionein gene in the aquatic fern *Azolla filiculoides* under heavy metal stress*, Planta, 2005, 223, 69–76.
64. R. P. Hausinger, *Metallocenter assembly in nickel-containing enzymes*, Journal of Biological Inorganic Chemistry, 1997, 2, 279–286.
65. J. W. Olson, C. Fu, R. J. Maier, *The HypB protein from *Bradyrhizobium japonicum* can store nickel and is required for the nickel-dependent transcriptional regulation of hydrogenase*, Molecular Microbiology, 1997, 24, 119–128.
66. R. K. Watt, P. W. Ludden, *The identification, purification, and characterization of CooJ. A nickel-binding protein that is co-regulated with the Ni-containing CO dehydrogenase from *Rhodospirillum rubrum**, Journal of Biological Chemistry, 1998, 273, 10019–10025.
67. J. R. Peralta-Videa, *Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc at different pHs upon alfalfa growth and heavy metal uptake*, Environmental Pollution, 2002, 119, 291–301.

68. Z. Krupa, A. Siedleka, W. Maksymiec, T. Baszynski, *In vivo response of photosynthetic apparatus of Phaseolus vulgaris L. to nickel toxicity*, Journal of Plant Physiology, 1993, 142, 664–668.
69. P. M. Neumann, A. Chamel, *Comparative phloem mobility of nickel in nonsenescent plants*, Plant Physiology, 1986, 81, 689–691.
70. R. M. Welch, *Micronutrient nutrition of plants*, Critical Reviews in Plant Sciences, 1995, 14, 49–82.
71. J. Fismes, G. Echevarria, E. Leclerc-Cessac, J.L. Morel, *Uptake and transport of radioactive nickel and cadmium into three vegetables after wet aerial contamination*, Journal of Environmental Quality, 2005, 34, 1497–1507.
72. V. Page, L. Weisskopf, U. Feller, *Heavy metals in white lupin: Uptake, root-to-shoot transfer and redistribution within the plant*, New Phytologist, 2006, 171, 329–341.
73. W. E. Rauser, *Structure and function of metal chelators produced by plants – the case for organic acids, amino acids, phytin, and metallothioneins*, Cell Biochemistry and Biophysics, 1999, 31, 19–48.
74. V. Vacchina, *Speciation of nickel in a hyperaccumulating plant by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry and electrospray MS/MS assisted by cloning using yeast complementation*, Analytical Chemistry, 2003, 75, 2740–2745.
75. S. Kim, *Increased nicotianamine biosynthesis confers enhanced tolerance of high levels of metals, in particular nickel, to plants*, Plant and Cell Physiology, 2005, 46, 1809–1818.
76. J. F. Ma, D. Ueno, F. J. Zhao, S. P. McGrath, *Subcellular localisation of Cd and Zn in the leaves of a Cd-hyperaccumulating ecotype of Thlaspi caerulescens*, Planta, 2005, 220, 731–736.
77. K. Pianelli, *Nicotianamine over-accumulation confers resistance to nickel in Arabidopsis thaliana*, Transgenic Research, 2005, 14, 739–748.

78. M. J. Haydon, C. S. Cobbett, *Transporters of ligands for essential metal ions in plants*, New Phytologist, 2007, 174, 499–506.
79. L. Jarup, *Hazards on heavy metal contamination*, British Medical Bulletin, 2003, 68:167-182.
80. A. Duda-Chodak, U. Baszczyk, *The impact of nickel in human health*. Journal of Elementology, 2008, 13(4):685-696.
81. J.J. Hostynek, H.I. Maibach, *Nickel and the skin: absorption, Immunology, Edidimiology and Metallurgy*. Informa Health Care Publishers, 2002.
82. A. Hedfi, E. Mahmoudi, F. Boufahja, H. Beyrem, P. Aissa, *Effects of increasing levels of nickel contamination on structure of offshore nematode communities in experimental microcosms*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2007, 79:345-349.
83. R. Hasinur, S. Shamina, S. Shah, K.W. Shigenao, *Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution*, Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2005, 28:393-404.
84. I.V. Andreeva, V.V. Govorina, S.B. Vinogradova, B.A. Yagodin, *Nickel in plants*, Agrokimiya, 2001, 3:82-94.
85. E.A. Kirkby, V. Romheld, *Micronutrients in plant physiology: Functions, uptake and mobility*, Proceedings No.543, International Fertiliser Society, York, UK, 2004, 1-51.
86. H. Rahman, S. Sabreen, S. Alam, S. Kawai. *Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution*. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2005, 28:393-404.
87. E. Gajewska, M. Sklodowska, M. Slaba, J. Mazur, *Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots*. Plant Biology, 2006, 50(4):653-659.
88. L.S. Di Topi, R. Gabbrielli, *Response to cadmium in higher plants*, Environmental and Experimental Botany, 1999, 41:105-130.

89. A. Schutzedbudel, A. Polle, *Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization*. Journal of Experimental Botany, 2002, 53:1351-1365.
90. P. O'Brian, H.J. Salacinski, *Evidence that the reactions of cadmium in the presence of metallo thionein can produce hydroxyl radicals*, Archives of Toxicology, 2001, 72:690-700.
91. S.J. Stohs, D. Bagchi, E. Hassoun, M. Bagchi, *Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions*, Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology, 2001, (20):77-88.
92. F. Hao, X. Wang, J. Chen, *Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in nickel-induced oxidative stress in roots of wheat seedlings*, Plant Science, 2006, 170:151-158.
93. R. Boominathan, P.M. Doran, *Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, Alyssum bertolonii*. New Phytologist, 2002, 156:205-215.
94. E. Gajewska, M. Sklodowska, *Differential biochemical responses to wheat shoots and roots to nickel stress: Antioxidative reactions and proline accumulation*. Journal of Plant Growth Regulation, 2008, 54:179-188.
95. T. Gaspar, C. Penel, D. Hagega, H. Greppin, *Peroxidases in plant growth, differentiation and development processes*. In: *Biochemical, molecular and physiological aspects of plant peroxidases* (Edited by J. Lobarzewsky, H. Greppin, C. Penel and Th. Gaspar), University of Geneve, Switzerland, 1991, 249-280.
96. P. Kumar, K.R. Tewari, P.N. Sharma. *Excess nickel-induced changes in antioxidative processes in maize leaves*, Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2007, Vol. 170, 6:796-802.
97. M.N.W. Prasad, *Metal-biomolecule complexes in plants: occurrence, functions and applications*. Analisis, 1998, 26:25-28.

98. E.A. Gwozdz, R. Przymusinski, R. Rukinska, J. Deckert. *Plant cell responses to heavy metals: molecular and physiological aspects*. Acta Physiologiae Plantarum, 1997, 19: 459-465.
99. J. Bouayed, T. Bohn, *Exogenous antioxidants. Double-edged swords in cellular redox state*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2010, 3:4, 228-237.
100. M.G. Klotz, P.C. Loewen, *The molecular evolution of catalatic hydroperoxidases: evidence for multiple lateral transfer of genes between prokaryota and from bacteria into eukaryota*. Molecular Biology and Evolution, 2003, 20, 1098-1112.
101. P. Nicholls, I. Fita, P.C. Lowen, *Enzymology and structure of catalases*. Advances in inorganic chemistry, 2000, 51:51-106.
102. P. Vidossich, M. Alfonso-Prieto, X. Carpena, P.C. Loewen, I. Fita, C. Rovira, *Versatility of the Electronic Structure of Compound I in Catalase-Peroxidases*, Journal of the American Chemical Society, 2007, 129: 13436-13446.
103. P. Šrek, M. Hejcman, E. Kunzová, *Multivariate Analysis of Relationship between Potato (Solanum tuberosum L.) Yield, Amount of Applied Elements, their Concentrations in Tubers and Uptake in a Long-Term Fertilizer Experiment*, Field Crops Research, 2010, Vol. 118, 183–193.
104. H. Aboughalma, R. Bi and M. Schlaak, *Electrokinetic Enhancement on Phytoremediation in Zn, Pb, Cu and Cd Contaminated Soil Using Potato Plants*, Journal of Environmental Science and Health Part A, 2008, Vol. 43, 926-933.
105. E. E. Golia, A. Dimirkou, I. K. Mitsios, *Influence of Some Soil Parameters on Heavy Metals Accumulation by Vegetables Grown in Agricultural Soils of Different Soil Orders*, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2008, Vol. 81, 80-84.

106. K. R. Dunbar, M. J. McLaughlin, R. J. Reid, *The uptake and partitioning of cadmium in two cultivars of potato (Solanum tuberosum L.)*, Journal of Experimental Botany, 2003, Vol. 54, No. 381, 349-354.
107. H. J. Albering, S. M. van Leusen, E. J.C. Moonen, J. A. Hoogewerff, J. C.S. Keinjans, *Human Health Risk Assessment: A Case Study Involving Heavy Metal Soil Contamination after the Flooding of the River Meuse during the winter of 1993-1994*, Environmental Health Perspectives, 1999, Vol. 107, No. 1, 37-43.
108. S. Dudka, M. Piotrowskab, H. Terelakb, *Transfer of Cadmium, Lead and Zinc from Industrially Contaminated Soil to Crop Plants: A Field Study*, Environmental Pollution, 1996, Vol. 94, No. 2, 181-188.
109. S. R. Smith, *Effect of Soil pH on Availability to Crops of Metals in Sewage Sludge-Treated Soils, II. Cadmium Uptake by Crops and Implications for Human Dietary Intake*, Environmental Pollution, 1994, Vol. 86, 5-13.
110. B.M. Dahal, M. Fuerhacker, A. Mentler, K.B. Karki, R.R. Shrestha, W.E.H. Blum, *Arsenic Contamination of Soils and Agricultural Plants through Irrigation Water in Nepal*, Environmental Pollution, 2008, Vol. 155, 157-163.
111. P. van Lune, K.B. Zwart, *Cadmium Uptake by Crops from the Subsoil*, Plant and Soil, 1997, Vol. 189, 231-237.
112. W. van Driel, B. van Luit, K.W. Smilde, W. Schuurmans, *Heavy-Metal Uptake by Crops from Polluted River Sediments Covered by non-Polluted Topsoil*, Plant and Soil, 1995, Vol. 175, 93-104.
113. A. Kr. Ghosh, M. A. Bhatt, H. P. Agrawal, *Effect of Long-Term Application of Treated Sewage Water on Heavy Metal Accumulation in Vegetables Grown in Northern India*, Environmental Monitoring and Assessment, 2012, Vol. 184, 1025-1036.
114. P. Šrek, M. Hejcman, E. Kunzová, *Effect of Long-Term Cattle Slurry and Mineral N, P and K Application on Concentrations of N, P,*

- K, Ca, Mg, As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in Peeled Potato Tubers and Peels*, Plant Soil and Environment, 2012, Vol. 58, No. 4, 167-173.
115. M. Economou-Eliopoulos, D. Antivachi, Ch. Vasilatos, I. Megremi, *Evaluation of the Cr(VI) and Other Toxic Element Contamination and Their Potential Sources: The Case of the Thiva Basin (Greece)*, Geoscience Frontiers, 2012, Vol. 3, No. 4, 523-539.
116. C. G. Kirkillis, I. N. Pasias, S. Miniadis-Meimaroglou, N. S. Thomaidis, I. Zabetakis, *Concentration Levels of Trace Elements in Carrots, Onions, and Potatoes Cultivated in Asopos Region, Central Greece*, Analytical Letters, 2012, Vol. 45, 551-562.
117. M. Arora, B. Kiran, S. Rani, A. Rani, B. Kaur, N. Mittal, *Heavy Metal Accumulation in Vegetables Irrigated with Water from Different Sources*, Food Chemistry, 2008, Vol. 111, 811-815.
118. S. Ebbs, J. Talbott, R. Sankaran, *Cultivation of Garden Vegetables in Peoria Pool Sediments from the Illinois River: A Case Study in Trace Element Accumulation and Dietary Exposures*, Environment International, 2006, Vol. 32, 766-774.
119. A. Pendergrass, D. J. Butcher, *Uptake of Lead and Arsenic in Food Plants Grown in Contaminated Soil from Barber Orchard, NC*, Microchemical Journal, 2006, Vol. 83, 14-16.
120. K. Bunzl, M. Trautmannsheimer, P. Schramel, W. Reifenhäuser, *Availability of Arsenic, Copper, Lead, Thallium, and Zinc to Various Vegetables Grown in Slag-Contaminated Soils*, Journal of Environmental Quality, 2001, Vol. 30, No. 3, 934-939.
121. P. A. Biacs, H. G. Daood, I. Kadar, *Effect of Mo, Se, Zn, and Cr Treatments on the Yield, Element Concentration, and Carotenoid Content of Carrot*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, Vol. 43, No. 3, 589-591.
122. E.E. Santos, D.C. Lauria, C.L. Porto da Silveira, *Assessment of daily intake of trace elements due to consumption of foodstuffs by adult*

- inhabitants of Rio de Janeiro city*, Science of the Total Environment, 2004, 327, 69-79.
123. Ş. Tokalioğlu, Ş. Kartal, A. Gültekin, *Investigation of heavy-metal uptake by vegetables growing in contaminated soils using the modified BCR sequential extraction method*. Intern. Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2006, 86, 417-430.
124. M.S. Bratakos, E.S. Lazos, S.M. Bratakos, *Chromium content of selected Greek foods*, Science of the Total Environment, 2002, 290, 47-58.
125. L.A. Tabaldi, D. Cargnelutti, J.F. Goncalves, L.B. Pereira, G.Y. Castro, J. Maldaner, R. Rauber, L.V. Rossato, D.A. Bisognin, M.R.C. Schetinger, F.T. Nicoloso, *Oxidative stress is an early symptom triggered by aluminum in Al-sensitive potato plantlets*, Chemosphere, 2002, 76: 1402-1409.
126. J.F. Goncalves, L.A. Tabaldi, D. Cargnelutti, L.B. Pereira, J. Maldaner, A.G. Becker, L.V. Rossato, R. Rauber, M.D. Bagatini, D.A. Bisognin, M.R.C. Schetinger, F.T. Nicoloso, *Cadmium-induced oxidative stress in two potato cultivars*, Biometals, 2009, 22: 779-792.
127. J.F. Goncalves, F. Goldschmidt Antes, J. Maldaner, L.B. Pereira, L.A. Tabaldi, R. Rauber, L.V. Rossato, D.A. Bisognin, V.L. Dressler, E.M.M. Flores, F.T. Nicoloso, *Cadmium and mineral nutrient accumulation in potato plantlets grown under cadmium stress in two different experimental culture conditions*, Plant Physiology and Biochemistry, 2009, 47:814-821.
128. A. Stroinski, M. Kozłowska, *Cadmium-induced oxidative stress in potato tuber*, Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 1997, 66:189-195.
129. R. Shukla, R. Gopal, *Excess Nickel Alters Growth, Metabolism, and Translocation of Certain Nutrients in Potato*, Journal of Plant Nutrition, 2009, 32: 1005-1014.

130. R.A. Shibli, K.I. Ereifej, N.S. Karam, *Response of in vitro cultures of potato, tomato, apple rootstock, and bitter almond to a culture medium supplemented with municipal solid waste*, Journal of Plant Nutrition, 1999, 22: 1519-1527.
131. J. Rank, M.H. Nielsen, *Evaluation of the Allium anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening in industrial wastewater*, Mutation Research, 1994, 312:17-24.
132. F.R. Espinoza-Quinones, N. Szymanski, S.M. Palacio, A.N. Modenes, M.A. Rizzutto, F.G. Silva Jr., A.P. Oliveira, A.C.P. Oro, N. Martin, *Inhibition effect on the Allium cepa L. root growth when using hexavalent chromium - doped river waters*, The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2009, 82: 767-771.
133. M.B. Arambasic, S. Bjelic, G. Subakov, *Acute toxicity of heavy metals (copper, lead, zinc) phenol and sodium on Allium cepa L., Lepidium sativum L., and Daphnia magna St.: comparative investigations and the practical applications*, Water Research, 1995, 29: 497-503.
134. R. Geremias, D. Fattorini, V.T.D. Fávere, R.C. Pedrosa *Bioaccumulation and toxic effects of copper in common onion Allium cepa L.* Journal of Chemical Ecology, 2010, 26:1, 19-26.
135. S.M. Palacio, F.R. Espinoza-Quinones, R.M. Galante, D.C. Zenatti, A.A. Seolatto, E.K. Lorenz, C.E. Zacarkim, N. Rossi, De Almeida Rizzutto, M.H. Tabacnics, *Correlation between heavy metal ions (copper, zinc, lead) concentrations and root length of Allium cepa L. in polluted river water*, Brazilian Archives of Biology and Technology, 2005, 48: 191-196.
136. M. Yildiz, I.H. Cigerci, M. Konuk, A.F. Fidan, H. Terzi, *Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in Allium cepa root cells by chromosome aberration and comet assays*, Chemosphere, 2009, 75: 934-938.

137. D. Liu, W. Jiang, C. Lu, F. Zhao, Y. Hao, L. Guo, *Effects of copper sulfate on the nucleolus of Allium cepa root-tip cells*, Hereditas, 1994, 120: 87-90.
138. J. Rank, M.H. Nielsen, *Genotoxicity testing of wastewater sludge using the Allium cepa anaphase-telophase chromosome aberration assay*, Mutation Research, 1998, 418: 113-119.
139. T. Bortolotto, J.B. Bertoldo, F.D.Z. Silveira, T.M. Defaveri, J. Silvano, C.T. Pich, *Evaluation of the toxic and genotoxic potential of landfill leachates using bioassays*, Environmental Toxicology and Pharmacology, 2009, 28: 288-293.
140. R. Srivastava, D. Kumar, S.K. Gupta, *Bioremediation of municipal sludge by vermitechnology and toxicity assessment by Allium cepa*, Bioresource Technology, 2005, 96: 1867-1871.
141. R. Chakraborty, A.K. Mukherjee, A. Mukherjee, *Evaluation of genotoxicity of coal fly ash in Allium cepa root cells by combining comet assay with the Allium test*, Environmental Monitoring and Assessment, 2009, 153: 351-357.
142. R. Geremias, V.T.D. Fevere, R.C. Pedrosa, D. Fattorini, *Bioaccumulation and adverse effects of trace metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in the common onion Allium cepa as a model in ecotoxicological bioassays*, Journal of Chemical Ecology, 2011, 27:6, 515-522.
143. A.K. Gupta, M. Ahmad, *Study of the effect of refinery wastewater exposure on Allium cepa's enzymatic antioxidant defense: probing potential biomarkers*, Toxicological and Environmental Chemistry, 2011, 93:6, 1166-1179.
144. R. Geremias, T. Bortolotto, D. Wilhelm-Filho, R.C. Pedrosa, V.T.D. Fevere, *Efficacy assessment of acid mine drainage treatment with coal mining waste using Allium cepa L. as a bioindicator*, Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 79: 116-121.

145. V.M.M. Achary, S. Jena, K.K. Panda, B.B. Panda, *Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of Allium Cepa L.* Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 70: 300-310.
146. R.A. Fatima, M. Ahmad, *Certain antioxidant enzymes of Allium cepa as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater*, Science of the Total Environment, 2005, 346: 256-273.
147. A.V. Subhadra, A.K. Nanda, B.K. Behera, B.B. Panda, *Acceleration of catalase and peroxidase activities in Lemna minor L. and Allium cepa L., in response to low levels of aquatic mercury*, Environmental Pollution, 1991, 69: 169-179.
148. B. Dube, Pratima Sinha, C. Chatterjee, *Assessment of Disturbances in Growth and Physiology of Carrot Caused by Chromium Stress*, Journal of Plant Nutrition, 2009, 32: 479–488.
149. R.K. Sharma, M. Agrawal, F. Marshal, *Heavy metals in vegetables collected from production and market sites of a tropical urban area of India*, Food and Chemical Toxicology, 2009, 47, 583-591.
150. M.I. Zaidi, A. Asrar, A. Mansoor, M.A. Farooqui, *The heavy metal concentrations along roadside trees of Quetta and its effects on public health*, Journal of Applied Sciences, 2005, 5(4), 798-811.
151. M.A. Oliver, *Soil and human health: a review*. European Journal of Soil Science, 1997, 48, 573-592.
152. S. Syamala, *Water quality and epidemiological studies on seriously affected waterways and water bodies*, Technical Report, Phase-III, 6/APPCB/legal/AP/1998-99, Andhra Pradesh Pollution Control Board (APPCB) by the Institute of Preventive Medicine, Hyderabad, India, 1999.
153. E. Denkhaus E, K. Salnikow, *Nickel essentiality, toxicity and carcinogenicity*, Critical Reviews in Oncology/Hematology, 2002, 42, 35–56.

154. U.S. Department of health and human services, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, *Toxicological profile for nickel*, 2005, 32.
155. The EFSA Journal, *Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the Tolerable Upper Intake Level of Nickel* (Request N° EFSA-Q-2003-018), 2005, 146, 1-21.
156. A.M. Zayed, N. Terry, *Chromium in the environment: factors affecting biological remediation*. Plant and Soil, 2003, 249, 139–156.
157. M.D. Stout, R.A. Herbert, G.E. Kissling, B.J. Collins, G. S. Travlos, K.L. Witt, R.L. Melnick, K.M. Abdo, D.E. Malarkey, M.J. Hooth, *Hexavalent chromium is carcinogenic to F344/N Rats and B6C3F1 mice after chronic oral exposure*, National Toxicology Program, National Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Research Triangle Park, North Carolina, USA, Environmental Health Perspectives, 2009, 117(5), 716-722.
158. WHO, INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 100, A Review of Human Carcinogens Part C: Arsenic, Metals, Fibres, and Dusts*, 2001, 147-168.
159. J.D. Zhang, X.L. Li, *Chromium pollution of soil and water in Jinzhou. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*, 1987, 21, 5, 262-264. [translated from Chinese].
160. E. Flemotomou, T. Molyviatis, I. Zabetakis, *The effect of trace elements accumulation on the levels of secondary metabolites and antioxidant activity in carrots, onions and potatoes*, Food and Nutrition Sciences, 2011, 2:1071-1076.
161. K. Kanaki, S. Pergantis, *HPLC-ICP-MS and HPLC-ES-MS/MS characterization of synthetic seleno-arsenic compounds*, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2007, 387(8), 2617-2622.

162. W.G. Gee, J.W. Boudier, *Particle size analysis*. In: Klute, A.(Ed.), *Methods of Soil Analysis*, American Society of Agronomy, Madison, WI, 1986, 383-411.
163. L.E. Allison, *Organic carbon*. In: Klute, A (Ed.), *Methods of Soil Analysis*, Part I. American Society of Agronomy, Madison, WI, 1986, 1367-1381.
164. H. Abdi, *Bonferroni and Sidak corrections for multiple comparisons*, In N.J. Salkind (ed.). *Encyclopedia of Measurement and Statistics*. Thousand Oaks, CA: Sage, 2007.
165. B.K. Singh, S.R. Sharma, B. Singh, *Antioxidant enzymes in cabbage: Variability and inheritance of superoxide dismutase, peroxidase and catalase*, *Scientia Horticulturae*, 2010, 124:9-13.
166. H. Aebi, *Catalase in vitro*, *Methods in Enzymology* 1984, 105: 121-126.
167. F. Castillo, C. Penel, H. Greppin, *Peroxidase release induced by Ozone in Sedum album leaves*, *Journal of Plant Physiology*, 1984, 74: 846-851.
168. N. Surdyk, L. Cary, S. Blagojevic, Z. Jovanovic, R. Stikic, B. Vucelic-Radovic, B. Zarcovic, L. Sandei, M. Pettenati, W. Kloppmann, *Impact of irrigation with treated low quality water on the heavy metal contents of a soil-crop system in Serbia*, *Agricultural Water Management*, 2010, 98, 451-457.
169. Μ. Κωστάκης, *Ανάπτυξη και Επικύρωση Μεθόδων Προσδιορισμού Εξασθενούς Χρωμίου σε Τρόφιμα και Χώμα*, Μεταπτυχιακή διπλωματική Εργασία, 2012, Τμήμα Χημείας ΕΚΠΑ, Αθήνα.
170. B.Novotnic, T.Zuliani, J. Scancar, R.Milacic, *Chromate in food samples: an artefact of wrongly applied analytical methodology?*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2013, 28 :558-566

171. Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. *Αναλύσεις δειγμάτων σε κηπευτικά της περιοχής Βοιωτίας για εντοπισμό βαρέων μετάλλων*, Δελτίο Τύπου 11-2-2011.
172. Data Food Network (DAFNE), 2004.
<http://www.nut.uoa.gr/dafnesoftweb/>
173. J. Wittsiepe, K. Schnell, A. Hilbig, P. Schrey, M. Kersting, M. Wilhelm, *Dietary intake of nickel and zinc by young children – Results from food duplicate portion measurements in comparison to data calculated from dietary records and available data on levels in food groups*. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 2009, 23: 183–194.
174. K. Hughes, M. E. Meek, P. K. L. Chan, J. Shedden, S. Bartlett, L. J. Seed, *Nickel and its compounds: evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada*, Journal of Environmental Science and Health, Part C 1994, 12: 417–433.
175. U.S. EPA, *Quantification of Toxicologic Effects for Nickel*, Prepared by the Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office, Cincinnati, OH for the Office of Water, Office of Science and Technology, Washington, DC, 1991.
176. FAO/WHO, *Summary and conclusions performed by Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. In: 50th Meeting, Rome, 15–19 June 1999. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
177. FAO/WHO, *Inventory of substances used as processing AIDS (IPA), updated list performed by joint FAO-WHO food standards programme codex committee on food additives*, In : 42nd Session, Beijing, March 2010. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
178. National Research Council (NRC), *Recommended dietary allowances*, 10th ed. National Research Council. Washington, DC: Academic Press, 1989.

179. U.S. EPA, *Toxicological review of trivalent chromium* (CAS No. 16065-83-1), in Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS), Washington, DC, 1988.
180. Expert Group on Vitamins and Minerals of Food Standards Agency, United Kingdom, *Safe Upper Levels for Vitamins and Minerals*, May 2003.
181. U.S. EPA, *Toxicological review of hexavalent chromium* (CAS No. 18540-29-9), in Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS), Washington, DC, 1998.
182. U.S. EPA, *Toxicological review of hexavalent chromium* (CAS No. 18540-29-9), in Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). Washington, DC (Draft Document), 2010.
183. M. Cempel, G. Nikel, *Nickel: a review of its sources and environmental toxicology*, Polish Journal of Environmental Studies, 2006, 15(3): 375–382.
184. Κοινή Υπουργική Απόφαση Υ2/2600/2001 (ΦΕΚ-892 Β'/11-7-01), *Ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης, σε συμμόρφωση προς την οδηγία 98/83/ΕΚ του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης της 3ης Νοεμβρίου 1998*.
185. L. Aurand, A. Woods, *The vitamins in food chemistry*, The AVI Publishing Co, Inc, Westport, Connecticut, 1973, 212-213.