



**TALAJOK MINTAVÉTELÉNEK, ILLETVE MINTA-  
HOMOGENIZÁLÁSÁNAK MÉRÉSI BIZONYTALANSÁG  
BECSLÉSE NÖVÉNYVÉDŐSZER-MARADÉKOK  
MEGHATÁROZÁSÁHOZ**

Egyetemi doktori (PhD) értekezés

A szerző neve: Kötelesné Suszter Gabriella

Témavezető neve: Dr. habil. Lakatos Gyula

Társ-témavezető: Prof. Dr. Ambrus Árpád

DEBRECENI EGYETEM  
Természettudományi Doktori Tanács  
Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola  
Debrecen, 2017.

*Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi Doktori Tanács **Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola Környezetanalitika és alkalmazott ökológia** programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.*

*Debrecen, 2017.....*

*a jelölt aláírása*

*Tanúsítom, hogy **Kötelesné Suszter Gabriella** doktorjelölt 2003- 2017 között a fent megnevezett Doktori Iskola **Környezetanalitikai és alkalmazott ökológiai** programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javasolom.*

*Debrecen, 2017.....*

*a témavezető aláírása*

*Tanúsítom, hogy **Kötelesné Suszter Gabriella** doktorjelölt 2003- 2017 között a fent megnevezett Doktori Iskola **Környezetanalitikai és alkalmazott ökológiai** programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javasolom.*

*Debrecen, 2017.....*

*a társ-témavezető aláírása*

## A doktori értekezés betélapja

### TALAJOK MINTAVÉTELÉNEK ILLETVE MINTA-HOMOGENIZÁLÁSÁNAK MÉRÉSI BIZONYTALANSÁG BECSLÉSE NÖVÉNYVÉDŐSZER-MARADÉKOK MEGHATÁROZÁSÁHOZ

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében  
a Természettudományi tudományágban

Írta: **Kötelesné Suszter Gabriella** okleveles környezetvédelmi és műszeres  
analitikai szakvegyész, környezetvédelmi ökológus

Készült a Debreceni Egyetem **Juhász-Nagy Pál doktori iskolája**  
(**Környezetanalitikai és alkalmazott ökológiai** programja) keretében

Témavezető: Dr. Lakatos Gyula .....

Társ-témavezető: Dr. Prof. Ambrus Árpád .....

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr. Posta József .....

tagok: Dr. Simon László .....

Dr. Vasas Gábor .....

A doktori szigorlat időpontja: 2016. július 6.

Az értekezés bírálói:

Dr. Bácsi István .....

Solymosné Dr. Majzik Etelka .....

A bírálóbizottság:

elnök: .....

tagok: .....

.....

.....

.....

Az értekezés védésének időpontja: 2017. ....

# Tartalomjegyzék

1.	Bevezetés.....	1
2.	Célkitűzés.....	2
3.	Irodalmi áttekintés.....	3
3.1	A talajok növényvédőszer-maradék szennyezettségének forrásai és a szermaradék terhelés vizsgálatának szükségessége.....	3
3.2	A <sup>14</sup> C-jelzett vegyületek alkalmazása a növényvédőszer-maradékok tulajdonságainak vizsgálatában.....	4
3.3	A mérési eredmények megbízhatóságát befolyásoló tényezők.....	5
3.4	A növényvédőszer-maradékok eloszlása.....	5
3.5	Talajok mintavétele és a mintavétel bizonytalansága.....	7
3.6	A talajminta-homogenizálás bizonytalanságának meghatározása.....	9
3.7	A szermaradékok kinyerése az analitikai mintahányadból.....	13
3.8	A szermaradék vizsgálati módszerek validálási irányelvei.....	15
4.	Anyag és módszer (Kísérleti rész).....	18
4.1	Felhasznált tesztanyagok és vegyületek.....	18
4.1.1	Alkalmazott minták.....	18
4.1.2	Alkalmazott vegyszerek.....	20
4.1.3	Alkalmazott analitikai sztenderdek.....	20
4.1.4	Felhasznált eszközök.....	22
4.1.5	A fő kutatási területekhez alkalmazott anyagok áttekintése.....	23
4.2	A kísérlethez felhasznált talajok mintavétele.....	24
4.2.1	Kezeletlen (vak) talajminták vétele.....	24
4.2.2	Mintavétel eloszlásvizsgálathoz.....	24
4.3	A minták szárazanyag-tartalmának meghatározása.....	26
4.4	A minta-homogenizálás véletlen hibájának meghatározása <sup>14</sup> C-atrazin felhasználásával.....	27
4.4.1	Az alkalmazott módszerek bemutatása.....	27
4.4.2	A talajminták kezelése <sup>14</sup> C-atrazin oldattal.....	30
4.4.3	Az alkalmazott minta-homogenizálási módszerek.....	32
4.4.4	Az extrakcióra kerülő mintarészek (analitikai mintahányadok) elkülönítése a homogenizált mintákból.....	33

4.4.5	Az analitikai mintahányadok extrakciója .....	35
4.4.6	A mintavételi állandó ( $K_S$ ) meghatározása .....	35
4.5	Az extrakció reprodukálhatóságának meghatározása .....	39
4.6	Az extrakció hatékonyságának vizsgálata .....	40
4.7	Az optimalizált analitikai módszer leírása és validálása.....	43
4.8	Az egyes talajfuratok szermaradék tartalmának meghatározása .....	48
4.9	Szermaradékok eloszlásának vizsgálata és a mintavétel hibájának meghatározása .....	49
5.	Eredmények ismertetése és értékelése .....	50
5.1	A minták szárazanyag-tartalma.....	50
5.2	Az extrakció reprodukálhatóságának ( $CV_E$ ) meghatározása.....	50
5.3	A minta-homogenizálás véletlen hibájának meghatározása $^{14}\text{C}$ - atrazin felhasználásával.....	52
5.3.1	A hagyományos kézzel történő homogenizálás eredményeinek értékelése .....	52
5.3.2	Az őrlés alkalmazhatóságának értékelése.....	55
5.3.3	A szárazjég hozzáadásával történő homogenizálás hatékonyságának értékelése .....	56
5.3.4	A desztillált víz hozzáadásával végzett minta-homogenizálás hatékonysága .....	58
5.3.5	A minta-homogenizálás bizonytalanságának becslése .....	59
5.4	A talajhoz kötött növényvédőszer-maradékok extrakciója hatékonyságának a vizsgálata.....	61
5.4.1	Az extrakció optimális idejének meghatározása .....	61
5.4.2	Az optimális extraháló szer kiválasztása .....	63
5.4.3	Az optimalizált extrakciós módszer .....	63
5.4.4	A talajban maradt kiextrahálatlan anyagok vizsgálata .....	64
5.4.5	Az optimált extrakciós módszer alkalmazhatósága növényvédőszer-maradékok meghatározására talajban .....	66
5.5	A mért szermaradékok eloszlása és a mintavétel hibájának becslése.....	69
5.5.1	Belső minőségbiztosítási minták értékelése .....	69
5.5.2	A vizsgálati eredmények értékelése .....	70
6.	Új tudományos eredmények összefoglalása.....	80

7.	Összefoglalás.....	83
8.	Summary .....	86
9.	Köszönetnyilvánítás .....	89
10.	Irodalomjegyzék.....	90
10.1	Az értekezésben hivatkozott publikációk jegyzéke .....	90
10.2	A jelölt tudományos tevékenységének jegyzéke .....	103
10.2.1	Az értekezés témakörében megjelent vagy közlésre elfogadott impaktos publikációk jegyzéke .....	103
10.2.2	Az értekezés témakörében megjelent egyéb közlemények jegyzéke.....	103
10.2.3	Egyéb közlemények jegyzéke .....	104
11.	A dolgozatban használt rövidítések jegyzéke .....	106
12.	Függelék .....	107
	<i>F1. táblázat: A minta-homogenizálás véletlen hibájának meghatározását célzó vizsgálat adatainak rögzítéséhez szolgáló Excel sablon bemutatása.....</i>	107
	<i>F2. táblázat: A linearitás vizsgálatához használt kalibráló oldatok pontos koncentrációja (ng/ml) .....</i>	109
	Függelék 1. ábra. Az egyes mintavételi pontok elhelyezkedése a mintázott területeken.....	110
	Függelék 2. ábra. Egy SST (System Suitability Test) kromatogram .....	111
	Függelék 3. ábra. A módszer linearitásának bemutatása néhány példán keresztül.....	112

# 1. Bevezetés

A növekvő népesség, a szántóföldek csökkenő területe, illetve a globális felmelegedés következtében egyre szélsőségesebbé váló időjárás hatására a növényvédő szerek felhasználása a 21. században tovább növekedett (FAOSTAT, 2016). Ez növekvő környezeti terhelést is jelent, ezért kiemelten fontos, hogy az ökológiai rendszerek egyensúlya hosszútávon fenntartható legyen, amihez a növényvédő szerek környezetre gyakorolt hatásának minél pontosabb ismerete szükséges.

A talajok növényvédőszer-maradék szennyezettségének ismerete, megbízható talajvizsgálati eredmények alapján, számos területen szükséges.

Például:

- a talaj és élő szervezetei kölcsönhatásának elemzése,
- a várható hatások modellezése,
- a szükséges talajvédelmi intézkedések megtétele.

A helyesen végrehajtott mintavétel egyaránt fontos például a talajok tápanyag és kémiai szennyezőanyagok eloszlásának (PROKISCH et al., 2007), a pontszerű környezeti szennyezés helyszínéről az árterületre kerülő nehézfémek koncentrációjának (PROKISCH et al., 2009) a vizsgálatánál is.

A mért szermaradék koncentráció értelmezéséhez szükség van a mérési eredmény kombinált bizonytalanságának ismeretére, mely magában foglalja a mintavétel bizonytalanságát is.

Az analitikai vizsgálati eredmények ( $R$ ) szóródását a várható érték körül számos tényező befolyásolja. Ezek közül a fő összetevők a mintavétel ( $CV_S$ ), mintaméret csökkentés ( $CV_{SS}$ ), minta-homogenizálás ( $CV_{Sp}$ ) és az analízis ( $CV_A$ ) véletlen hibája. A kapott eredmény relatív szórását, a hibaterjedés általános törvényének megfelelően, az alábbi összefüggéssel írhatjuk le:

$$CV_R = \sqrt{CV_S^2 + CV_{SS}^2 + CV_{Sp}^2 + CV_A^2} \quad (1)$$

A mintavétel bizonytalanságára, illetve a növényvédőszer-maradékok eloszlására növényi minták esetében számos irodalmi adattal rendelkezünk, talajokra viszont alig van adat.

## 2. Célkitűzés

Kutatómunkám során az alábbi, elméleti és gyakorlati szempontból egyaránt fontos célokat fogalmaztam meg:

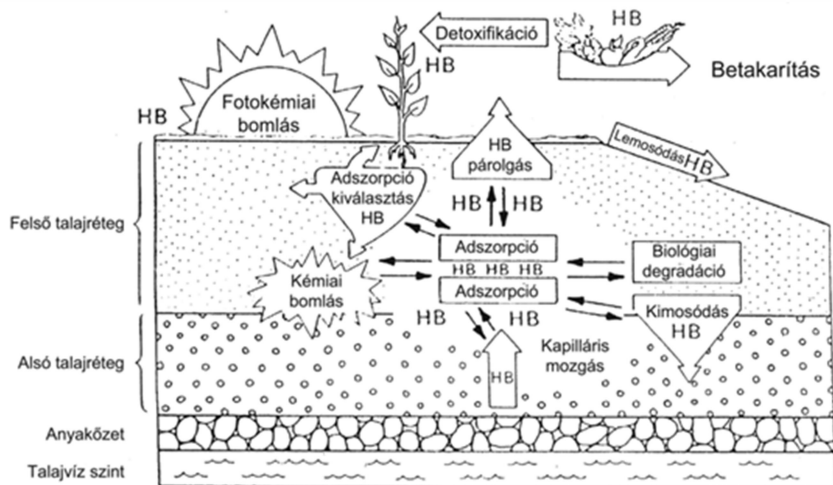
1. megbecsülni a talajok növényvédőszer-maradék tartalmának meghatározásánál alkalmazott minta-homogenizálási módszerek hatékonyságát a triazin gyűrűn  $^{14}\text{C}$ -jelzett atrazin modell vegyület alkalmazásával;
2. meghatározni a növényvédőszer-maradék vizsgálatokban leggyakrabban alkalmazott oldószerekkel végzett extrakció reprodukálhatóságát  $^{14}\text{C}$ -gyel jelzett különböző kémiai szerkezetű növényvédőszer-maradékok és fizikai-kémiai tulajdonságú talajok esetén;
3. validálni az optimalizált extrakciós módszert az érvényben lévő minőségbiztosítási előírásoknak megfelelően, illetve  $^{14}\text{C}$ -gyel jelzett növényvédő szer hatóanyagokkal kezelt és 6 hónapig érlelt talajminták felhasználásával meghatározni az extrakció hatékonyságát;
4. meghatározni 2 normál mezőgazdasági gyakorlat szerint művelt terület felső 15 cm-es rétegéből vett 5 cm átmérőjű talajminták vizsgálatával a növényvédőszer-maradékok eloszlását a kezelt területeken. A modellterületekről származó 120-130 elemi minta (talajfurat) szermaradék tartalma alkotta alapsokaságokból ismételt véletlen visszatevéses mintavételi eljárással vett 10 és 25 elemű összetett minta átlagos szermaradék koncentrációja alapján modellezni a talajok szermaradék tartalmának mintavételi bizonytalanságát;
5. összehasonlítani a talajfuratok (elemi minták) növényvédőszer-maradék tartalmának relatív gyakorisági eloszlását a növényi elemi minták szermaradék tartalmának eloszlásával, azzal a céllal, hogy megállapítsam, alkalmazhatók-e a sok ezer vizsgálaton alapuló növényi mintavételek alapján meghatározott mintavételi bizonytalanságok a korlátozott számú talajvizsgálati eredmény kiegészítésére a talajok mintavételi bizonytalanságának becslésére;
6. javaslatot tenni a talajból vett összetett minta optimális elemszámára a mért szermaradék összetett bizonytalanságát befolyásoló tényezők alapján.



### 3. Irodalmi áttekintés

#### 3.1 A talajok növényvédőszer-maradék szennyezettségének forrásai és a szermaradék terhelés vizsgálatának szükségessége

A talaj és a növényvédő szerek közötti kapcsolat igen összetett és bonyolult. A növényvédő szerek sorsát a környezetben különböző egymásra ható kémiai, biológiai és fizikai folyamatokkal lehet leírni (1. ábra): ilyenek például a felületi lemosódás (RITTER, et al., 1974; WAUCHOPE, 1978; LEONARD, 1990; FERENCZI, et al., 2002), a talajvíz szennyeződése (AHARONSON, 1987), kölcsönhatásuk a talajrészecskékkel, adszorpció és mobilitás (SALAH, et al., 1997; UNSWORTH, et al., 1999; HUGGENBERGER, et al., 1973; RAJAGOPAL, et al., 1984), a növények, illetve a talajvíz talajrészecskékhez kötött szermaradékokhoz való hozzáférhetősége (KHAN, 1982; ROBERTS, 1984; KRAMMER, et al., 1999; GEVAO, et al., 2000), a növényvédő szerek nagy távolságokra történő elsodródása (UNSWORTH, et al., 1999), a kémiai (BAVCON, et al., 2003; KODAKA, et al., 2003) és biológiai degradációs folyamatok (MATSUMURA, 1982; FENNER, et al., 2013).



1. ábra. A gyomirtó szerekre érő hatások a környezetben (WEBER, 1973)

A talaj nem képes korlátlanul megújulni, ezért épségére fokozottan vigyázni kell. A növényvédő szerek fenntartható használatának feltétele, hogy a talaj mikrobiális rendszerének egyensúlya hosszútávon is megmaradjon. A talajban élő mikrobákra (baktériumok, gombák, algák) a

különböző növényvédő szerek eltérő hatással vannak: egyesek elpusztulnak, vagy számuk drasztikusan lecsökken (DUAH-YENTUMI & JOHNSON, 1986), másokra serkentőleg hathatnak, vagy épp a kijuttatásuk következtében elpusztult élő szervezetek maradványainak elfogyasztása következtében szaporodnak fel (CERVELLI, et al., 1978). A hatás mértéke függ a kijuttatott szer típusától, koncentrációjától, illetve a talaj mikrobiális összetételétől (MOORMAN, 2013).

A környezeti hatások vizsgálatán és a környezetvédő alkalmazási technológiák kialakításán túlmenően, külön figyelmet kell fordítani a növényvédő szerrel kezelt területeken termelt növények talajból felvett szermaradék tartalmára. Forgalomba kerültek alacsony toxicitású, de viszonylag perzisztens növényvédő szerek (pl. acetoklór, aminociklopiraklór benzovindiflupir, klorantraniliprol, fenamidon, klórtalonil, boscalid (FAO, 2014), melyek ismételt kezelést követően a talajban feldúsulnak, és 4-5 év múlva érik el a maximális szermaradék koncentrációt. Így később a kezelt területen termesztett egyéb növényekben mérhető, esetenként az engedélyezett határértéket meghaladó koncentrációban, illetve nem engedélyezett szermaradékként lehetnek jelen.

### **3.2 A $^{14}\text{C}$ -jelzett vegyületek alkalmazása a növényvédőszer-maradékok tulajdonságainak vizsgálatában**

A növényvédő szerek engedélyezését megelőző toxikológiai, állati és növényi metabolizmus és környezeti hatásvizsgálatokhoz az esetek döntő többségében  $^{14}\text{C}$ -jelzett molekulákat alkalmaznak (FAO, 2016). A kísérleti eredmények összefoglalása és értékelése a FAO-WHO Szakértői Munkacsoport ülés évente kiadott értékeléseiben található (FAO, 1991-2016).

A radioaktivitást folyadék szcintillációs számlálóval (LSC), illetve vékonyréteg kromatográfias lapok kiértékelésére alkalmas detektorokkal mérik. Az LSC kis áthatoló képességű sugárzások ( $\beta$ ,  $\alpha$ , lágy  $\gamma$ ) mérésére alkalmas módszer, melynek alkalmazására a növényvédő szerek vizsgálatára számos egyéb példát találunk az irodalomban. Jablonowski és munkatársai (JABLONOWSKI, et al., 2012)  $^{14}\text{C}$ -vel jelzett etidimuron, metabenzthiazuron, anilazin tartalmú készítményekkel kezelt talajokban 9-17 éven keresztül vizsgálták az egyes komponensek kiürülését.

A növényvédő szerek engedélyezéséhez benyújtandó adatok között szereplő (EK, 2013) liziméteres vizsgálatoknál is  $^{14}\text{C}$ -jelzett hatóanyagokat alkalmaznak a növényvédő szerek bomlásdinamikájának, kimosódásának stb. nyomon követésére.

<sup>14</sup>C-jelzett modellvegyületeket többen alkalmazták a minta-homogenizálás (MAESTRONI, et al., 2000; TIRYAKI & BAYSOYU, 2006) valamint az extrakció hatékonyságának a vizsgálatára (OECD, 2007).

### 3.3 A mérési eredmények megbízhatóságát befolyásoló tényezők

A laborok nagy többsége nem fektet kellő hangsúlyt a minta-homogenizálás hatékonyságának ellenőrzésére, pedig, ha a kivett mintarész nem reprezentálja a teljes laboratóriumi mintát, illetve a laboratóriumi minta nem reprezentálja a mintázott terület szermaradék tartalmát, akkor a kapott eredmény teljesen megbízhatatlan és félrevezető lehet.

Az első kérdés az, hogy a minták kellően reprezentálják-e az adott területet, alkalmasak-e az adott vizsgálati céltól függő következtetések levonására? A növényvédő szerek engedélyezését megelőző kísérletek fontos részét képezik az úgynevezett „szerkísérletek”, melyek során a szigorúan ellenőrzött körülmények között végrehajtott növényvédő-szeres kezeléseket követően általában egy, esetleg két összetett mintát vesznek, és azok analízisének eredményeiből ítélik meg a célzott alkalmazási körülmények között termelt emberi fogyasztásra kerülő növényi részek vagy takarmányok felhasználásának élelmiszerbiztonságra gyakorolt hatását (AMBRUS, 2016).

A mért szermaradék koncentráció értelmezéséhez szükség van a mérési eredmény pontosságának és kombinált bizonytalanságának az ismeretére, mely magában foglalja a mintavétel bizonytalanságát is. A vizsgálati eredmény relatív véletlen hibáját ( $CV_R$ ) a hibaterjedés törvénye alapján az 1. egyenlet írja le (AMBRUS, 1996). Az egyenlet minden komponense ( $CV_S$ ;  $CV_{SS}$ ;  $CV_{Sp}$ , és  $CV_A$ ) szükség esetén további részekre bontható. Így az egyenlet tovább bővíthető, amennyiben ismert az egyes részműveletek bizonytalansága. A vizsgálati módszer egyes lépései bizonytalanságának ismerete azért is fontos, mert ha tisztában vagyunk az alkalmazott módszer „leggyengébb láncszemével”, akkor annak módosításával tudjuk a leghatékonyabban javítani a vizsgálati eredmény megbízhatóságát (Pl. egy sokkal hatékonyabb minta-homogenizálási technika alkalmazásával).

### 3.4 A növényvédőszer-maradékok eloszlása

A mintavétel bizonytalanságának fő forrása a szermaradékok egyenetlen eloszlása a mintázandó területen. A szermaradékok felhalmozódását a kezelt növények és területek egyes részein sok tényező befolyásolja: a permetezési módszer, a permetezőgép fúvókáinak beállítása, a növény fejlődési szintje, a kezelt növények morfológiája illetve térbeli

elhelyezkedése, mikro-klimatikus viszonyok stb. (SMITH & MacHARDY, 1984; TRAVIS, 1987a; TRAVIS, 1987b; XU, et al., 2006; RAWN, et al., 2007). A kezelt növényekre célzott szermennyiség egy része az előbb említett tényezők együttes hatása miatt elkerülhetetlenül a talajfelszínre kerül (SMITH & MacHARDY, 1984; AMBRUS, 2009; CROSS, et al., 2001). A perzisztens szerek feldúsulnak a talajban, a vízdoldhatóak könnyen mobilizálódnak a csapadékkal, távolabbi területekre is eljutnak (SMITH & MacHARDY, 1984; FRANK, et al., 1985; FRANK, et al., 1987). Tanulmányok igazolják, hogy fenti tényezők következtében az egy területen termesztett növények egyes terméseiben lévő szermaradék mennyisége is nagy variabilitást mutat (AMBRUS, 1979; HILL & REYNOLDS, 2002; HARRIS & DAVIS, 1998).

Horváth és munkatársai kezelt területeken a növényvédőszer-maradékok eloszlását elemezték (HORVÁTH, et al., 2013). Megállapították, hogy az egy kezelt területről vett elemi minták átlagos relatív szórása közelítőleg 80%. Továbbá, a szermaradékok eloszlásának jellemzésére legalkalmasabb a relatív szórás (*CV*). A szermaradékok eloszlásával foglalkozó tanulmányok nagy része a kezelt területről vett 80-130 minta vizsgálatára épül. Minden mintasorozat egy becslést ad a szermaradékok valós variabilitására vonatkozóan. A modellkísérlet eredménye azt mutatta, hogy egy területről legalább 300 mintát kell venni ahhoz (AMBRUS, 2006), hogy a szermaradékok valós variabilitására vonatkozóan becsült *CV* 3%-on belül legyen. A megvizsgált 100-130 termésből álló, összesen 182 terméshatóanyag párt tartalmazó mintasorozat vizsgálata során kapott *CV* értékek nagy variabilitása (0,11-1,42) a mintavétel bizonytalanságát is mutatja (FARKAS, et al., 2014; FARKAS, et al., 2015), illetve 100-130 elemi minta vizsgálata nem ad megbízható becslést a kezelt területen lévő szermaradékok valós eloszlására vonatkozóan.

Farkas és munkatársai (FARKAS, et al., 2014) leírták, hogy az összetett mintákban várható *CV* relatív 95%-os tartománya független az egyedi mintákban mért szermaradékok *CV*-jétől, és lehetőség szerint legalább 4 ismételt mintát kell venni egy területről annak érdekében, hogy a *CV* értékek relatív különbsége 50%-on belül tartható legyen. Eredményeik megerősítették, hogy az elemi minták szermaradék tartalma a magasabb koncentrációtartomány felé erősen elnyújtott, ferde (aszimmetrikus) eloszlást mutat, melyekből vett összetett minták szermaradék tartalma varianciájának számítására alkalmazható az alábbi összefüggés:

$$V_n = \frac{V_1}{n} \quad (2)$$

ahol  $V_l$  az elemi mintákban mért szermaradékok varianciája,  $V_n$  az  $n$  elemszámú összetett mintákban mért átlagos szermaradékok varianciája.

Növényi termékek esetében a független mintatételek elemi egységeiben mért szermaradékok mennyiségére vonatkozóan több mint 19000 adat áll rendelkezésre, mely 182 növényvédőszer-maradék - termény kombinációját tartalmazza (AMBRUS, 1979; HILL & REYNOLDS, 2002; HARRIS & DAVIS, 1998; AMBRUS, 2006; SONG, et al., 2011; CALDAS, et al., 2006). Talajoknál azonban kevés olyan vizsgálat van, ahol a talajfuratokat egyenként elemezték (TAYLOR, et al., 1971). Így a talajokban a szermaradékok eloszlására a konkrét vizsgálati eredmények hiányában csak következtetni tudunk a kezelt talajban termelt sárgarépa, petrezselyem levele (HORVÁTH, et al., 2013), burgonya (AMBRUS, 2006; FAO, 2001), és banán (FAO, 2002) szermaradék eloszlásából.

### **3.5 Talajok mintavétele és a mintavétel bizonytalansága**

A talajok mintavételét az ISO 10381-1:2002 szabvány írja le. Meghatározza, hogy a terület méretétől függően hány összetett mintát kell venni (<5 ha esetén 3, 5-10 ha esetén 4, 10-25 ha esetén 5 és 25 ha felett 6). Egy összetett mintát 25 elemi minta (talajfurat) alkot. Az elemi minták vételéhez a mintázandó területet szegmensekre osztjuk, majd random szám generálásával kiválasztjuk a 25 mintázandó szegmenst, mely mindegyikéből 1-1 elemi mintát veszünk. A szabvány a leírt mintavételi módszerre jellemző bizonytalanság becslésére nem tér ki.

Tekintve, hogy a növényi termékekre vonatkozó mintavételi szabványok 5-10-12-24 (OECD, 2016), a talaj mintavételére 25 (ISO-10381-1, 2002) véletlen mintavételi helyről vett elemi mintát írnak elő, az egyedi terményekben, elemi mintákban mért szermaradék variabilitása alapján várható, hogy a növényi eredetű elemi minták homogenizálásával nyert összetett minták átlagos szermaradék tartalma jelentős, közelítőleg 20-40%-os relatív szórást mutat (AMBRUS, 2009; FARKAS, et al., 2014; FARKAS, et al., 2015).

Korábban az analitikusok szinte kizárólag az egyes analitikai részfolyamatokból származó véletlen hibából becsülték az eredmény bizonytalanságát. Mára egyértelműen bebizonyosodott, hogy a mintavételből eredő hiba gyakran az egyik legjelentősebb eleme a mérési eredmény kombinált bizonytalanságának (AMBRUS, 2000; AMBRUS & SOBOLEVA, 2004). Ez a különböző mátrixokra vonatkozó mintavételi szabványok (ISO-11648-1, 2003; CAC/GL-33, 1999; CAC/GL-50, 2004) folyamatos

fejlődéséhez, illetve a mintavételből eredő véletlen hiba eredetének mélyebb vizsgálatához vezetett.

Becsléséhez két fő módszer alakult ki: az egyik véletlen minták kivétele visszatevéses módszerrel az egyedi minták sokaságából, a másik pedig az ún. duplikációs módszer.

Az első módszert Taylor és Kratochvil (TAYLOR, et al., 1985; KRATOCHVIL, 1985) alkalmazta talajban a növényvédőszer-maradékok eloszlásának vizsgálatához, illetve Ambrus (AMBRUS, 1979) gyümölcs mintákban. A későbbiekben számítógéppel végzett véletlen mintavétellel becsülték a mintavétel bizonytalanságát az egyedi mintákban mért szermaradékok alapján úgy, hogy az egyedi minták sokaságából összetett mintákat képeztek véletlen visszahelyezéssel  $n$  elemi mintából ( $n=5, 10, 25$ ). Ambrus megállapította, hogy a tipikus mintavételi hiba ( $CV_S$ ) 5 elemi mintából álló összetett minta képzése esetében 0,37-0,4;  $n=10$  esetében 0,25-0,3 és  $n=25$  esetében 0,16-0,2 (AMBRUS, 1996; AMBRUS & SOBOLEVA, 2004; AMBRUS, 2009). Ezt megerősítette Farkas (FARKAS, et al., 2014) vizsgálata, melyet gyökér és gumós zöldségféléken végzett ( $CV_S=0,2, n=10$ ).

A másik, ún. duplikációs módszert a Eurachem-EUROLAB-CITAC-Nordtest és az RSC egyik munkacsoportja dolgozta ki és írta le (RAMSEY & ELLISON, 2007). Ennél a módszernél egy vizsgált tételből két mintát vesznek és mindkét mintát párhuzamosan megmérlik, a mintavételt több tételből megismétlik, majd a kapott eredményeket az ANOVA módszerrel elemzik. Az útmutató szerint legalább 8 különböző tételből kell a duplikált mintákat venni, melyet Lyn vizsgálatai is alátámasztottak (LYN, et al., 2007).

A Nordtest (GRØN, 2007) által kiadott kézikönyv elsősorban a mintavétel tervezésével, minőségbiztosításával és a belőle eredő bizonytalanság becslésével foglalkozik nagy hangsúlyt fektetve a mintavétellel kapcsolatos gyakorlati tudnivalókra.

A mintavétel bizonytalansága ( $CV_S$ ) nem határozható meg közvetlenül, hanem az alábbi képlettel becsülhető:

$$CV_S = \sqrt{CV_R^2 - CV_L^2} \quad (3)$$

Ha egy optimált, majd validált módszert folyamatosan alkalmaz a laboratórium, a módszer laboratóriumon belüli reprodukálhatósága ( $CV_L$ ) könnyedén meghatározható. Ehhez az előzetesen lemért és jól mérhető szermaradékot ( $R_I$ ) tartalmazó homogenizált minták félretett

mintahányadainak újbóli mérésével kapott eredményeket ( $R_2$ ) használhatjuk fel. Ha egy mintában az ismételt mérések során kapott eredmények relatív különbsége  $\Delta_i$  (4. egyenlet), és  $k$  számú párhuzamos mintát vizsgáltunk meg, a tipikus  $CV_L$  az 5. egyenlettel határozható meg.

$$\Delta_i = \frac{|R_1 - R_2|}{\bar{R}} \quad (4)$$

$$CV_L = \frac{\sum \Delta_i}{1.128} \quad (5)$$

ahol az 1,128-as a duplikált mérésekhez tartozó faktor, mely a terjedelem (*range*) statisztikából származik (SOKAL & ROHLF, 1995).

A növényvédőszer-maradékok sorsa a talajban széles körben tanulmányozott. Számos vizsgálat szükséges például környezeti tulajdonságaik felderítéséhez, mely az engedélyezési folyamat fontos része (EK, 2013). Így például a kezelt területről a kezelést követően több időpontban vett mintákból vizsgálják a hatóanyagok lebomlását, lemosódását valamint maradékokat a kezelt területen termesztett zöldségekben, gyümölcsökben. Ahhoz, hogy a gyakran nagy területekről gyűjtött mintákban kapott eredmények megfelelően értékelhetőek legyenek, szükséges, hogy a mintavétel bizonytalanságáról kellő információval rendelkezünk (DUBUS, et al., 2003). Míg a szermaradékok eloszlása a kezelt területen termesztett növényekben igen széles körben tanulmányozott, addig a talajok esetében gyakorlatilag nem rendelkezünk információval.

### **3.6 A talajminta-homogenizálás bizonytalanságának meghatározása**

A vizsgálat céljától függően a laboratóriumba érkező mintát elő kell készíteni. A természetes körülmények között vett minta nem minden része kerül vizsgálatra. Az analízisre kerülő mintarész kialakítása a laboratóriumi mintából egy többlépcsős folyamat eredménye (HILL & REYNOLDS, 1999). Az első lépés a minta-előkészítés (*sample preparation*), melynek során a laboratóriumi mintából analitikai mintát készítünk úgy, hogy eltávolításra kerülnek azok a részek, melyeket nem analizálunk (pl. talaj esetén kövek, kavicsok, növényi részek és egyéb idegen anyagok). Majd a minta-homogenizálás (*sample processing*) következik, melynek során az összetett minta mennyiségét folyamatosan csökkentjük, majd a megfelelő módszerrel homogenizáljuk. A cél, hogy egy jól kevert mátrixot kapjunk, melyből az extrakcióra kerülő mintarész (analitikai mintahányad)

reprezentálja a teljes laboratóriumi minta átlagos szermaradék (szennyező anyag) tartalmát. A minta-homogenizáláshoz alkalmazott módszer rendszeres vagy véletlen hibák forrása lehet, melyek ismerete elengedhetetlen az eredmény kombinált mérési bizonytalanságának meghatározásához.

A mintaméret csökkentés hozzájárulását a mérési eredmény kombinált bizonytalanságához az 1. egyenlet  $CV_{SS}$  tagjával vesszük figyelembe. A mintavételi szabványok nagyméretű gyümölcsök, zöldségek esetén minimum 5 termés vizsgálatát írják elő, ami például 5-10 kg-os dinnye, 2-3 kg-os fejes káposzta esetén a szokásos laboratóriumi eszközökkel nem dolgozható fel, hanem a minta tömegét megfelelő módszerrel csökkenteni kell (YOLCI, et al., 2013). Hasonló problémával találkozunk a 25 elemi mintából (25 db 5 cm átmérőjű és 15 cm mély talajfurat, összesen közel 8-8.5 kg tömegű) álló talajminták feldolgozásakor.

A talajok minta-előkészítésére vonatkozó szabványok (pl. ISO, 2003; ISO, 2006) a talaj kiszárítását írják elő, ami után a minták malomban megőrölhetőek. Ennek az eljárásnak a hátránya, hogy a szárítás során az illékony növényvédő szer komponensek egy része elvész, illetve az őrlés során a talajminta felmelegszik, ami a kevésbé hőstabil komponensek bomlásához, ill. elpárolgásához vezet. Az ISO 16179:2012 szabvány már figyelembe veszi, hogy a talajmintában lehetnek illékony komponensek, melyekre a fenti eljárások nem alkalmazhatóak. Alternatívaként a fagyasztva szárítást javasolja, ami sok rutin laboratóriumban csak nehezen kivitelezhető, illetve költséges és időigényes, vagy egyszerűen elhagyja a szárítást és az őrlést, és a kézi homogenizálást részesíti előnyben. Kitér viszont a minták szemcseátmérőjének fontosságára, és megmondja, hogy a minta legnagyobb szemcseméretét figyelembe véve mekkora méretű a kivehető analitikai mintahányad. Így például ahhoz, hogy a szermaradék-analitikában leggyakrabban alkalmazott 10-20 grammos mintahányaddal dolgozhassunk, a minta szemcseméretét 1-2 mm-re szükséges csökkenteni. A szabvány a minta-homogenizálás hibájának becslésére nem tér ki.

A minta-homogenizálás bizonytalanságával foglalkozó részletes tanulmányok (LYN et al., 2003; AMBRUS, et al., 1996; MAESTRONI, et al., 2000; AMBRUS, et al., 2016) azt mutatták, hogy növényi minták esetében a minta-homogenizálás véletlen hibája lényegesen hozzájárul a vizsgálati eredmény kombinált bizonytalanságához. Más, szintén növényi mátrixokkal végzett vizsgálatok (LYN et al., 2003; HILL, et al., 2000; FUSSEL, et al., 2002; AMBRUS, et al., 2016) azt jelezték, hogy bizonyos hatóanyagok eltérő mértékben bomlanak a homogenizálás során, ami egyrészt jelentős rendszeres hibát okoz, másrészt növeli az eredmény variabilitását.

A laboratóriumi minta, homogenizáló eszköz kapacitásának megfelelően csökkentett, reprezentatív hányadát a lehető legjobban



homogenizálni kell annak érdekében, hogy az extrakcióra kivett pár grammnyi hányadában a szermaradék koncentrációja kis relatív hibával tükrözze a laboratóriumi minta átlagos szermaradék tartalmát.

*A minta-homogenizálás hibája ( $CV_{SP}$ )* nem becsülhető közvetlenül, mert az extrakció ill. a mérés véletlen hibája mindig hozzájárul az eredmény variabilitásához. Az  $CV_{SP}$  meghatározása elvégezhető pl. az ún. „incurred” vagy kötött szermaradékot tartalmazó minta (AMBRUS, et al., 1996; LYN et al., 2003), vagy a homogenizálási lépés előtt a vizsgálandó tesztvegyülettel (szokásosan egy stabil növényvédőszer-maradék) felület-kezelt minta segítségével (MAESTRONI, et al., 2000; BETTENCOURT DA SILVA, et al., 2002). E célból több párhuzamos mintahányad extrakcióját végezzük el, majd az extraktok többszöri elemzéséből származó eredményekből ANOVA módszerrel határozzuk meg az  $CV_{SP}$ -t.

Egy másik megközelítésben a feldolgozási folyamatra meghatározhatunk egy mintavételi állandót ( $K_S$ , *sampling constant*) (WALLACE & KRATOCHVIL, 1987), majd ebből becsüljük a minta-homogenizálás hibáját az extrakcióhoz alkalmazandó analitikai mintahányad tömegére nézve (AMBRUS, et al., 1996). A mintavételi állandó fogalmát Ingamell és Switzer (INGAMELLS & SWITZER, 1973) vezette be.

$$K_S = m \times CV_{SP}^2 \quad (6)$$

ahol  $m$  a homogenizált mintából kivett vizsgálandó mintarész tömege (kg),  $CV_{SP}$  a minta-homogenizálás relatív véletlen hibája (%).

Wallace és Kratochvil (1987) szerint nagy bizonyossággal meghatározható, hogy egy minta statisztikailag jó kevert-e vagy sem, ha két, egymástól jelentősen eltérő (legalább 10-szeres különbség) tömegű mintasorozatot vizsgálunk. Ambrus és munkatársai (AMBRUS, et al., 1996) is a mintavételi állandót alkalmazták a homogenizálás bizonytalanságának becsléséhez alma és fejes káposzta mintákban. Két olyan mintasorozatból indultak ki, ahol a vizsgálatra szánt mintarészek tömegei egymástól jelentősen eltértek. Az egyik sorozat kis tömegű analitikai mintahányadokat ( $m_{Sm}$ ), a másik ettől legalább tízszer nagyobb tömegűeket ( $m_{Lg}$ ) tartalmazott (azaz  $m_{Lg}/m_{Sm} \geq 10$ ). A különböző tömegű mintasorozatokban kapott varianciákat egyoldalú F-teszttel összehasonlították, és ebből következtettek a keverés jóságára.

Maestroni és munkatársai (MAESTRONI, et al., 2000) a zöldségek illetve gyümölcsök minta-homogenizálásának véletlen hibáját a 6. egyenlettel leírt összefüggés alapján becsülték  $^{14}\text{C}$ -klórpírifosz-metil tesztvegyület

alkalmazásával. A laboratóriumi minta (1,5-3 kg) kis hányadát jelzett hatóanyaggal kezelték, majd az egyesített mintát különböző módszerekkel homogenizálták. Az így előkészített mintákból 1, 25, 50 és 250 grammos analitikai mintahányadokat extraháltak és LSC-vel meghatározták az egyes mintahányadok szermaradék tartalmát. Az így kapott adatokból becsülték a minta előkészítés hibáját. Megállapították továbbá, hogy a minta-homogenizálás hatékonyságát befolyásolja a berendezés típusa (pl. Robot Coupe, SPEX malom, Stephan blender stb.), az alkalmazott módszer (pl. fagyasztva darálás szárazjég hozzáadásával), illetve a homogenizálandó minta jellege (pl. alma, paradicsom), de nem függ a vizsgálandó, kémiaiilag stabil anyagtól. Megbecsülték, hogy ahhoz, hogy egy 25 grammos bemérés esetén a minta-homogenizálásból eredő bizonytalanság 10% alatt legyen ( $CV_{Sp} < 0,1$ ), a homogenizált mintában maximum 0,5 mm átmérőjű héjdarab maradhat. A homogenizálás hatékonyságát 2-4-szeresére növelték, a mintaaprítást követően Ultra Turraxos homogenizálással vagy szárazjég hozzáadásával. Hasonló módszert alkalmaztak uborka tesztnövény esetében (TIRYAKI & BAYSOYU, 2006).

A különböző homogenizált minta mátrixokban ugyanannak a növényvédőszer-maradéknak a variabilitása lényegesen eltérhet. (MAESTRONI, et al., 2000; FUSSEL, et al., 2007). Az ok a nem megfelelő minta-homogenizálási módszerre vezethető vissza. Fussel és munkatársai (FUSSEL, et al., 2007) narancs és paradicsom mintákat homogenizáltak szobahőmérsékleten, illetve szárazjég jelenlétében, és azt tapasztalták, hogy szárazjéggel darálva mindkét mintából 5 grammnyi mennyiség megfelelően reprezentálta az eredeti mintát (az analitikai mintahányadokban mért növényvédőszer-maradékok relatív variabilitása kisebb, mint 0,3). Szobahőmérsékleten darálva viszont a paradicsomból, melynek héját így nehéz darálni és nagyobb darabokban maradtak, 110 grammra volt szükség, a narancs esetében az 5 gramm itt is elegendőnek bizonyult.

Gy (GY, 1998) is kihangsúlyozta a részecskék méretének fontosságát a minta homogenizálása során. Elmélete szerint a vizsgált komponens egyes analitikai mintahányadokban mért variabilitása ( $CV_{Sp}$ ) fordítottan arányos a bemért mintahányad tömegének ( $M_s$ ) négyzetgyökével és egyenesen arányos a homogenizált mintában található legnagyobb minta részecske átmérőjének, egész pontosan a szemcseméret eloszlás felső 95. percentilisének ( $Cd$ ) köbével:

$$CV_{Sp} = \frac{Cd^3}{M_s} \quad (7)$$

Ezt az összefüggést kell figyelembe venni akkor is, amikor az analitikai mintahányad méretét drasztikusan lecsökkentjük.

Az analitikai mintahányad tömege, illetve a szemcseméret közötti összefüggés fontosságát hangsúlyozza az ISO talajok minta-előkészítésére és homogenizálására vonatkozó szabványa is (ISO, 2012), mely szerint a 10-20 grammos mintahányad csak akkor vehető ki reprezentatívan a homogenizált mintából, ha a szemcseméret  $<1-2$  mm.

Ma a rutin laboratóriumokban nem ritka az 1-2 grammos bemérés sem, sőt extrém esetben (pl. agrokémiai szektor) 75-100 mg is előfordul. Ez utóbbit Gooding (GOODING, et al., 2014) és Lynn (LYNN, et al., 2014) mutatták be a 13<sup>th</sup> IUPAC International Congress on Pesticide Residues konferencián San Franciscoban 2014-ben, ahol egy egész szekciót szenteltek a minta-homogenizálás kapcsán felmerülő problémák tárgyalására. A csökkentett hőmérsékleten történő talaj, illetve élelmiszer minták homogenizálása (pl. fagyasztva darálása (*cryomilling*) szárazjég illetve folyékony nitrogén alkalmazásával) során a minták részecskemérete 350  $\mu$ m körülire redukálható. Gooding és munkatársai (GOODING, et al., 2014) kutatásai alapján ilyen részecskeméret mellett már 0,05-0,2 grammra csökkenthető az analitikai mintahányad mérete ( $CV_{SP} < 15\%$  csonthéjas és bogyós gyümölcsöknél). Riter és munkatársai (RITER, et al., 2015) kétlépcsős módszerrel homogenizált mintákkal végeztek laboratóriumok közötti összemérést. Az első lépésben vertikális rendszerű laboratóriumi homogenizátorral (Robot Coupe) darálták le a mintát szárazjéggel, majd ennek egy 20 grammos részletét tovább örölték (SPEX malomban). Eredményeik azt igazolták, hogy a második *cryomilling* lépés szignifikánsan növelte a minta homogenitását és ezzel az eljárással a 10 grammos analitikai mintahányad 75 mg-ra csökkenthető miközben a  $CV_{Sp}$  nem növekszik.

Habár a minta-homogenizálásból eredő hiba már nem újdonság az analitikusok számára, sajnos a rutin vizsgálatokat végző laboratóriumok közül csak nagyon kevesen vizsgálják azt a módszer validálás részeként, illetve veszik figyelembe, amikor csökkentik az analitikai mintahányad méretét. A téma aktualitását, illetve súlyát igazolja az is, hogy a 2016-ban Cipruson megrendezett European Pesticide Residue Workshop kiemelt témaként egy egész napon át foglalkozott a minta-homogenizálással.

### **3.7 A szermaradékok kinyerése az analitikai mintahányadból**

A talajok növényvédőszer-maradékának vizsgálatára számtalan extrakciós módszer létezik. Hagyományosan a legelterjedtebbek a Soxhlet extrakciós módszerek (EPA, 2007; SCHNEIDER, 1995), valamint a szilárd

fázisú extrakció (solid phase extraction, SPE), ami több országban hivatalos módszerként működik (WILLIAMS, 1990; PICÓ, et al., 2007; LOURENCETTI, et al., 2008; DABROWSKA, et al., 2003). Hátrányuk, hogy nagy mennyiségű oldószert igényelnek, és az extrakció hosszadalmas. Számos újabb technika is igen elterjedt a környezeti minták növényvédőszer-maradékának meghatározására, ilyenek például a szuperkritikus folyadék extrakció (SFE) (GONÇALVES, et al., 2006; SUN & LEE, 2003; KREUZIG, et al., 2000; SCHNEIDER, 1995) nagynyomású folyadék extrakció (PLE: pressurized solvent extraction vagy ASE: accelerated solvent extraction) (TAO, et al., 2004; CONCHA-GRANA, et al., 2004; HUSSEN, et al., 2007; LESUEUR, et al., 2008), a mikrohullámmal segített extrakció (MASE/MAE: microwave assisted solvent extraction) (SUN & LEE, 2003; MOLINS, et al., 2000; KOVAČIĆ, et al., 2004; SHEN & LEE, 2003; HOGENDOORN, et al., 2001). Ezek a módszerek speciális készüléket igényelnek, melyek igen drágák, viszont nagyon jó hatékonyság mellett végezhető velük az extrakció. Szintén elterjedt módszer a szilárd fázisú mikroextrakció (SPME: solid phase micro extraction) (LAMBROPOULOU, et al., 2002; LAMBROPOULOU & ALBANIS, 2004; SHEN & LEE, 2003), melyet inkább vízmintáknál alkalmaznak vagy a kifejezetten illékony növényvédő szerek meghatározására. Kedvelt technika az ultrahangos extrakció (USE: ultrasonic extraction) (LESUEUR, et al., 2008; GONÇALVES & ALPENDURADA, 2005; BABIČ, et al., 1998; TOR, et al., 2006; SÁNCHEZ-BRUNETE, et al., 2003; LAMBROPOULOU & ALBANIS, 2004), mely időszükséglete is kedvező és a legtöbb labor számára elérhető.

Az alkalmazott extraháló szerek köre is igen tág. Ha a cél az, hogy minél több komponens meghatározására legyen alkalmas a kidolgozott módszer (ún. multi-residue módszer), akkor olyan oldószert vagy oldószer elegyet kell alkalmazni, ami képes az apoláros szermaradékoktól kezdve a közepes polaritásúakon át az egészen poláros komponensek kivonására is. A gyakorlatban igen elterjedt az acetont, ill. acetont-víz elegy alkalmazása (AMBRUS, et al., 1981; REDONDO, et al., 1993; BABIČ, et al., 1998; TOR, et al., 2006; PARK, et al., 2010), melyben a talaj „szétesik”, és így könnyebben elérhetővé válik a talajrészecskékhez kötött szermaradék is. Ennek elősegítésére gyakori az ammónium-klorid vagy ammónium-foszfát oldat hozzáadása a talajmintához még az extrakció előtt (CAYLEY & LORD, 1980; KIHAMPA, et al., 2010; KADENCZKI, et al., 2012). Sok módszer az acetont toluollal, hexánnal vagy etil-acetáttal keveri (EPA, 2007; CONCHA-GRANA, et al., 2004; HOGENDOORN, et al., 2000). Korábban gyakori volt a diklórmétán használata (AMBRUS, et al., 1981; PARK, et al., 2010), melyet ma már környezetvédelmi okok miatt igyekeznek elkerülni az analitikusok. A diklórmétán helyettesítésére kiválóan alkalmas például az

etil-acetát vagy a ciklohexán (SÁNCHEZ-BRUNETE, et al., 2004; GONÇALVES & ALPENDURADA, 2005; TOR, et al., 2006; LESUEUR, et al., 2008). A mai modern multi-residue módszerek az élelmiszer minták körében is igen elterjedt eljárások módosított verziói. Többen vették alapul az ún. QuEChERS módszert (LESUEUR, et al., 2008; KADENCZKI, et al., 2012; YANG, et al., 2010; FERNANDEZ, et al., 2013), de az EN 12393-as európai szabvány talajmintákra való alkalmazására is találunk példát az irodalomban (LESUEUR, et al., 2008). Az előbbi acetonitrilt, utóbbi acetont illetve etil-acetát:ciklohexán =1:1 arányú elegyet alkalmaz extraháló szerként.

### 3.8 A szermaradék vizsgálati módszerek validálási irányelvei

A laboratóriumoknak minden analitikai módszert a rutin alkalmazás bevezetése előtt validálni kell. A validálás elsődleges célja, hogy igazolja, hogy az alkalmazott módszer megfelelő a kiválasztott komponens vizsgálatára az adott mátrixból („fit-for-purpose”). A módszer megfelelőségének igazolása a különböző nemzetközi előírásokban és útmutatókban (CODEX SECRETARIAT, 2000; OECD, 2007; EUROPEAN COMMISSION, 2015; CODEX SECRETARIAT, 2016) pontosan definiált teljesítmény-jellemzők meghatározásán alapul. Az *alkalmasság* (*applicability*, *scope*) meghatározásánál pontosan meg kell adni, mely komponensekre illetve mátrixokra/mátrix csoportra alkalmas a módszer. A módszer *specifikusságának* (*specificity*) vizsgálata során igazolni kell, hogy nincs olyan interferencia, keresztszennyezés stb., ami az adott mátrixban a vizsgálandó komponensek meghatározását befolyásolja.

A *linearitás* (*linearity*) vizsgálata során arról kell meggyőződni, hogy a vizsgált tartományban a növekvő koncentrációra adott készülékválaszok (pl. csúcsterület) egyenes arányban változnak vagy megfelelő módszerrel linearizálhatók, illetve a minimum 5 pontra illesztett kalibrációs egyenes az origóhoz közel metszi az Y tengelyt (EUROPEAN COMMISSION, 2015; CODEX SECRETARIAT, 2016). Míg korábban az analitikusok a kalibrációs egyenes megfelelőségéhez az egyenes regressziós koefficiensét ( $R^2 \geq 0,995$ ) vették alapul (pl. OECD, 2007), ma a kalibráció jóságának jellemzésére a relatív reziduálisok szórását ( $S_{rr}$ ) (MILLER & MILLER, 2010) alkalmazzuk. Ennek oka, hogy az  $S_{rr}$  (8. egyenlet) egy sokkal érzékenyebb indikátora az egyenes jóságának, mint a regressziós koefficiens (AMBRUS, 2008).

$$S_{rr} = \sqrt{\frac{\sum_i w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \quad (8)$$

ahol  $Y_i$  az  $x_i$  kalibrációs ponthoz tartozó válaszjel,  $w_i$  az  $i$ -ik  $x:y$  párhoz tartozó súlyozó faktor,  $\hat{y}$  ugyanehhez a koncentrációhoz tartozó, de az egyenesről leolvasott válaszjel, valamint  $\Delta y_i = y_i - \hat{y}$  és  $\bar{Y}_{rel} = \Delta y_i / \hat{y}$ .

A kalibráció akkor tekinthető jónak, ha az  $S_{rr} \leq 0,1$  (AMBRUS, 2008). A SANTE/11945/2015 dokumentum (EUROPEAN COMMISSION, 2015) ennél kevésbé szigorú követelményt támaszt, mely szerint az  $Y_{rel}$  értékének minden kalibrációs pontnál kisebbnek kell lenni, mint 0,2.

A mennyiségi meghatározásra alkalmas módszerek validálásának fontos eleme a *detektálási határ (LOD)* illetve a *meghatározási határ (LOQ)* megállapítása. Az analitikusok körében ezek a fogalmak gyakran nem kellően tisztázottak, vagy nem jól definiáltak, gyakran a megnevezés sem egységes, sajnos általános előírás sincs a meghatározásukra. Az egyes szakterületekre léteznek ún. guideline-ok (EUROPEAN COMMISSION, 2015; CODEX SECRETARIAT, 2016), melyek segítenek abban, hogy az egy szakterületen dolgozók ugyanazt értsék az adott fogalom alatt. A detektálási határ az a legkisebb anyagmennyiség vagy koncentráció, ami már egyértelműen megkülönböztethető a vaktól (THOMPSON, et al., 2002). Kromatográfias területen ez leggyakrabban a 3-szoros jel/zaj aránynak megfelelő csúcshoz tartozó mennyiség. A meghatározási határ pedig az a koncentráció vagy anyagmennyiség, ami egy adott mátrixból reprodukálhatóan és pontosan, ismert mérési bizonytalanság mellett mérhető (EURACHEM/CITAC, 2014). Megállapítására nincs egységesen elfogadott álláspont. Gyakran ez az *LOD* kétszerese (THOMPSON, et al., 2002), más irányelvek a jel/zaj 10-szeresét veszik ehhez alapul (CODEX SECRETARIAT, 2016).

A *helyesség/torzítás* azt adja meg, hogy a módszerrel mért érték, illetve a valós érték közötti különbség elfogadható-e. A legelterjedtebb módszer a helyesség meghatározására az ún. visszanyeréses vizsgálat, amely során a bemért vakmintához ismert mennyiségű sztenderdet adunk (*elvárt koncentráció,  $C_e$* ), majd a mintát a validálandó módszerrel előkészítjük és meghatározzuk a szermaradék tartalmát (*mért koncentráció,  $C_m$* ). Az elméleti, illetve a mért koncentráció felhasználásával meghatározzuk a *visszanyerést (recovery,  $Q$ )* (9. egyenlet). A SANTE és a CCPR előírásai szerint a helyesség akkor megfelelő, ha a visszanyerés vizsgálatokat legalább két szinten (a meghatározási határon és egy attól magasabb szinten) végezve az átlagos visszanyerések 70-120% közé esnek. Célszerű a helyesség meghatározására az adott módszerrel egy referencia anyagmintát is vizsgálni, amennyiben ilyen rendelkezésre áll, így megállapíthatjuk a valódi értéktől való eltérést.

$$Q(\%) = \frac{c_m}{c_e} \times 100 \quad (9)$$

A *pontosság* azt adja meg, hogy egy minta ismételt előkészítéséből kapott eredmények eltérése elfogadható-e. Jellemzően a szórással (*SD*), vagy relatív szórással (*RSD*, *CV*) mérik. *Ismételhetőségről* (*repeatability*) beszélünk akkor, ha a párhuzamos előkészítések ugyanabban a mérési sorozatban készülnek, laboron belüli *reprodukálhatóságról* (*within laboratory reproducibility*) pedig akkor, ha ugyanazon minta ismételt bemérései eltérő napokon, esetleg eltérő személyzet által történnek. A pontosság mindkét esetben akkor fogadható el, ha az  $RSD \leq 20\%$  (EUROPEAN COMMISSION, 2015; CODEX SECRETARIAT, 2016).

A robusztusság (*ruggedness*, *robustness*) vizsgálatok az a cél, hogy a meghatározzuk, hogy egy-egy módszerbeli elem vagy paraméter (pl. pH, hőmérséklet változása, rázatási idő, bepárlási idő, ill. hőmérséklet stb.) mekkora változása van szignifikáns hatással az eredményre. A robusztusságot akkor célszerű vizsgálni, ha a reprodukálhatóság a megadott maximális értéknél (20%) magasabb, ezért a robusztusság vizsgálatára csak esetenként van szükség.

A *mérési bizonytalanság* becslése szintén lényeges eleme a validálásnak. Számos dokumentum nyújt konkrét segítséget a számoláshoz (EURACHEM/CITAC, 2012; CODEX SECRETARIAT, 2006), a SANTE dokumentum (EUROPEAN COMMISSION, 2015) C. mellékletében pedig kidolgozott példák nyújtanak segítséget a megértéshez.

A vizsgáló laboroknak fontos, és az ISO 17025 (MSZH, 2005) előírása is egyben, hogy tisztában legyenek teljesítőképességükkel. Ennek mérésére alkalmasak a különböző QA/QC eljárások a laboratóriumban. A módszer validálásokhoz ismert sztenderd oldattal kezelt minták vizsgálatával határozzák meg a módszerek teljesítőképességét (visszanyerés vizsgálat). Sok labor hajlamos arra, hogy munkájának színvonalát a körvizsgálatokon elért eredményeivel értékelje. Ez azonban nem ad teljes képet a labor rutin vizsgálati eredményeinek megbízhatóságára vonatkozóan, mivel nem tartalmaz számos olyan elemet, mely a végeredmény teljes bizonytalanságához nagymértékben hozzájárulhat. Nem tartalmazza ugyanis sem a mintavételből, sem a minta-homogenizálásból adódó hibát. A visszanyeréses vizsgálatok eredményeiből nem lehet következtetni az extrakció hatékonyságára sem. Erre csak az ún. kötött (*incurred*) szermaradékot tartalmazó minták alkalmasak, melyeket ismert növényvédő szerrel kezelték a mintavételt megelőzően néhány héttel vagy hónappal.

## 4. Anyag és módszer (Kísérleti rész)

### 4.1 Felhasznált teszanyagok és vegyületek

#### 4.1.1 Alkalmazott minták

Kísérleteimben növényvédő szer hatóanyagokkal kezelt, illetve kezeletlen (vak) talajmintákat használtam fel. Előbbit a szermaradékok eloszlásának és a mintavétel bizonytalanságának meghatározásához alkalmaztam, utóbbit pedig a talajminták különböző homogenizálási módszereinek tanulmányozására valamint az extrakciós hatékonyság vizsgálatához. A mintavételt a 4.2. szakaszban részletezem.

A minták elemzését a Fejér megyei Növény- és Talajvédelmi Szolgálat (ma: NÉBIH Növény- Talaj- és Agrárkörnyezet-védelmi Igazgatóság) Velencei Talajvédelmi Laboratóriuma végezte, a minták jellemző paramétereit az 1. táblázatban foglaltam össze.

*1. táblázat. A kísérletekhez felhasznált kezeletlen talajminták jellemző paramétereit<sup>1</sup>*

Minta kódja	Származási terület	szerves anyag (%)	pH	Homok (%)	Iszap (%)	Agyag (%)
Y97	Hercegkút	3.14	6.41	33.8	41.6	24.6
X65	Mezőkövesd	2.4	6.8	36.0	26.5	37.5
V02, U129	Olaszliszka	1.89	6.34	26.3	26.7	46.9
V01, U128	Hejőkeresztúr	3.5	6.74	58.2	23.1	18.8
W33	Velm, Ausztria	3.6	7.69	43	27.5	29.4

<sup>1</sup>A vizsgálatokat a Fejér megyei Növény- és Talajvédelmi Szolgálat (ma: NÉBIH Növény-Talaj- és Agrárkörnyezet-védelmi Igazgatóság) Velencei Talajvédelmi Laboratóriuma végezte az MSZ-08-0205-78 szabvány szerint.

Az elemzések alapján a megvizsgált talajminták fontosabb jellemzői a következők:

#### Mintavételi helyszín: Hejőkeresztúr (U128 és V01)

A vizsgált minta enyhén lúgos kémhatású (pH = 6,55). Hidrolitos savanyúság ( $y_1$ ) értéke, mely a rejtett, potenciális savanyúságot mutatja, magas (16,63). A talaj kicserélhető kationjai között a Ca az uralkodó, de viszonylag magas a Mg ionok aránya is. A magas Ca tartalom igen kedvező a talajszerkezet kialakulás szempontjából, a Ca-ionok elősegítik az ásványi és humuszkolloidok koagulációját. A talajminta szerves anyag tartalma közepes. A mechanikai elemzés adatait értékelve, a homok, iszap és agyag frakció alapján megállapítható, hogy a minta vályog fizikai féleségű.



Mintavételi helyszín:Olaszliszka (UI29 és V02)

A minta kémhatása kissé savanyúbb, de még mindig a gyengén savanyú kategóriába tartozik. Hidrolitos savanyúsági értéke kisebb, de a kémhatáshoz viszonyítva elég magas. A kicserélhető kationok között itt is magas a Ca aránya, viszont kissé magas a K ion aránya (5,44%). A szerves anyag tartalom alacsony. A mechanikai összetétel eredményei alapján a minta iszapos-agyagos-vályog összetételű, fizikai tulajdonságaiban valószínűleg agyagként viselkedik.

Mintavételi helyszín:Mezőkövesd (X65)

A minta kémhatása a semleges és gyengén savanyú értékek határán található. Hidrolitos savanyúsági értéke magas. Szerves anyag tartalma alacsony, kicserélhető kationok között kedvezően magas (82,4%) a Ca ionok aránya, bár a Na ion mennyisége kissé magasabb a kedvezőnél (2,1%), de nem éri el a már szikesedést jelző értéket. A mechanikai elemzés adatai alapján a talaj anyag fizikai féleségű.

Mintavételi helyszín:Herceghút (Y97)

A vizsgált minta rendelkezésre álló eredményei alapján gyengén savanyú kémhatású, szerves anyag tartalma alacsony, a mechanikai összetétel alapján fizikai félesége nehéz agyag.

A Velmi talajról (W33) nem készült értékelés.

A kezelt talajminták esetében a mintavétel szokásos mezőgazdasági gyakorlat alá vont napraforgó táblákról történt, a kezelés paramétereit a 2. táblázat mutatja be.

*2. táblázat. A mintázott napraforgótáblák növényvédő szeres kezelésének adatai*

Terület	Szer neve, formulációja (hatóanyaga) <sup>1</sup>	Dózis (g hatóanyag/ha)	Kezelés időpontja	Mintavétel időpontja (eltelt nap)	Minták száma (db)
Herceghút	GESAGARD 500 FW (prometrin)	1000	2003. 04.22.	2003.05.19. (27)	130
	FRONTIER 900 EC (dimetenamid)	1440			
Mezőkövesd	WING EC (dimetenamid + pendimetalin)	1000-1000	2003. 04.18.	2003.05.18. (30)	130
	PROMETREX 500 SC (prometrin)	1000			

<sup>1</sup>EC:emulzióképző koncentrátum, FW: folyékony szuszpenzió, SC: vizes szuszpenzió koncentrátum

## 4.1.2 Alkalmazott vegyszerek

3. táblázat. A vizsgálatok során alkalmazott vegyszerek

Név	Gyártó	Minőség (%)
aceton	Sigma-Aldrich	residue grade
ammónium-klorid	Merck	reag. grade
desztillált víz	laboratóriumban készített	MilliQ
etanolamin	Sigma-Aldrich	ACS reagent, ≥99,0%
etil-acetát	Sigma-Aldrich	residue grade
hexán	LGC	picograde, for residue analysis
kalcium-klorid,	Merck	reag. grade
metanol	LGC	picograde, for residue analysis
szárazjég	Linde	cikkszám: 8422-100
Ultima GoldTM, folyadék szcintillációs koktél	Perkin Elmer	cikkszám: 6013327
vízmentes nátrium-szulfát	Sigma-Aldrich	reag. grade

## 4.1.3 Alkalmazott analitikai sztenderdek

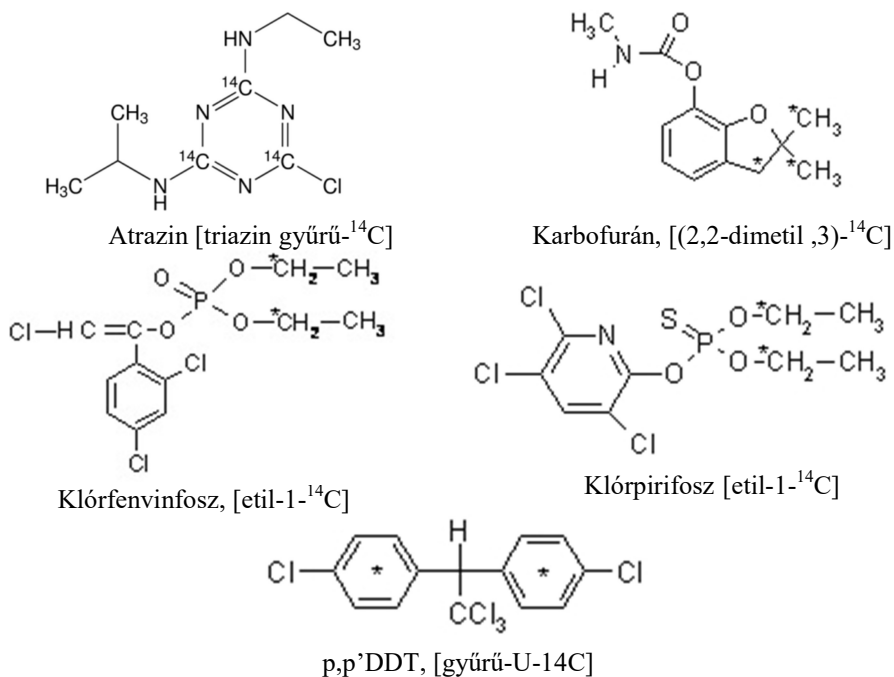
4. táblázat. Az alkalmazott <sup>14</sup>C-jelzett tesztvegyületek jellemző paramétereit<sup>1</sup>

Név	Gyártó, tisztaság	Specifikus aktivitás Mbg/mg	Vízold- hatóság mg/l (20-25 °C)	Gőznyomás mPa (25°C)	Henry állandó Pam <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>	log K <sub>ow</sub>
Atrazin, [triazin gyűrű <sup>14</sup> C]	Syngenta, 98%	1,60	33	3.85×10 <sup>-2</sup>	1.5×10 <sup>-4</sup>	2,5
Karbofurán, [(2,2-dimetil ,3)- <sup>14</sup> C]	International Isotopes, 99%	3,16	320	0.031 ×10 <sup>-2</sup>	2.4×10 <sup>-5</sup>	1,52
Klórfevínfosz, [etil-1- <sup>14</sup> C]	International Isotopes, 98,6%	0,99	121	1.0	NA <sup>3</sup>	3,85
Klórpirifosz [etil-1- <sup>14</sup> C]	International Isotopes, 98,9%	2,83	1,4	2.7	0.6761	4,7
p,p'DDT, [gyűrű-U- <sup>14</sup> C]	International Isotopes, 97,6%	2,64	0,0055	0.025 <sup>2</sup>	NA	6,91

<sup>1</sup> forrás: The Pesticide Manual (Turner, 2015)

<sup>2</sup> 20 °C-on mért érték;

<sup>3</sup> NA: nem elérhető adat



2. ábra. A <sup>14</sup>C jelzett tesztkomponensek szerkezeti képletei (Izotópintézet, 2016)

5. táblázat. A felhasznált analitikai sztenderdek összefoglalása

Név	Gyártó	Tisztaság (%)
atrazin	Chem. Service	98,6
azinfosz-etil	Dr. Ehrenstorfer, GmbH	98,0
dimetenamid	Dr. Ehrenstorfer, GmbH	98,3
dimetoát	Sigma-Aldrich	99,4
EPTC	Sigma-Aldrich	99,8
foszalon	LGC	98,1
karbaril	Sigma-Aldrich	99,2
kinalfosz	LGC	98,4
klórfenvinfosz, Z és E izomerek keveréke	LGC	97,1
klórpirifosz (ISTD)	Dr. Ehrenstorfer, GmbH	99,0
klórpirifosz-etil	LGC	98,8
metidation	LGC	98,6
oxifluorfen	Dr. Ehrenstorfer, GmbH	98,0
paration-metil	Sigma-Aldrich	99,1
pendimetalin	Dr. Ehrenstorfer, GmbH	98,9

Név	Gyártó	Tisztaság (%)
pirimikarb	Sigma-Aldrich	98,3
promertin	Dr. Ehrenstorfer, GmbH	99,1
propazin	Dr. Ehrenstorfer, GmbH	99,0
propoxur	Sigma-Aldrich	98,9
TBF	LGC	98,7
terbutilazin	Dr. Ehrenstorfer, GmbH	98,6
terbutrin	Dr. Ehrenstorfer, GmbH	98,9

6. táblázat. A validáláshoz kiválasztott tesztkomponensek jellemző paramétereinek összefoglalása<sup>1</sup>

Név	Vízoldhatóság (mg/l) (20-25 °C)	Gőznyomás 25°C/mPa	Henry állandó Pam <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>	log K <sub>ow</sub>
Azinfosz-etil	4	0,001	$2.5 \times 10^{-2}$	3,18
Dimetenamid	1200	36,7	$8.32 \times 10^{-3}$	2,15
Klórfevínfosz	121 (Z-izomer) 7,3 (E-izomer)	1,0	NA <sup>3</sup>	3,85 (Z) 4,22 (E)
Klórpirifosz (ISTD)	1,5	2,7	$6.76 \times 10^{-1}$	4,7
Oxifluorfen	0,116	0,0267	$8.33 \times 10^{-2}$	4,47
Pendimetalin	0,33	1,94	2.728	5,2
Promertin	33	0,165	$1.2 \times 10^{-3}$	3,1
Propazin	5,0	0,0039 <sup>2</sup>	$1.97 \times 10^{-4}$	3,01
Terbutilazin	9	0,09	$2.3 \times 10^{-3}$	3,4
Terbutrin	22	0,225	$1.5 \times 10^{-3}$	3,65

<sup>1</sup> forrás: The Pesticide Manual (Turner, 2015)

<sup>2</sup> 20 °C-on meghatározott érték

<sup>3</sup> NA: nem elérhető adat

#### 4.1.4 Felhasznált eszközök

7. táblázat. A vizsgálatok során felhasznált eszközök

Név	Gyártó, típus
<i>A mintavételhez alkalmazott eszközök</i>	
kézi talajfúró	5 cm széles és 15 cm mély talajfúrat kivételére alkalmas
1 m hosszú fakarók végük 20 cm hosszan fehérre festve	-

Név	Gyártó, típus
GPS készülék	GARMIN, pontosság $\pm 3$ m
PE zsákok, 8-10 kg minta tárolásához	-
<b>Minta-homogenizáláshoz alkalmazott eszközök</b>	
2 mm lyukátmérőjű szita	Retsch
őrlőmalom	CEMOTEC™ 1090
roller típusú, görgőkkel ellátott laboratóriumi keverő	CAT RM-5
laboratóriumi homogenizátor	Tecator 2096
laboratóriumi blender	Stephan UM 5 Universal
laboratóriumi blender	Waring
<b>A minták extrakciójához, minőségi és mennyiségi meghatározásához alkalmazott eszközök</b>	
hűthető laboratóriumi centrifuga között szabályozható fordulattal	100-13500 rpm Sigma- 4K15
szárítószekrény	Memmert UM30
100 ml-s centrifugacső	Pyrex
laboratóriumi rázógép	Edmund Bühler SM-25
laboratóriumi rázógép	Certomat SII
bepárló készülék	Zymark, TurboVap LV
folyadék szcintillációs számláló (LSC)	Beckman 6000TA
20 ml-s polietilén fiolák LSC méréshez	Perkin Elmer
gázkromatográf TSD detektorral, PTV injektorral	Varian 3800 GC, 1079 PTV
kromatográfias oszlop	Varian, CP-Sil-8CB Low Bleed MS 25m $\times$ 0.32 mm; df = 0.25 $\mu$ m
előtét oszlop (retention gap)	Varian, 2,5 m $\times$ 0.32mm (metil-deaktivált)
biológiai oxidáló berendezés	OX 400
rotációs vákuumbepárló	Büchi R-124

#### 4.1.5 A fő kutatási területekhez alkalmazott anyagok áttekintése

##### 8. táblázat Az egyes kutatási területeken alkalmazott anyagok összefoglalása

Művelet	Talaj	Növényvédőszer-hatóanyag/teszt vegyület
Talaj szárazanyag-tartalom meghatározás	U128, U129, V01, V02, W33, X65, Y97	—
Minta homogenizálás véletlen hibájának meghatározása	U128, U129, V01, V02, W33, X65, Y97	<sup>14</sup> C-atrazin, jelzetlen atrazin

Extrakció reprodukálhatóságának meghatározása	U128, U129, V01, V02, W33, X65, Y97	<sup>14</sup> C-atrazin, jelzetlen atrazin
Extrakció hatékonysága	<sup>14</sup> C-jelzett tesztvegyületekkel kezelt és 6 hónapig érlelt szermaradékot tartalmazó V01, V02, X65	<sup>14</sup> C-karbofurán <sup>14</sup> C-klórpírifosz <sup>14</sup> C-klórfenvinfosz <sup>14</sup> C-p,p'-DDT
Validálás	V01, V02 és X65	azinfosz-etil, dimetenamid, klórfenvinfosz, klórpírifosz, oxifluorfen, pendimetalin, prometrin, propazin, terbutilazin és terbutrin
Szermaradék eloszlásvizsgálat	a 2. táblázat szerint kezelt talajminták, 130-130 db	dimetenamid, pendimetalin, prometrin

## 4.2 A kísérlethez felhasznált talajok mintavétele

### 4.2.1 Kezeletlen (vak) talajminták vétele

A vizsgálatok egy részéhez (pl. minta-homogenizálás véletlen hibájának, az extrakció reprodukálhatóságának meghatározása, az extrakciós hatékonyság vizsgálata) szükséges kezeletlen talajmintákat rendszeres mezőgazdasági termelésbe bevont területekről (búza, kukorica és napraforgó táblák) öt mintavételi helyszínen gyűjtöttem: Hejőkeresztúr, Hercegkút Mezőkövesd, Olaszliszka, és Velm (Ausztria). A minták jellemző paramétereit a 1. táblázatban foglaltam össze. Az ISO 10381-4:2003 (ISO, 2003) szabvány előírásai szerint véletlenszerűen kiválasztott 25 mintavételi pontból a talaj felső rétegéből kézi talajfúróval pontonként kb. 15 cm hosszú, 5 cm átmérőjű kb. 300-400 g elemi mintát vettem, majd ezeket egyesítettem. A helyszínenként vett kb. 8-10 kg összetett talajmintát erős polietilén zsákokba helyeztem, melyeket gondosan lezártam és a vizsgálatokig száraz, hűvös helyen (4-5 °C) tartottam.

### 4.2.2 Mintavétel eloszlásvizsgálathoz

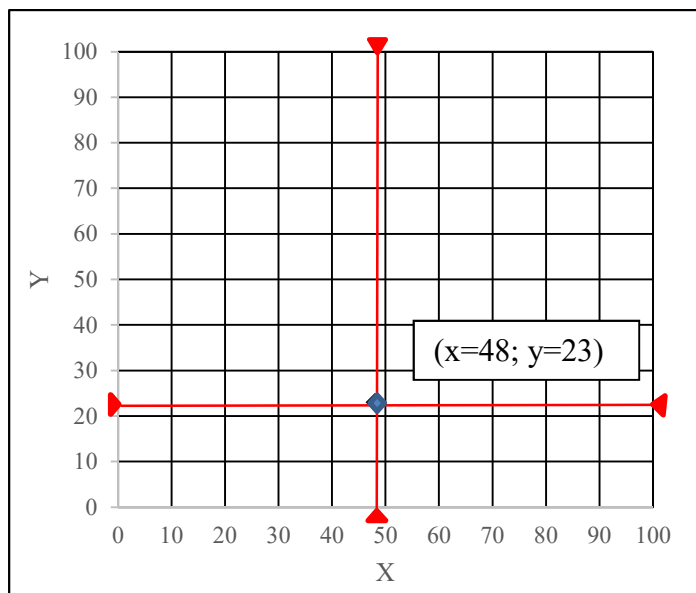
A talajfúratok mintavételéhez két rendszeres mezőgazdaság gyakorlat alá vont, napraforgóval bevetett területet választottam Magyarország északkeleti részén (Mezőkövesd, illetve Hercegkút közelében). A napraforgó táblákon a talajt három preemergens herbicidként használt hatóanyagot (dimetenamid, pendimetalin és a prometrin) tartalmazó szerrel kezelték. A kezelés részleteit a 2. táblázatban foglaltam össze.

A talajminták vételét röviddel (kb. egy hónap) a kezelést követően végeztem, mert lényeges volt, hogy még jól mérhető szermaradékot kapjak az egyes talajfúratokban.

A mintázandó tábla középső részén kijelöltem egy négyzög alakú, 1 ha területű ( $x=100$  m és  $y=100$  m) mintavételi területet. Minden oldalát 10 méterenként megjelöltem fehérre festett végű karókkal, melyek a tájékozódást segítették. A random mintavételi pontokat Excel® program (VÉLETLEN.KÖZÖTT függvény) segítségével generáltam. Egy mintavételi pontot két koordináta azonosított:  $x_1; y_1, x_2; y_2 \dots x_n; y_n$ . Ha olyan pontot generált a program, ami egyszer már szerepelt, azt kihagytam és helyette másikat választottam. Az így létrejött pozíciók gyakorlatilag a teljes mintavételi területet lefedték (Függelék 1. ábrája).

A mintavételt 6 munkatársam segítette. Egy-egy az  $x$  tengelyen illetve az azzal párhuzamos szemközti oldalon állt a kiválasztott koordinátaához, a másik kettő az  $y$  tengelyen (3. ábra), kettő pedig az egymással szemben lévő személyeket összekötő képzeletbeli vonalak metszéspontjában vette meg a mintákat. A mintavétel pontos helyét GPS navigációs készülékkel is rögzítettem. A képzeletbeli koordináta-rendszer segítségével megállítot mintavételi pont minden esetben beleesett a GPS készülékkel megállapított pozíció  $\pm 3$  m-es elfogadási tartományába.

Ahhoz, hogy az elemi minták (talajfuratok) szermaradék eloszlásának (alapsokaság) 97,5%-át ( $\beta_p$ ) 95%-os valószínűséggel ( $\beta_i$ ) lefedjük, egy mintázott területről legalább 119 elemi mintát ( $n$ ) szükséges venni. A számításhoz a 10. egyenletet alkalmaztam (CODEX SECRETARIAT, 1999).



3. ábra. A mintavételi hely meghatározása  $x$  és  $y$  koordináták alapján (▼ a mintavételt segítő munkatársak elhelyezkedése, ◆ a mintavételi pont;  $X=48, Y=23$ )

$$1 - \beta_t = (\beta_p)^n ; n = \frac{\log(1-\beta_t)}{\log\beta_p} \quad (10)$$

A fenti összefüggés alapján, ha a populáció nagyobb hányadát szeretnénk lefedni, vagy nagyobb valószínűséggel, az a szükséges minták számának drasztikus növekedésével járna, melyek vizsgálata a laboratórium kapacitását már túllépné. Így mindkét mintázandó területről összesen 130-130 elemi mintát vettem (10-10 mintát tartalékba). A minták számának kiválasztásakor azt is figyelme vettem, hogy a zöldség-gyümölcs mintákban végzett eloszlásvizsgálatok során is 100-130 elemi mintából indultak ki, így a kapott eredmények összehasonlíthatóak.

Minden mintavételi pontból talajfúróval egy elemi talajmintát vettem. Egy furat átlagosan 5 cm átmérőjű és 15 cm mély volt, ami kb. 300-400 gramm talajnak felelt meg. A mintákat előre felcímkézett polietilén zacskókba tettem. A címkék tartalmazták a minta egyedi azonosítóját, a mintavételi terület nevét, az x és y koordinátákat illetve a mintavétel idejét. A mintákat 12 órán belül lefagyasztottam és az előkészítésig fagyasztóban tároltam. A kezelt területen kívülről mindkét mintavételi területen kezeletlen (vak) mintákat is gyűjtöttem.

### 4.3 A minták szárazanyag-tartalmának meghatározása

Számításaimat minden esetben a talajminták szárazanyag-tartalmára vonatkozóan végeztem, melyet az MSZ 21470-108 (MSZH, 2006) szabvány előírásainak megfelelően határoztam meg a kísérletekben szereplő 7 talajmintára (Y97, X65, W33, V01, V02, U128, U129). Ehhez a minden vizsgálati sorozatban az egyes minta-homogenizálási eljárásokkal készített homogenizált talajokból 10-10 grammot előzetesen 105 °C-on tömegállandóságig hevített és előre lemért porcelántégelyekbe mértem, majd szárítószekrényben 105 °C-on súlyállandóságig tartottam. Szárítás után a mintákat tartalmazó edényeket vízmentes kalcium-kloridot tartalmazó exszikkátorba helyeztem, és kihülés után az edények tömegét visszamértem. A minták szárazanyag-tartalmának meghatározását a 11. ill. 12. egyenletek szerint végeztem.

$$n_t = \frac{a-b}{a-c} \times 100 \quad (11)$$

ahol  $n_t$  a minta víztartalma,  $a$  a mérőedény és a nedves talajminta együttes tömege (g),  $b$  a mérőedény és a száraz talajminta együttes tömege (g),  $c$  a mérőedény tömege (g).



$$sz_t = 100 - n_t \quad (12)$$

ahol  $sz_t$  a talajminta szárazanyag-tartalma,  $n_t$  a talajminta nedvességtartalma.

#### **4.4 A minta-homogenizálás véletlen hibájának meghatározása $^{14}\text{C}$ -atrazin felhasználásával**

A kísérlet célja, hogy meghatározzam és összehasonlítsam a talajmintákban leggyakrabban alkalmazott minta-homogenizálási módszerek hatékonyságát különböző típusú talajok esetében, valamint kidolgozzak egy megbízható, jól reprodukálható minta-homogenizálási technikát növényvédőszer-maradékok meghatározásához, mely a legtöbb talajtípusra alkalmazható, illetve reprodukálható, valamint hozzájárulása az eredmény kombinált relatív bizonytalanságához viszonylag alacsony ( $CV_{sp} \leq 10\%$ ).

##### **4.4.1 Az alkalmazott módszerek bemutatása**

A kísérletben négy minta-homogenizálási módszer hatékonyságának vizsgálatát tűztem ki célul: kézi homogenizálás, őrlés malomban, homogenizálás szárazjéggel, illetve desztillált vízzel. A kísérlet tervezésekor az Ambrus és munkatársai (AMBRUS, et al., 1996) által közölt módszert vettem alapul.

A vizsgálatok megkezdése előtt egy-egy vizsgálati sorozathoz az ISO 11464:2006 (ISO, 2006) szabványnak megfelelően kb. 1500-2000 g légszáraz talajt egy tálcán kézzel szétterítettem, a köveket, kavicsokat, egyéb növényi részeket eltávolítottam. Majd mozsárban összetörtem és átszitáltam 2 mm lyukátmérőjű szitán, ezután kézzel alaposan átkevertem.

Az előkészített kb. 1,5 kg talajminta egy kis részletét (kb. 50 g)  $^{14}\text{C}$ -atrazin oldattal (4.4.2. pont) kezeltem annak érdekében, hogy az egyedi minták szermaradék tartalmának kezdeti inhomogenitását tekintve a lehető legrosszabb esetet modellezzem (azaz csak egyetlen furat tartalmaz szermaradékot a 25-ből).

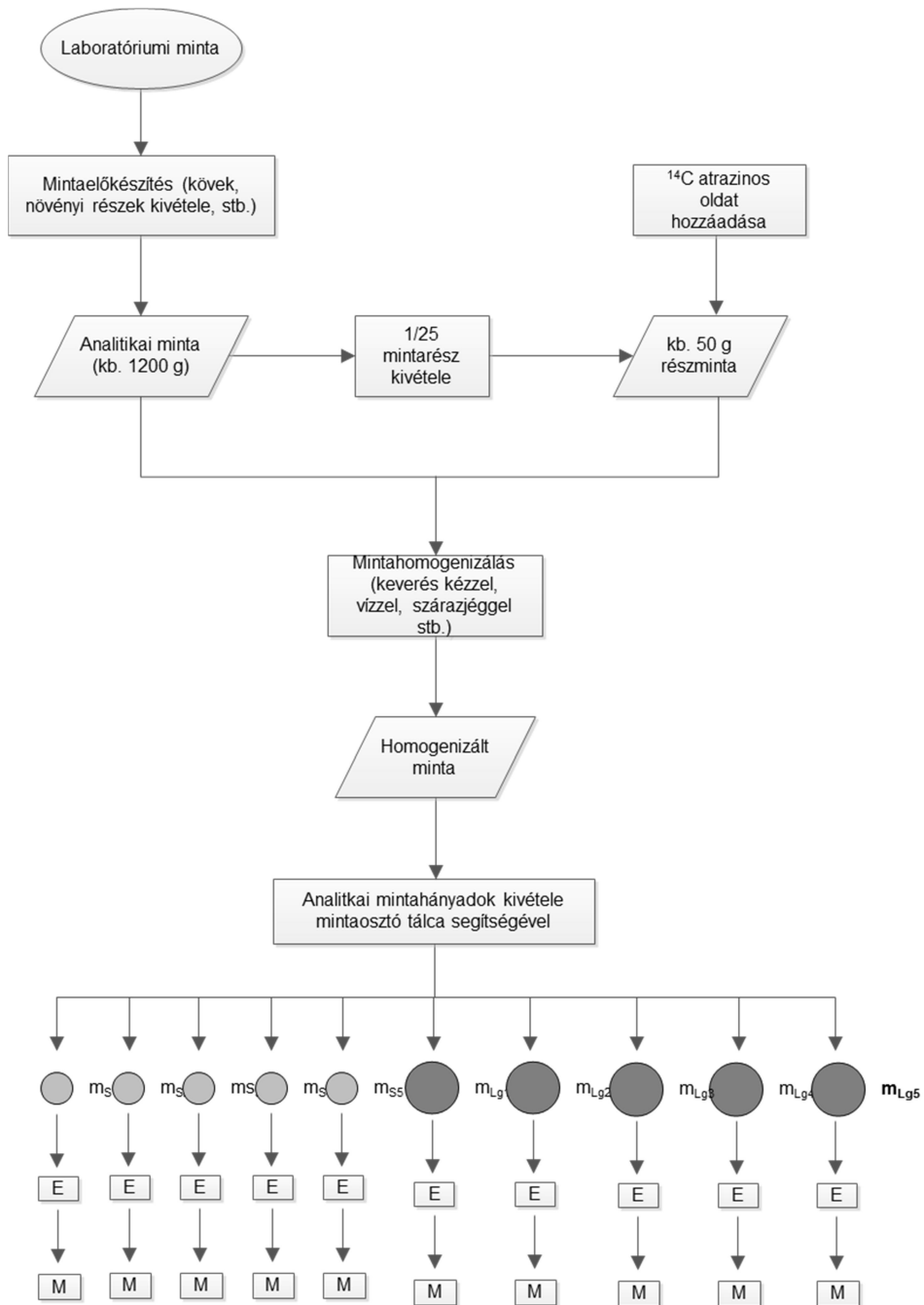
A kezelt talajrészt száradás után a kezeletlen mintahányaddal összekevertem, majd a teljes mintát a vizsgálandó minta-homogenizálási módszerek egyikével (ld. 4.4.3. pont) homogenizáltam. Az így előkészített talajmintából vettem ki az extrakcióra kerülő analitikai mintahányadokat egy speciális mintaosztó tálca segítségével (5. ábra). Minden vizsgálati sorozatban 5-5 párhuzamos mintát vizsgáltam: az egyik sorozat kis tömegű analitikai mintahányadokat ( $m_{Sm}$ , itt 20 g szárazanyagra nézve), a másik ettől tízszer nagyobb tömegűeket ( $m_{Lg}$ , itt 200 g) tartalmazott (azaz  $m_{Lg}/m_{Sm} \geq 10$ ).

Az egyes mintahányadok szermaradék tartalmát az acetonnal történt extrakció után folyadék szcintillációs számlálóval (LSC-vel) határoztam meg. A módszer előnye, hogy a jelzett atrazin meghatározása közvetlenül a nyers, tisztítatlan extraktból történt, kikerülve így a feldolgozás többi lépését. A módszer másik előnye, hogy rendkívül gyors, egy extraktból néhány perc alatt több párhuzamos mérés végezhető, így az analízis relatív hibája jóval kisebb (1-2%), mint egy gázkromatográfiás mérésé (15-20%).

A kísérlet során minden térfogatmérést tömegméréssel is kiegészítettem annak érdekében, hogy a kombinált bizonytalanságot, amennyire lehet, alacsonyan tartsam. A részeredmények/eredmények számítása minden esetben tömeg-alapon történt.

Az egyes kísérleteknél megállapítottam, hogy a minta statisztikailag jól kevert-e vagy sem, és ahol erre lehetőség volt, az eredményekből becsültem az alkalmazott eljárással kapott mintavételi állandókat ( $K_S$ ), majd módszerenként több párhuzamos vizsgálat felhasználásával az alkalmazott minta-homogenizálási eljárásra jellemző tipikus mintavételi állandókat ( $K_{Stip}$ ). Ennek ismeretében meghatároztam a minta-homogenizálásból eredő hiba nagyságát különböző analitikai mintahányadok esetében ( $CV_{SP}$ ).

A 4. ábra egy tipikus vizsgálati sorozat egyes lépéseit foglalja össze. A vizsgált minta-homogenizálási módszerrel több mérési sorozatot is végeztem, melyek áttekintését a 9. táblázat segíti.



4. ábra Egy tipikus vizsgálati sorozat felépítése. Rövidítések:  $m_s$ : kis analitikai mintahányadok (20 g);  $m_{Lg}$ : nagy analitikai mintahányadok (200 g),  $E$ : extrakció,  $M$ : műszeres meghatározás (LSC) (A tömegek szárazanyagra vonatkoznak).

9. táblázat: A munkatervben szereplő vizsgálatok áttekintése

Módszer	N <sub>i</sub>	Minta jele						N	
		Y97	X65	W33	V01	V02	U128		U129
Kézi keverés	1.	+	+	+	+	+			
	2.	+	+	+	+	+			
	3.	+	+	+			+	+	
	4.		+	+					
Örlés <sup>1</sup>	1				+	+		2	
Homogenizálás szárazjég jelenlétében <sup>2</sup>	1.	+	+	+			+	+	5
	2.								
Homogenizálás vízzel	1.						+	+	
	2.							+	
	3.						+		
	4.	+	+	+			+		11
	5.						+	+	
	6.						+		
<b>Összesen:</b>								<b>35</b>	

<sup>1</sup> Örlést csak a nagyon száraz talajok esetében tudtam végezni.

<sup>2</sup> Miután a szárazjéggel történő homogenizálás nem csökkentette jelentősen a szermaradékok variabilitását az egyes mintahányadokban, így költségessége miatt több sorozatvizsgálatot nem végeztem.

N<sub>i</sub>: a sorozatok sorszáma; N: az egy minta-homogenizálási módszerrel végzett sorozatok száma összesen.

#### 4.4.2 A talajminták kezelése <sup>14</sup>C- atrazin oldattal

Az előkészített talajminta egy részletének kezeléséhez <sup>14</sup>C-gyel a gyűrűn jelzett atrazint (2. ábra), illetve jelzetlen, ún. „cold”-atrazint együttesen tartalmazó törzsoldatot készítettem acetonban, mely koncentrációja összes atrazinra (<sup>14</sup>C jelzett és jelzetlen) nézve 0,05 mg/ml volt, célzott aktivitása pedig 50 000 Bq/ml (3 000 000 dpm/ml). Az elkészült törzsoldat pontos aktivitását a törzsoldat 3 alikvotjának 3-szor megismételt <sup>14</sup>C aktivitás mérésének átlagából határoztam meg.

Egy-egy vizsgálati sorozathoz az előzetesen átszitált, előkészített mintából kb. 1200 g-ot mértem egy edénybe. A kb. 1/25-nyi rész kezeléséhez bemértem 50 g-ot egy 500 ml-es főzőpohárba és a talajt az edény alján szétterítettem. A jelzetlen atrazint és  $^{14}\text{C}$ -atrizint együttesen tartalmazó sztenderd törzsoldatból Hamilton fecskendővel 1000  $\mu\text{l}$ -t egyenletesen szétcsepegtettem a szétterített talaj teljes felületén. A mintát ezt követően elszívófülkébe helyeztem kb. 30 percre, hogy az oldószer elpárologjon. Száradás után a kezelt mintarészt a vizsgálandó 4 homogenizálási módszer egyikének alkalmazásával (részletesen lsd. 4.4.3. pont) a kezeletlen mintahányadhoz kevertem.

A kiindulási talajminta pontos tömegét minden esetben feljegyeztem, majd kiszámoltam az aktuális hozzáadási szintet dpm/g talajra nézve. Az adatokat az előre elkészített Excel sablonban rögzítettem (Függelék F1. táblázat), melyekkel a további számítások történtek.

#### **4.4.2.1 $^{14}\text{C}$ -atrizin aktivitásának meghatározása az extraktokban**

Húszmilliliteres polietilén LSC fiolákba 12-12 ml folyadék szcintillációs koktélt mértem, majd hozzáadtam a centrifugált talaj extraktok (4.4.5. pont) 5-5 ml-ét. Minden extraktból 3 párhuzamot készítettem. Az edényeket gondosan lezártam és alaposan összeráztam, majd a  $^{14}\text{C}$ -atrizin aktivitását LSC készülékkel határoztam meg. A készülék kalibrációja után minden minta radioaktivitását 3-szor 5 percig mértem. A mérés pontosságának és helyességének ellenőrzéséhez minden mérési sorozatban egy  $^{14}\text{C}$ -jelzett referencia sztenderdet is elemeztem.

A minták pontos kiindulási aktivitásának meghatározásához az extrakciót megelőzően a talaj 500 mg-nyi hányadát biológiai oxidáló berendezésben izzítottam. A készülékben 900 °C-on plusz oxigén adagolása mellett a vizsgált minta tökéletesen elég. A felszabaduló  $^{14}\text{CO}_2$  gázt 10 ml etanolamin/metanol abszorpciós oldatban nyelettem el. Az oldathoz szcintillációs koktélt adva LSC-vel mértem a kiindulási aktivitást.

Használat előtt minden alkalommal elvégeztem az oxidáló berendezés hatékonyságának ellenőrzését. Először a háttér aktivitást határoztam meg, ehhez 500 mg szűrőpapírt mértem be az égetőcsónakba. Ezt követően egy  $^{14}\text{C}$  sztenderd papírcsíkot égettem el. A felszabaduló  $^{14}\text{CO}_2$  elnyeletéséhez mindkét esetben 10 ml abszorpciós oldatot és 5 ml szcintillációs koktélt pipettáztam a szcintillációs fiolákba, majd LSC-vel megmértem a  $^{14}\text{C}$  aktivitásokat. Az oxidáló berendezés hatékonyságát az alábbiak szerint határoztam meg:

$$E = \frac{A_{Std-ox} - A_H}{A_{Std}} \quad (13)$$

$E$ : az oxidáló berendezés hatékonysága

$A_{Std-ox}$ : a sztenderd hamvasztása után mért aktivitás (dpm)

$A_H$ : a szűrőpapírban mért háttéraktivitás (dpm)

$A_{Std}$ : a sztenderd elméleti aktivitása (dpm)

A készülék hatékonysága megfelelő, ha a visszanyerés nagyobb, mint 98%.

#### 4.4.3 Az alkalmazott minta-homogenizálási módszerek

A talajok átlagos szermaradék tartalmának vizsgálatára az ISO 10381-1:2002 szabvány szerint minimum 25 mintavételi pontból származó 8-10 kg-nyi mintát a vizsgálni kívánt minta-homogenizálási módszerek egyikével a lehető legalaposabban össze kell keverni. A szermaradékok eloszlásának vizsgálatára az egyes táblákról vett elemi mintákat (talajfuratokat) ugyancsak nagyon alaposan homogenizálni kell.

A tápanyag ellátottsági és mechanikai tulajdonságok vizsgálatánál általánosan alkalmazott szárítás a növényvédőszer-maradék vizsgálatoknál nem alkalmazható, mert a mintában lévő szermaradék részben vagy egészben lebomolhat, vagy a talajnedvességgel együtt elpárologhat. A fagyasztva szárítás kis mintahányadoknál jöhet esetleg szóba, mint alternatíva, ami azonban speciális berendezést igényel, költséges és időigényes, ezért a legtöbb vizsgáló laboratórium számára nem jelent a gyakorlatban alkalmazható megoldást.

A vizsgálataim során az idegen anyagoktól megtisztított (előkészített) talajokat a következő módszerekkel homogenizáltam.

##### 4.4.3.1 *Kézi keverés mechanikus keveréssel kombinálva*

A talajminta közelítőleg 1200 grammnyi mennyiségét egy tálcán kézzel alaposan összekevertem, majd annak érdekében, hogy a keverés hatékonyabb legyen, átöntöttem egy 5 literes csavaros kupakos edénybe és roller típusú, görgőkkel ellátott laboratóriumi keverőn 20 percig kevertem.

##### 4.4.3.2 *Őrlés malomban és mechanikus keverés*

Ezt a módszert csak a száraz (szárazanyag-tartalom > 90%) talajok esetében lehet alkalmazni.

A száraz talajmintát porcelán mozsárban összetörtem, majd mintaórló malomban megőröltem, és kb. 1000-1200 g-ot bemértem egy 5 literes csavaros kupakkal ellátott edénybe, majd roller típusú, görgős laboratóriumi keverőn 20 percig kevertem.

#### **4.4.3.3 Homogenizálás szárazjég jelenlétében**

A vizsgálandó talajmintát laboratóriumi homogenizátorban néhány percig kevertem, majd kis részletekben szárazjeget adagoltam a talajhoz, betartva a biztonsági előírásokat. A keverési időt, valamint a hozzáadott szárazjég mennyiségét a talajminta szerkezete illetve víztartalma határozta meg. Ahhoz, hogy a homogenizálás során finom porszerű anyagot kapjak, kb. 1,5 kg talajmintához 750-1500 g szárazjég, illetve 1-3 perc keverési idő volt szükséges. Az így homogenizált mintát egyenletesen szétterítettem a mintaosztó tálcán (6. ábra), hogy a szárazjég elszublimálhasson. A tálcát alufóliával takartam be, hogy a víz kondenzációját elkerüljem.

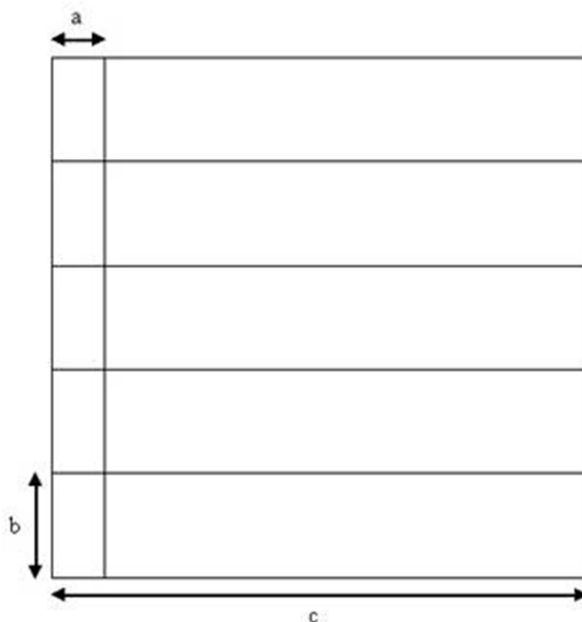
#### **4.4.3.4 Homogenizálás desztillált víz hozzáadásával**

A kezelt és kezeletlen mintahányadokat laboratóriumi homogenizátorba öntöttem, és desztillált víz hozzáadásával a talaj víztartalmát 30-40%-ra állítottam be. A talaj-víz keveréket néhány másodpercig állni hagytam, majd 1-3 percig kevertettem. A blender falára és fedelére felcsapódott mintarészeket egy spatulával rendre visszakapartam. A minta állagát szemrevételezéssel ellenőriztem, és amennyiben szükséges volt, további vizet adtam a homogenizálandó mintához és folytattam a keverést, amíg finom talajkrémet nem kaptam. A hozzáadott víz tömegét minden esetben feljegyeztem.

#### **4.4.4 Az extrakcióra kerülő mintarészek (analitikai mintahányadok) elkülönítése a homogenizált mintákból**

A jól elkevert mintákból az analitikai mintahányadok kivételét ún. mintaosztó tálca segítségével végeztem (5. ábra), melyet kifejezetten ehhez a munkához készítettem. A tálca használatára azért volt szükség, mert így biztosítani tudtam az egyenletes szemcseméret eloszlást, a homogenizált minta szegregációjának elkerülését, valamint azt, hogy az egyes mintahányadok az előkészített minta „homogenitásának” ellenőrzése szempontjából legkedvezőtlenebb esetet megvalósítva egy "helyről" vett minták legyenek.

A mintaosztó tálca (40 cm × 40 cm × 2 cm) rozsdamentes acélból készült egy hozzátartozó fém ráccsal, mely a tálcát 5 egyenlő kis részre (8 cm × 4 cm) illetve 5 egyenlő nagy részre (8 cm × 36 cm) osztja (5. ábra).



**5. ábra Mintaosztó tálca (a = 4 cm; b = 8 cm; c = 40 cm; mélység = 2 cm)**

Egy-egy vizsgálati sorozat elkészítéséhez a 4 minta-homogenizálási módszer egyikével homogenizált talajmintát egyenletesen szétterítettem a mintaosztó tálcáján, majd a tálcára helyeztem a fém rácsot (6. ábra). Minden rész egy-egy analitikai mintahányadot határozott meg, így a kis részekből 5-ször kivettem szárazanyagra nézve kb. 20 g részmintát ( $m_{Sm}$ ) illetve a nagyokból 5-ször kb. 200 g ( $m_{Lg}$ ) mintahányadot.



**6. ábra Homogenizált talajminta a mintaosztó tálcán**



A kis mintahányadokat előzetesen lemért 100 ml-es centrifugacsövekbe, a nagy mintahányadokat pedig 500 ml-es Erlenmeyer lombikokba mértem. Az egyes mintahányadok pontos tömegét az előzetesen lemért üres illetve a kivett talajjal együtt mért edények tömegének különbségéből határoztam meg.

#### 4.4.5 Az analitikai mintahányadok extrakciója

A bemért, száraz talajra nézve kb. 20 g/200 g tömegű mintákhoz 2,8 ml/28 ml 0,2 M-os NH<sub>4</sub>Cl oldatot adtam, majd kétszeres mennyiségű (40 ml/400 ml) acetonnal az extraháló edények gondos lezárása után fél órán keresztül rázógépen 200-250 rpm sebességgel rázattam. A rázatási sebességet úgy választottam meg, hogy az edényben az extrakció során a talaj teljes mennyisége folyamatosan mozgásban legyen. A nagy mintahányadok esetében a fél óra leteltével hagytam, hogy a talaj leülepedjen az extraháló edény aljára, majd az extraktból 50 ml-t áttettem egy centrifugacsőbe és 1 percig centrifugáltam 3000 rpm sebességgel. A kis mintahányadok esetében a centrifugálást közvetlenül az extraháló edényekben végeztem. A térfogatméréseket minden esetben kiegészítettem tömegméréssel is. Minden extraktban meghatároztam a <sup>14</sup>C aktivitást a 4.4.2.1. pontban leírt módon, majd mérési sorozatonként a visszanyert átlagos aktivitást (Q).

#### 4.4.6 A mintavételi állandó ( $K_S$ ) meghatározása

Minden vizsgálatnál két olyan mintasorozatból indultam ki, ahol az analitikai mintahányadok tömegei egymástól jelentősen eltértek. Az egyik sorozat kis tömegű analitikai mintahányadokat ( $m_{Sm} = 20$  g szárazanyagra nézve), a másik ettől tízszer nagyobb tömegűeket ( $m_{Lg} = 200$  g) tartalmazott. Ha feltételezzük, hogy a minta jól kevert, akkor a két sorozatra ugyanaz a mintavételi állandó (6. egyenlet) vonatkozik, tehát:

$$K_{SLg} = K_{SSm} \quad (14)$$

$$m_{Lg} \times CV_{SP_{Lg}}^2 = m_{Sm} \times CV_{SP_{Sm}}^2 \quad (15)$$

Jól homogenizált minta esetében a kis- és a nagy mintahányadok átlagos szermaradék koncentrációja ( $R_{Sm}$  és  $R_{Lg}$ ) is egyenlő, így a  $CV_{SP}$  helyére (ami nem más, mint  $S_{SP}/R$ ) behelyettesíthető a szórás ( $S_{SP}$ ):

$$m_{Lg} \times S^2_{SP_{Lg}} = m_{Sm} \times S^2_{SP_{Sm}} \quad (16)$$

$$S^2_{SP_{Lg}} = S^2_{SP_{Sm}} \times \frac{m_{Sm}}{m_{Lg}} \quad (17)$$

$S_{SP}$  számolható az egyes mintahányadokban mért maradékok ( $R$ ) variáciájából ( $V_T$ ), valamint az analízis variáciájából ( $V_A'$ ), feltételezve, hogy a  $V_T$  95%-os valószínűségi szinten egyoldali F-teszt (MILLER & MILLER, 2010) alapján szignifikánsan nagyobb, mint  $V_A'$ :

$$V_{SPE} = V_T - V_A' \quad (18)$$

A  $V_A'$  a szermaradékok ugyanazon extraktból történő ismételt analízisével határozható meg. Megjegyzés:  $V_A'$  nem ugyanaz, mint  $V_A$  ( $S_A^2$ ). Utóbbi a visszanyerési vizsgálatok eredményeiből számolandó. A szabadsági fokok meghatározása  $V_T$  esetében  $v=h \times n - 1$ ,  $V_A'$ -nál pedig  $v=h(n-1)$ , ahol  $h$  a jól kevert mintából kivett mintarészek száma,  $n$  pedig az egy mintarészből készült extraktból mért ismétlésekkel egyenlő.

Azokban az esetekben, ahol az F-teszt eredménye alapján a  $V_T$  és a  $V_A'$  nem különbözik szignifikánsan egymástól, a  $V_{SP}$  nem számolható, ami azt jelenti, hogy a mintahomogenizálásból eredő hiba elhanyagolható és a mintát jól kevertnek tekinthetjük.

Miután a variancia becslése kevés számú mérésen alapul, így igen pontatlan, ezért a 17. egyenlet által leírt egyenlőséget kétoldali F-teszttel ellenőrizni kell. Amennyiben  $S^2_{SPLg}$  és  $S^2_{SPSm}$  ( $m_{Sm}/m_{Lg}$ ) hányadosa (mindig a nagyobb szerepel a számlálóban) kisebb, vagy egyenlő, mint a kritikus F-érték, a különbség nem szignifikáns. Ebben az esetben a homogenizált minta statisztikailag szintén jól kevertnek tekinthető, és a  $CV_{SPE_{Lg}}$ -ből (19. egyenlet) meghatározható a mintavételi állandó ( $K_{SPE}$ , 6. egyenlet), ami így sokkal pontosabb, mintha a kis mintahányadokból becsülnénk (MAESTRONI, et al., 2000).

$$CV_{SPE_{Lg}} = \frac{\sqrt{V_{SPE_{Lg}}}}{R_{Lg}} \quad (19)$$

ahol  $R_{Lg}$  a nagy mintahányadok átlagos szermaradék koncentrációja.

Wallace és Kratochvil (1987) F-tesztnél a 90% vagy alacsonyabb konfidenciaszint használatát javasolják, mert, ha azt az eredményt kapjuk,

hogy a minta jól kevert, miközben az mégsem az, akkor az bizonyos körülmények között súlyos következményekkel járhat. Mivel az analitika területén a bizonytalanság becslését 95%-os szinten szokták végezni, így azokat az eseteket, ahol a számolt F-érték kisebb volt, mint a  $P_{0.90}$  valószínűséghez tartozó kritikus F-érték ( $F_{0.1, 4, 4}$ ), jól-kevert mintaként értelmeztem. Ahol pedig a számított F-érték a  $P_{0.90}$  illetve a  $P_{0.95}$  valószínűséghez tartozó kritikus érték közé esett, azokat az eseteket határesetként kezeltem.

A 18. egyenlettel számolt  $V_{SPE}$  tartalmazza az egyes mintahányadok szermaradék tartalmának inhomogenitásából eredő variabilitását, valamint az extrakcióból eredő variabilitást ( $V_E$ , 4.5. pont). Ezért, amennyiben az 1. egyenletet alkalmazzuk a vizsgálati eredmény bizonytalanságának meghatározására, olyan  $S_{SP}^2$  ( $V_{SP}$ ) értékből kell kiindulni, ami nem tartalmazza az extrakció hibáját, így elkerülhető annak kettős figyelembe vétele. Az egyenletben szereplő  $V_E$  nem más, mint az ismert mennyiségű sztenderddel kezelt ismételt analitikai mintahányadok extraktjainak analízisével kapott visszanyerési értékeiből számolt variancia (lsd. még 4.5. pont.), mely tartalmazza a  $V_A$ -t. Az ismételt mintahányadok analízisének eredményeinek bizonytalansága számítható az összes mérés varianciájából:

$$V_{SP} = V_T - V_E \quad (20)$$

A mintavételi állandó ( $K_{SP}$ ) meghatározásához a  $V_{SP}$ -t használtam fel, hogy pontosabb értéket kapjak.

A fenti módszerrel minden vizsgálati sorozatot kiértékeltem és ahol jól kevert mintát kaptam, becsültem az adott vizsgálatra jellemző mintavételi állandót.

#### **4.4.6.1 A tipikus mintavételi állandó, valamint konfidencia intervallumának becslése**

Az adott minta-homogenizálási módszerrel készített vizsgálati sorozatokat több ismétlésben is elvégeztem (lsd. 9. Táblázat), így becsülhetővé vált az adott módszerre jellemző *tipikus mintavételi állandó* ( $K_{Sup}$ ) (MAESTRONI, et al., 2000).

Cochran-tesztel ( $\alpha=0.05$ ) (MILLER & MILLER, 2010), megvizsgáltam, hogy az egyes mintasorozatokról származó  $V_{SP}$  (20. egyenlet) értékek egy sokaságból származnak-e. Az átlagos (pooled) varianciát ( $V_{SP_{pooled}}$ ) azokból a  $V_{SP}$  értékekből számítottam, melyek a Cochran-

teszt alapján homogénnek bizonyultak. Így az átlagos variancia négyzetgyöke és az átlagos visszanyerés ( $Q_{ave}$ ) hányadosaként becsültem a tipikus  $CV_{SPtip}$ -t, melyből kifejeztem az alkalmazott minta-homogenizálási módszerre jellemző tipikus mintavételi állandót ( $K_{S_{tip}}$ ).

$$K_{S_{tip}} = m_{Lg} \times CV_{SPtip}^2 \quad (21)$$

Mint minden statisztikai becslésnek, így a számolt tipikus mintavételi állandónak is megvan a maga bizonytalansága. A becsült tipikus  $V_{SP}$  értékhez a 95%-os konfidencia intervallumot a Chi-négyzet eloszlás (MILLER & MILLER, 2010) segítségével számoltam ki. A  $V_{SP}$  valódi értéke az alábbi intervallumban várható:

$$v \times S_{SP}^2 / \chi^2_{0,025} \leq \sigma_{SP}^2 \leq v \times S_{SP}^2 / \chi^2_{0,975} \quad (22)$$

ahol:

$v$ : szabadsági fok =  $h \times (n-1)$

$h$ : a figyelembe vett átlagos (pooled) varianciák (=mintasorozatok) száma

$n$ : az egyes mintasorozatokban lévő ismétlések száma

$\chi$ : táblázati érték

A konfidencia intervallum alsó és felső értékeinek felhasználásával meghatároztam az adott minta-homogenizálási módszerre jellemző  $K_{SPtip}$  várható minimum és maximum értékeit:

$$K_{SPtip_{min}} = m_{Lg} \times \left( \frac{\sqrt{V_{SPpooled_{min}}}}{Q_{AVE}} \times 100 \right)^2 \quad (23)$$

$$K_{SPtip_{max}} = m_{Lg} \times \left( \frac{\sqrt{V_{SPpooled_{max}}}}{Q_{AVE}} \times 100 \right)^2 \quad (24)$$

#### 4.4.6.2 *A minta-homogenizálás bizonytalanságának becslése a tipikus mintavételi állandó felhasználásával*

A tipikus mintavételi állandóból megbecsülhető, hogy mekkora a minta-homogenizálás bizonytalansága egy adott extrakcióra kerülő vizsgálati mintarész ( $m_i$ ) esetében (ami nagyobb, vagy egyenlő, mint  $m_{Sm}$ ):

$$CV_{SPi} = \sqrt{\frac{K_{SPtip}}{m_i}} \quad (25)$$

### 4.5 Az extrakció reprodukálhatóságának meghatározása

Az extrakció reprodukálhatóságának ( $CV_E$ , ill.  $V_E$ ) meghatározásához visszanyerési vizsgálatokat végeztem 7 talajmintából (Y97, X65, W33, V01, V02, U128, U129). A vizsgálatokat 2 különböző napon egy-egy munkatársam is megismételte. A minták kezeléséhez  $^{14}\text{C}$ -atrazint, illetve jelzetlen atrazint együttesen tartalmazó sztenderd oldatot alkalmaztam. Az oldatok pontos aktivitását LSC-vel határoztam meg úgy, hogy minden oldatból 3-szor 1 ml alikvot aktivitását 3 párhuzamosban mértem a 4.4.2.1. pont szerint. A 4.4.1. pontban előkészített kezeltetlen talajmintákból 20 grammnyi mennyiségeket mértem Petri csészékbe, majd a sztenderd oldatból 1 ml-t Hamilton fecskendővel a szétterített talaj felületén egyenletesen eloszlattam. A mintához adott oldat pontos aktivitásának és mennyiségének ismeretében meghatároztam az elvárt aktivitásokat ( $A_{Sp}$ ).

Az így kezelt mintákat fél órára elszívófülke alá helyeztem, majd az acetone elpárolgása után a talajokat 250 ml-es centrifuga csövekbe öntöttem át. A mintákhoz 2,8 ml 0,2 mólos  $\text{NH}_4\text{Cl}$  oldatot és 40 ml acetont adtam, majd az edényt csavaros kupakkal jól lezártam. A mintákat fél órán át 200-250 rpm sebességgel, vízszintes rázógéppel rázattam. A rázatósi sebességet úgy választottam meg, hogy a talaj-oldószer elegy teljes mennyisége az edényben állandó és intenzív mozgásban legyen. Ezt követően a mintákat 3000 rpm sebességgel centrifugáltam. Az extraktok aktivitásának ( $A_E$ ) meghatározását a 4.4.2.1. pont szerint végeztem.

A talajok háttéraktivitásának ( $A_0$ ) meghatározásához minden mintából bemértem 20 grammot és sztenderd oldat hozzáadása nélkül a fenti módszerrel extraháltam, majd LSC-vel megmértem az extraktok aktivitását.

Az atrazin visszanyerését ( $Q_E$ ) az extraktban mért ( $A_E$ ) és a háttérrel korrigált ( $A_0$ ) aktivitás valamint az elméletileg várt aktivitás ( $A_{Sp}$ ) hányadosaként határoztam meg:

$$Q_E = \frac{A_E - A_0}{A_{Sp}} \quad (26)$$

A talajminták extrakcióját 4-5 ismétlésben végeztem. A visszanyerések szórásából ( $S_{QE}$ ) valamint átlagából ( $\bar{Q}_E$ ) becsültem az extrakció reprodukálhatóságát:

$$CV_{QE} = \frac{S_{QE}}{\bar{Q}_E} \quad (27)$$

A hét talajminta összes ( $n$ ) visszanyeréséből számolt átlagos visszanyeréséből ( $\bar{Q}_E$ ) illetve varianciájából ( $S_{QE'}^2$ ) becsültem az extrakció kombinált bizonytalanságát ( $CV_E$ ):

$$CV_E = \frac{\sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_{QE'}^2}}{\bar{Q}} \quad (28)$$

#### 4.6 Az extrakció hatékonyságának vizsgálata

A kísérlet egyik fő célja az volt, hogy megállapítsam a növényvédőszer-analitikában széles körben elterjedt oldószerek (aceton, etil-acetát, hexán, illetve ezek keverékei) alkalmazhatóságát talajminták növényvédőszer-maradék vizsgálatára. Az acetonitrit, mint napjaink legelterjedtebb extraháló-szerét a vizsgálatokból kihagytam, mert fontos szempont volt, hogy a kapott extrakt NPD (nitrogén-foszfor szelektív detektor) illetve ECD (elektronbefogási detektor) detektorok alkalmazásával is vizsgálható legyen, hiszen sok laboratórium számára a GC-MS/MS valamint az LC-MS/MS készülékek még napjainkban sem elérhetőek.

A kísérlethez kb. 8-10 kg kezeletlen talajmintákat (V01, V02 és X65), gyűjtöttem (4.2.1. pont) a talaj felső 15 cm-es rétegéből. Az egyes minták jellemző fizikai-kémiai paramétereit a 1. táblázatban foglaltam össze. A talajmintákat az ISO 11464:2006 szabvány előírásai szerint készítettem elő, szárazanyag tartalmukat pedig a 4.3. pont szerint határoztam meg.

Az extrakció hatékonyságát  $^{14}\text{C}$ -jelezett különböző fizikai-kémiai tulajdonságú növényvédő szer hatóanyagok felhasználásával (karbofurán, klórpirifosz, klórfenvinfosz és p,p-DDT (4. táblázat ill. 2. ábra) vizsgáltam. A kezelésekhöz szükséges sztenderd munkaoldatokat komponensenként külön

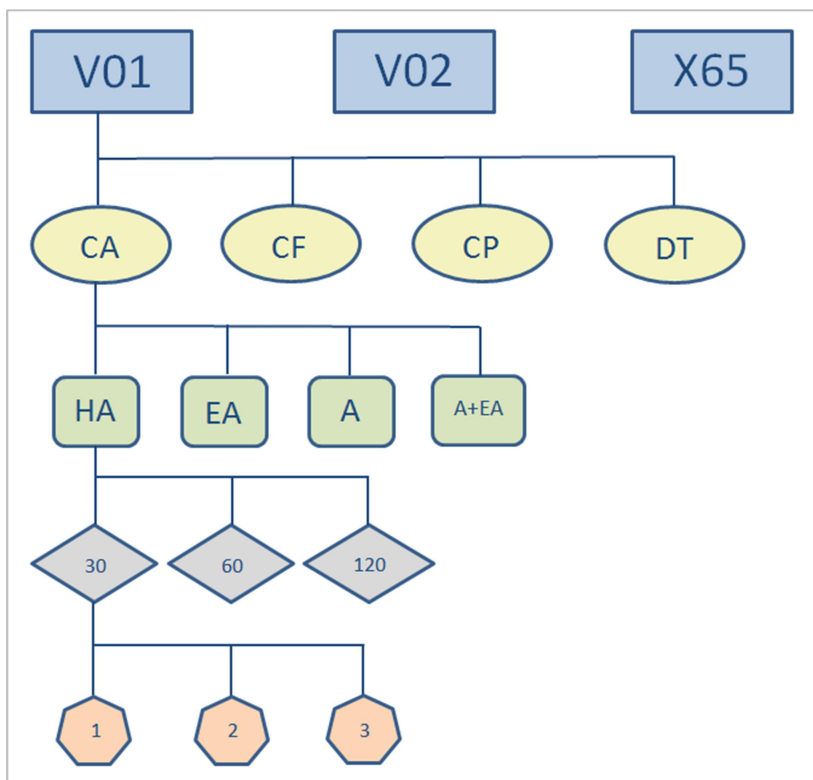
oldatban, acetonban készítettem el. Az egyes oldatok koncentrációja (jelzett és jelzetlen anyag együttesen) 0,3 µg/ml, célzott aktivitása pedig 400 Bq/ml (24 000 dpm/ml) volt. A pontos aktivitást az oldatok 3-3 alikvotjának 3-szor megismételt <sup>14</sup>C aktivitás mérésének átlagából, az alkalmazott oldószer tömegének felhasználásával (AMBRUS, et al., 2017) határoztam meg.

A <sup>14</sup>C-jelzett vegyületek alkalmazása lehetővé tette, hogy koncentrációjukat a gázkromatográfiás méréseknél sokkal pontosabb, reprodukálhatóbb (CV < 1%) és gyorsabb LSC méréssel határozzam meg.

Hús grammm előkészített talajt (V01, V02 és X65) bemértem egy 250 ml-es gömblombikba, majd hozzáadtam 30 ml sztenderd oldatot (0,05 mg/kg), mely az egyik tesztkomponenst tartalmazta. A gömblombikot rotációs vákuumbepárlóval szobahőmérsékleten 15 percen át forgattam, hogy a kezelő oldat egyenletesen átjárhassa a talajt. Ezt követően az acetont 35 °C-os vízfürdőn, gyenge vákuumban elpároltam a talajról. A kapott porszerű kezelt talajmintát 100 ml-es centrifugacsövekbe öntöttem át, és víztartó kapacitásáig desztillált vizet adtam hozzá, majd az edényeket gondosan lezártam. A tesztedényeket az Nemzetközi Atomenergiái Ügynökség Agrokémiai Osztályának üvegházában közel 25°C hőmérsékleten tartottam 6 hónapig, az elpárolgott vizet rendszeresen pótoltam.

A talajok háttéraktivitásának meghatározásához a kezelt mintákkal egy mérési sorozatban kezeletlen talajmintákat is előkészítettem. A minták <sup>14</sup>C aktivitását a 4.4.2.1 pontba leírtak szerint határoztam meg.

A hat hónap letelte után a kezelt minták szárazanyagra vonatkoztatott kb. 20 g-os hányadát a kiválasztott 3 extrahálószer felhasználásával extraháltam. A kísérletekhez olyan oldószereket választottam, melyeket elterjedten alkalmaznak a növényvédőszer-maradékok kinyerésére talajból illetve növényi mintákból. A kiválasztott három oldószer/oldószerkeverék közepesen vagy erősen poláros, jól alkalmazható a hasonló polaritással rendelkező növényvédő szerek maradékainak extrahálására. Az egyik leghatékonyabb extrahálószer, a diklórmétánt, erős környezetkárosító hatása miatt kihagytam a vizsgálatból.



7. ábra Az extrakciós hatékonyság vizsgálatához végzett vizsgálatok összefoglalása  
 Talajminták: V01, V02 és X65; Komponensek: karbofurán (CA), klórfenvinfosz (CF), klórpírifosz (CP) és p,p-DDT (DT); Extrahálószerke: hexán:acetón 1:1 (HA), etil-acetát (EA), acetón (A), 1. acetón+2. etil-acetát (A+EA); Extrakciós idők: 30, 60 és 120 perc; 3 párhuzamos vizsgálat (1,2,3).

Az extrakciót 3 párhuzamosban végeztem az alábbi lépések szerint minden vizsgálati sorozatnál:

1. A centrifugacsőbe bemért talajmintához 2,8 ml 0,2 mólos  $\text{NH}_4\text{Cl}$  oldatot adtam, alaposan összekevertem és 15 percig állni hagytam. Ezt követően 40 ml extraháló szert adtam a mintához, az edényt alaposan lezártam és vízszintes rázógépen fél órán át 200-240 fordulat/perc sebességgel rázattam.
2. A minta-oldószer elegyet ezután centrifugáltam 3000 fordulat/perc sebességgel 1 percig, és a tiszta extraktból 1-1 ml-t 12-12 ml szcintillációs koktélhoz pipettáztam. A fiolákat alaposan összeráztam és extraktonként 3-szor 1 ml alikvot aktivitását LSC-vel 3-szor 5 percig mértem.
3. A talajt illetve oldószert tartalmazó centrifugacsövet további fél órán át rázattam vízszintes rázógépen (teljes extrakciós idő 1 óra).



4. A 2. lépést megismételtem, majd a mintát újabb egy órát rázattam (teljes extrakciós idő 2 óra).

Így az egyes talajminta-tesztkomponens párból összesen 12-12 vizsgálatot végeztem, mindegyiket 3 párhuzamosban (lásd 7. ábra).

Az első vizsgálati sorozat eredményei alapján további tesztek végeztem úgy, hogy az első fél óra rázatás 20 ml acetonban történt (ez vitte szét a talajrögöket a legjobban), majd a második fél óra rázatást 20 ml etil-acetát hozzáadásával végeztem el (a kevésbé poláros komponensek hatékonyabb kivonásához).

A visszanyeréseket ( $Q$ ) a 26. egyenlethez hasonló módon az extraktban mért ( $A$ ) és a háttérrel korrigált ( $A_0$ ) aktivitás valamint az elméletileg várt aktivitás ( $A_E$ ) hányadosaként határoztam meg. A minták szárazanyag-tartalmának meghatározását a 4.3. pontban leírtak szerint végeztem el, a visszanyerés számításokat a minta szárazanyag-tartalmára vonatkoztattam.

Az extrahált talajon maradt extraháló szert dekantáltam, majd a mintát további 20 ml extrakciós oldószerral átöblítettem. Centrifugálás után az oldószert leöntöttem és a talajmintát elszívófülke alatt tartottam a súlyállandóság eléréséig. A talajokban maradt aktivitás meghatározásához a kiszáritott talaj 500 mg-nyi hányadát biológiai oxidáló berendezésben izzítottam, majd a felszabaduló  $^{14}\text{CO}_2$  gázt az abszorpciós oldatban elnyeltem és az aktivitást LSC-vel határoztam meg.

Az eredmények kiértékelése során megállapítottam az optimális oldószert összetételt, valamint a rázatási időt, illetve meghatároztam a talajban maradó extrahálható anyagok mennyiségét. Az így kidolgozott módszert validáltam, majd felhasználtam a talajfuratokban lévő szermaradék meghatározására a kezelt területen a szermaradék eloszlás vizsgálata céljából.

#### **4.7 Az optimalizált analitikai módszer leírása és validálása**

A módszer validálásához 10 tesztkomponenst (azinfosz-etil, dimetenamid, klórfeninfosz, klórpírifosz, oxifluorfen, pendimetalin, prometrin, propazin, terbutilazin és terbutrin), választottam ki. A tesztkomponensek fizikai-kémiai paramétereit (vízoldhatóság, illékonyság, oktanol-víz megoszlási hányados, stb.) széles tartományt fednek le (6. táblázat).

A módszer-validálás során kezeletlen területről származó V01, V02 és X65 előkészített talajminták (1. táblázat) analitikai mintahányadaihoz adtam ismert mennyiséget a fenti komponenseket tartalmazó acetonban készített

sztenderd munkaoldat keverékből a kimutatási határ szintjén (LOQ), illetve annak 20 és 100-szorosán (20LOQ, 100LOQ).

A talajok homogenizálását a korábban leírt módon (4.4.3.4), desztillált víz hozzáadásával végeztem. A krémszerű vizes mintából 20 g száraz talajnak megfelelő mennyiséget mértem be egy 100 ml-es centrifugacsőbe. A mintához 2,8 ml 0,2 M-os  $\text{NH}_4\text{Cl}$  oldatot adtam annak érdekében, hogy a talajrészecskékhez kötött szermaradékok könnyebben oldatba menjenek. A mintát üvegbottal alaposan átkevertem, majd 20 ml 120 ng/ml klórpírifosz belső sztenderdet tartalmazó acetone hozzáadása után a centrifugacsöveket kupakkal gondosan lezártam, és horizontális rázógépen 30 percig rázattam 200-240 rpm-en. Ezt követően az extrakthoz adtam 20 ml etil-acetátot és a rázatást további fél órán át folytattam. Néhány perc ülepedés után a mintát centrifugáltam (1 perc, 3000 rpm), majd a tiszta extraktból kalibrált üvegpipettával 10 ml-t (kb. 5 g száraz talajnak megfelelő mennyiség) áttettem egy 20 ml-es kémcsőbe. Az extraktot  $6 \pm 0,1$  g vízmentes nátrium-szulfáttal szárítottam (20 sec-ig kézzel összerázva), majd szűrőpapírral bélelt üvegtölcséren át egy 20 ml-es kalibrált kémcsőbe szűrtem. A tölcseért, illetve az edényt 3-szor 2 ml etil-acetáttal átmostam, majd a szárított extraktokat egyesítettem a mosó etil-acetáttal és a térfogatát TurboVap bepárlóval nitrogénáramban ( $30\text{ }^\circ\text{C}$ , max. 1 psi nyomás) kb. 0,5 ml-re csökkentettem. A végtérfogatot etil-acetáttal állítottam be 2 ml-re (2,5 g talaj/ml). A kapott extraktot tovább nem tisztítottam, 2 ml-es mintatartó fiolába tettem és elvégeztem a növényvédőszer-maradékok kromatográfias meghatározását.

A vizsgálatot nitrogén-foszfor szelektív termoionos detektorral (Varian, ennél a gyártónál TSD-nek nevezett) és PTV injektorral (Varian 1079) felszerelt gázkromatográf (Varian 3800) végeztem. A TSD alkalmas a nitrogén illetve a foszfor tartalmú komponensek érzékeny és szelektív meghatározására. A kapott eredmények megerősítéséhez egy Agilent 7890A NPD detektorral felszerelt gázkromatográfot alkalmaztam. A gázkromatográfias paramétereket a 10. táblázatban foglaltam össze.

A rendszer alkalmasságát minden mérés előtt ellenőriztem az ún. SST sztenderd oldattal (System Suitability Mixture; SOBOLEVA & AMBRUS, 2004). A keverék 10 növényvédőszer hatóanyagot tartalmaz (EPTC, propoxur, TBF, dimetoát, pirimikarb, paration-metil, karbaril, klórpírifosz-etil, kinalfosz, metidation és foszalon), melyek segítségével nyomon követhető a kromatográfias rendszer állapota (elválasztás hatékonysága, szén-nitrogén illetve szén-foszfor szelektivitás, csúcsaszimmetria, retenciós idő stabilitás, kromatográfias oszlop állapota) és a stabil működés. Az SST mixet a mérési sorozatok végén is beinjektáltam annak érdekében, hogy a hosszú szekvenciák futása alatt a vizsgált paraméterek változását nyomon

tudjam követni. Szükség esetén elvégeztem a megfelelő karbantartást (liner csere, vágás az oszlop elejéből, előtétoszlop cseréje, stb.).

*10. táblázat. Az alkalmazott gázkromatográfias módszer paraméterei*

<b>Készülék:</b>	<b>Varian 3800 GC</b>	<b>Aglient 6890A</b>
Detektor:	TSD 300 °C	NPD 320 °C
Injektor:	1079 / high performance liner 280 °C	Split/Splitless 280 °C
Injektált térfogat:	1µl, splitless	2µl, splitless
Vivőgáz:	He, 4 ml/min	He 1,2 ml/min
Detektor gázok:	Segéd gáz N <sub>2</sub> , 26 ml/min levegő: 175 ml/min H <sub>2</sub> : 4.3 ml/min	Segéd gáz N <sub>2</sub> , 60 ml/min levegő: 34 ml/min H <sub>2</sub> : 3 ml/min
Kromatográfias oszlop:	CP-Sil-8CB Low Bleed MS (Varian) 25 m × 0.32 mm, df = 0.25 µm, előtétoszlop: metil dezaktivált 2.5 m × 0.32 mm (Chrompack)	HP5UI 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm
Hőmérséklet program:	programozott: Kiindulási hőmérséklet: 60 °C Felfűtési sebesség 1: 25 °C/min 160 °C-ig Felfűtési sebesség 2: 4 °C/min 200 °C-ig Felfűtési sebesség 3: 20 /min 270 °C-ig, itt tartva 3.4 percig Futás időtartama: 21 min	programozott: Kiindulási hőmérséklet :80 °C (1 perc) Felfűtési sebesség 1: 32.7 °C/min 170 °C-ig Felfűtési sebesség 2: 10 °C/min 310 °C-ig itt tartva 1+5 percig Futás időtartama: 19 min

A 6. táblázatban felsorolt komponensek szilárd analitikai sztenderdjeinek felhasználásával egyedi törzsoldatokat készítettem acetonban. A kezelésekhez szükséges sztenderd munkaoldatokat komponensenként külön acetonos oldatban, 0,5-1 mg/ml koncentrációban készítettem el. A törzsoldatok felhasználásával sztenderd munkaoldat mixeket készítettem (komponenstől függően 0,2-1 µg/ml, 4-20 µg/ml illetve 20-100 µg/ml koncentrációban), melyeket egyrészt a kalibrációs sorozat elkészítéséhez, másrészt pedig visszanyerési vizsgálatokhoz a kezeletlen talajmintákhoz adtam hozzá különböző mennyiségben. Az oldatok és mixek készítésénél a térfogat alapú méréseket tömegmérésekkel (0,01 mg pontosság) is kiegészítettem. Az oldatok pontos koncentrációjának meghatározásánál a mért tömegeket vettem figyelembe, hogy az

oldatkészítésből eredő hibát a lehető legkisebb szinten tarttam (AMBRUS, et al., 2017).

A mátrix hatás kiküszöböléséhez ún. mátrix „matched” kalibrációt alkalmaztam, azaz a kezeletlen, vak talajmintákból készített extraktok felhasználásával készítettem el a mennyiségi értékeléshez szükséges kalibráló oldatsort. Ennek az eljárásnak az előnye, hogy figyelembe vesszük a mátrixból eredő esetleges zavaró hatásokat (pl. jelerősítés, zavaró kromatográfiás csúcsok stb.). A kalibrációs oldatsort ½LOQ-150LOQ tartományban készítettem el. Az egyes vegyületek pontos koncentrációját a Függelék F2. táblázata tartalmazza.

A retenciós időket (*RT*) a komponensek egyedi sztenderd oldatainak injektálásával kapott kromatogramok segítségével állapítottam meg. A minőségi azonosításhoz a klórpirifosz belső sztenderdre vonatkoztatott relatív retenciós időket (*RRT*) használtam (11. táblázat).

11. táblázat. A vizsgált komponensek gázkromatográfiás teljesítmény-jellemzői

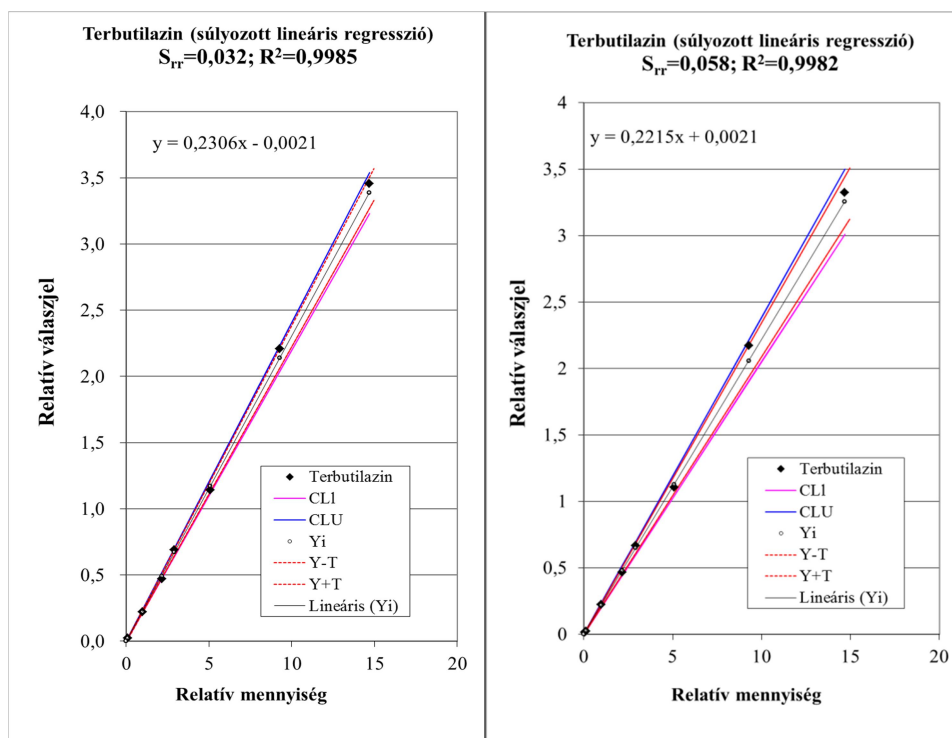
Komponensek	Varian 3800 GC		Agilent 7890 GC (megerősítéshez)		Varian 3800 GC	
	<i>RT</i> (min)	<i>RRT</i>	<i>RT</i> (min)	<i>RRT</i>	<i>LOD</i> (pg)	<i>LOQ</i> <sup>1</sup> (mg/kg)
Azinfosz-etil	17,85	1,69	9,913	0,928	5	0,01
Dimetenamid	8,87	0,84	9,154	0,857	20	0,02
Klórfevínfosz	12,12	1,15	10,52	0,985	10	0,01
Klórpirifosz	10,56	1,00	10,68	1,000	5	0,01
Oxifluorfen	14,66	1,39	8,858	0,829	50	0,05
Pendimetalin	11,68	1,11	9,966	0,933	20	0,02
Promertin	9,71	0,92	9,25	0,886	10	0,01
Propazin	7,43	0,70	10,21	0,955	10	0,01
Terbutilazin	7,67	0,73	10,14	0,950	10	0,01
Terbutrin	10,09	0,96	11,15	1,044	10	0,01

<sup>1</sup>2,5 mg injektált talajra vonatkoztatva

A linearitás vizsgálata során megbizonyosodtam arról, hogy az alkalmazott detektálási módszerrel felvett kalibráció lefedi-e a szükséges vizsgálati tartományt, illetve megfelel-e a linearitásra vonatkozó feltételeknek. A kromatogramok integrálásához a Star 6.2. (Varian) szoftvert

alkalmaztam. A mennyiségi meghatározást a klórpírifosz belső sztenderdre vonatkoztatott relatív csúcsterületek alapján végeztem. A kalibrációs egyenesek felépítéséhez illetve a mennyiségi kiértékeléshez a munkatársakkal kidolgozott Excel® sablont használtam. A sablon előnye, hogy meghatározza a kalibráció jóságának eldöntéséhez jobban alkalmazható  $S_{rr}$  értéket (3.8. pont), összehasonlítja a hagyományos és súlyozott lineáris regresszióval készített egyeneseket, valamint ábrázolja azok hibatarományát (alsó-felső konfidenciaszintek). A 8. ábrán bemutatott példákon jól látszik, hogy annak ellenére, hogy a két regressziós egyenes  $R^2$  értéke közel azonos, a konfidencia intervallum a magasabb  $S_{rr}$  értéknél jóval szélesebb. Az illesztés jóságát a relatív reziduálisok szórásának vizsgálatával ellenőriztem (8. egyenlet). Az illesztést megfelelőnek ítéltam, ha a relatív reziduálisok szórása  $<0,1$ .

Egyre csökkenő koncentrációjú sztenderd oldatok injektálásával minden komponensre meghatároztam a detektálási határt ( $LOD$ , 3-szoros jel/zaj viszony, (3.8 pont), majd ebből becsültem az elérhető kimutatási határt ( $LOQ$ , 10-szoros jel/zaj viszony) 2,5 mg injektált talajmintára vonatkoztatva (11. táblázat).



**8. ábra Két közel azonos  $R^2$ -tel, de eltérő  $S_{rr}$ -rel rendelkező egyenes konfidencia intervallumainak bemutatása**

A módszer specifikusságát az *LOQ* szintjén hozzáadott sztenderdet tartalmazó minta, valamint vizsgálati területenként 3-3 kezeletlen talajminta illetve egy reagens vak kromatogramjának összehasonlításával ellenőriztem. A módszer specifikus, ha a mintában nincs zavaró csúcs a kimutatási határ 30%-át meghaladó mértékben.

A reprodukálhatóság vizsgálatához a kezeletlen talajminták (X65, Y97, W33) száraz talajra vonatkoztatott 20 grammos részleteit a vizsgálandó összes komponenst tartalmazó sztenderd oldattal 3 különböző szinten kezeltem ( $F_1=LOQ$ ,  $F_2=20LOQ$  és  $F_3=100LOQ$ ) 5-5 párhuzamosban 3 különböző napon két munkatársam segítségével. Szintenként és komponensenként meghatároztam az átlagos visszanyeréseket ( $\bar{Q}_{L1}$ ,  $\bar{Q}_{L2}$ ,  $\bar{Q}_{L3}$ ) és a relatív szórásokat ( $CV_Q$ ).

#### **4.8 Az egyes talajfuratok szermaradék tartalmának meghatározása**

A 4.2.2. szakaszban részletezett módon megvett 130-130 talajmintát az előzetesen validált analitikai módszerrel (4.7. pont) készítettem elő, homogenizáltam, extraháltam, majd GC-TSD-vel meghatároztam az egyes furatok szermaradék tartalmát.

A mennyiségi meghatározáshoz szükséges sztenderd oldatokat vak minta extrakt felhasználásával készítettem dimetenamid, pendimetalin és prometrin sztenderd oldatokból az  $\frac{1}{2}LOQ$  -150LOQ tartományban. Belső sztenderdként klórpírifoszt alkalmaztam 300 ng/ml koncentrációban.

Az egyes mintasorozatok 2 rendszerellenőrző (*SST*) sztenderd keverékből (mérési sorozat elején illetve végén beinjektált), egy reagens vakból, egy mintavakból, 8 kalibráló oldatból ( $\frac{1}{2}LOQ$ -150LOQ tartományban), 10 kezelt talajmintából, valamint egy, az előző sorozatban mért homogenizált talajminta analitikai mintahányadának ismételt extraktjából, és egy ismert mennyiségű sztenderd oldattal kezelt vak talajminta (visszanyerés-vizsgálati) extraktjából állt. Az ismételt minták eredményeit felhasználva becsültem a laboron belüli reprodukálhatóságot.

A visszanyerés-vizsgálati mintaextraktban mért ( $C_{QC}$ ) és a kezeletlen talajmintában mért ( $C_i$ ) koncentrációkból az elvárt koncentráció ( $C_{EXP}$ ) felhasználásával komponensenként meghatároztam a visszanyerést ( $Q$ ).

Az egyes sorozatvizsgálatok visszanyerési eredményeit minden esetben összehasonlítottam a módszervalidálás során megállapított átlagos visszanyerésekkel.

#### 4.9 Szermaradékok eloszlásának vizsgálata és a mintavétel hibájának meghatározása

A szermaradékok eloszlásának vizsgálatához a kapott eredményeket területenként összesítettem. A további értékelésből azokat a mintákat sem hagytam ki, melyekben nem volt kimutatható szermaradék, hanem a kimutatási határ felével vettem figyelembe, így az eloszlásra pontosabb becslést kaptam (HORVÁTH, et al., 2013).

A területenként és komponensenként rendelkezésemre álló elemi minták (talajfuratok) összesen 126 vizsgálati eredményeiből Excel® makróval véletlen visszahelyezéssel módszerrel (AMBRUS, 2009) 10 illetve 25 ( $n$ ) elemi mintából álló 10 000-10 000 ( $N$ ) összetett mintát képeztem. Meghatároztam az egyes összetett minták szermaradék tartalmát ( $R_n$ ), a számításnál figyelembe vettem az elemi minták tömegét ( $m_e$ ) illetve szermaradék tartalmát ( $c_e$ ):

$$R_n = \frac{\sum_{i=1}^N c_e \times m_e}{\sum_{i=1}^N m_e} \quad (29)$$

## 5. Eredmények ismertetése és értékelése

### 5.1 A minták szárazanyag-tartalma

Kísérleteimben a talajvizsgálatok eredményeit minden esetben szárazanyag-tartalomra ( $sz_i$ ) vonatkoztatva adtam meg, melynek meghatározását a 4.3. pont alapján végeztem. Az egyes talajminták átlagos szárazanyag-tartalmát a 12. táblázat tartalmazza.

12. táblázat. A vizsgálathoz alkalmazott talajminták átlagos szárazanyag-tartalma

Talaj kódja	$sz_i$ átlag	$n$	$CV$ (%)
U128	94,1	5	14,0
U129	92,9	5	3,1
V01	95,7	5	6,2
V02	94,0	5	4,6
W33	85,0	5	3,4
X65	88,4	5	6,7
Y97	86,2	5	10,8

### 5.2 Az extrakció reprodukálhatóságának ( $CV_E$ ) meghatározása

Az atrazin visszanyerését ( $Q_E$ ) az extraktban mért és a háttérrel korrigált aktivitás, valamint az elméletileg várt aktivitás hányadosaként határoztam meg a 26. egyenlettel. A kiugró értékek vizsgálatára elvégeztem a Grubb-tesztet, a varianciák homogenitásának vizsgálatára pedig a Cochran-tesztet (MILLER & MILLER, 2010). A kiugró értékeket a további számításokból kihagytam. Az extrakció reprodukálhatóságának meghatározását talajonként végeztem el ( $CV_{QE}$ ) számításra egy példát mutat be a 13. táblázat.



13. táblázat. Példa az extrakció reprodukálhatóságának számításához

Talaj azonosítója	$A_E - A_0$	$A_{Sp}$	$Q_E$	$CV_{QE}$	
W33/A	7942,8	7811,3	7946,4	7529,4	1,049
W33/B	8057,9	8080,6	8016,6	7594,7	1,060
W33/C	8410,9	8491,3	8515,7	7661,0	1,106
W33/D	7913,0	7966,3	7976,6	7387,6	1,076
W33/E	8205,3	8166,4	8199,6	7683,1	1,066
				$\bar{Q}_E = 1,072$	0,020

$A_E$ : az extraktban mért aktivitás;  $A_0$ : a talaj háttéraktivitása;  $A_{Sp}$ : az elméletileg várt aktivitás;  $Q_E$ : visszanyerés;  $CV_{QE}$ : az extrakció reprodukálhatósága egy talajmintára

A hét talajra végzett, összesen 28 független visszanyerést ANOVA teszttel vizsgáltam (MILLER & MILLER, 2010). A növekvő sorrendbe rakott, egymás után következő átlagos visszanyerések között nem volt nagyobb a különbség, mint a legkisebb szignifikáns különbség ( $LSD=0,249$ ; 30. egyenlet) (MILLER & MILLER, 2010), azaz nincs jelentős eltérés a különböző talajok esetén kapott átlagos visszanyerések között.

$$LSD = t_{h(n-1)} \times s \times \sqrt{\frac{2}{n}} \quad (30)$$

ahol  $h \times (n-1)$  a szabadsági fok,  $h$  a különböző talajokkal végzett visszanyerés tesztek száma,  $n$  az egy talajjal végzett visszanyerések ismétléseinek száma,  $s$  pedig a csoporton belüli szórás.

Így a hét talajra számolható az átlagos visszanyerés ( $\bar{Q}_E = 100,9\%$ ). A hét talajminta összes (28 db) visszanyeréséből számolt átlagos visszanyeréséből ( $\bar{Q}_E$ ) illetve varianciájából ( $S_{QE}^2$ ) becsültem az extrakció kombinált bizonytalanságát a 28. egyenlettel ( $CV_E = 0,54\%$ ). Az eredményeket a 14. táblázatban foglaltam össze.

14. táblázat. Az extrakció reprodukálhatóságának vizsgálata során kapott eredmények összefoglalása

Talajminta azonosítója	n	$\bar{Q}_E$ <sup>1</sup>	$CV_{QE}$
Y97	5	0,996	0,085
X65	4	1,101	0,005
W33	5	1,072	0,020
V01, U128	5	0,998	0,005
V02	4	1,045	0,004
U129	5	0,907	0,019
<b>Átlag:</b>		$\bar{Q}_E = 1,009$	$CV_E = 0,0054^2$

<sup>1</sup> <sup>14</sup>C-atrazin átlagos visszanyerése acetonnal történő extrakciót követően

<sup>2</sup> két kiugró érték kihagyását követően az átlagos (*pooled*) varianciával számolt érték

### 5.3 A minta-homogenizálás véletlen hibájának meghatározása <sup>14</sup>C- atrazin felhasználásával

#### 5.3.1 A hagyományos kézzel történő homogenizálás eredményeinek értékelése

Először a talajvizsgáló laboratóriumokban legelterjedtebben alkalmazott hagyományos, kézzel történő homogenizálási módszer hatékonyságát vizsgáltam (4.4.3.1. fejezet). A vizsgálatot 7 talajmintával végeztem el, egyenként 1-4 ismétléssel (9. táblázat), így összesen 17 vizsgálati sorozatot készítettem. A vizsgálatok eredményeit 15. táblázatban foglaltam össze.

Ezzel a homogenizálási módszerrel az esetek 70%-ában (elsősorban a nedves illetve homokos talajmintáknál) jól homogenizált mintát kaptam. Azonban a szárazabb talajoknál (pl. U128, V01, V02), melyek nagyobb, illetve keményebb rögöket is tartalmaztak, az eredmények azt mutatják, hogy a kézi homogenizálás már nem volt elegendő. A vizsgálati eredményekből az látszik, hogy ez az eljárás nehezen reprodukálható. Ezt jelzi a  $K_{SP}$  értékek nagy szórása, valamint az, hogy több esetben nem sikerült jól kevert mintát kapni, holott minden minta azonos módon került feldolgozásra.

A további számításokhoz csak azoknak a vizsgálatoknak az eredményeit használtam fel, ahol a homogenizálás során a jól kevert státuszt 95%-os valószínűségi szinten sikerült elérni. A jól kevert mintát eredményező 12 kísérletből származó, az extrakció hibáját már nem

tartalmazó varianciákat ( $V_{SP}$ ) Cochran-tesztel ( $\alpha=0,05$ ) vizsgáltam. Mivel a számított érték ( $g_{calc}=0,279$ ) a táblázati érték ( $g_{tab(0,05)}=0,288$   $n=5$  és  $p=12$ , ahol  $n$  az egy homogén mintából kivett mintarészek száma,  $p$  pedig az egy homogenizálási módszerhez tartozó mérési sorozatok száma) alá esett, megállapítottam, hogy a becült varianciák nem térnek el szignifikánsan egymástól. Így meghatároztam az átlagos varianciát ( $V_{Sppooled}$ ), melyből becültem a tipikus minta-homogenizálási hibát ( $CV_{Sptip20}= 26,55\%$ ), majd kiszámoltam az alkalmazott homogenizálási módszerre jellemző tipikus mintavételi állandót (31. egyenlet).

$$K_{S_{tip-kézi}} = m_{Sm} \times CV_{Sptip20}^2 = 0,02 \times 26,55^2 = \mathbf{14,1 \text{ kg}} \quad (31)$$

A becült tipikus mintavételi állandónak is megvan a maga bizonytalansága. A tipikus  $V_{SP}$  értékhez tartozó 95%-os konfidencia intervallumot a Chi-négyzet eloszlás segítségével számítottam ki (22. egyenlet). A konfidencia intervallum alsó és felső értékeinek felhasználásával meghatároztam az adott minta-homogenizálási módszerre jellemző tipikus mintavételi állandó várható minimum és maximum értékeit (23. és 24. egyenletek).

$$K_{SP-kézi\ tip_{min}} = \mathbf{9,8 \text{ kg}} \quad \text{illetve} \quad K_{SP-kézi\ tip_{max}} = \mathbf{22,0 \text{ kg}}$$

15. táblázat. Vizsgálati eredmények – hagyományos módszer

Talapminta kója	Y97			X65				W33			V01		V02		U129	U128	
	1	2	3	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	1	2	1	
Is mérések sorszáma	1508,66	1538,64	1915,249	1627,78	1719,753	2044,364	1633,381	1526,69	1407,94	1867,71	1785,4897	1753,85	1888,906	1659,0694	1881,534	1689	1435,992
$Q_{Lg}$	64,56	59,66	287,34	193,19	79,92	148,94	674,21	130,62	153,94	1652,68	236,82	123,89	52,72	81,77	203,73	181,29	70,74
$V_{A1-Lg}$	0,005	0,005	0,009	0,009	0,005	0,006	0,016	0,007	0,009	0,022	0,009	0,006	0,004	0,005	0,008	0,008	0,006
$V_{T-Lg}$	1031	6729	11114	517	4617	55501	68001	1398	23249	4560	10434	23375	88675	5381	94936	4903	25780
$F_{calc}^a = V_{T-Lg}/V_{A-Lg}$	15,97	112,79	38,68	2,68	57,76	372,64	100,86	10,70	151,02	2,76	44,06	188,67	1682,01	65,81	465,99	27,05	364,43
$V_{SPE-Lg}$	966	6669	10827	324	4537	55352	67327	1267	23095	2907	10197	23251	88623	5299	94732	4722	25709
$CV_{SPE-Lg}$	0,021	0,053	0,054	0,011	0,039	0,115	0,159	0,023	0,108	0,029	0,057	0,087	0,158	0,044	0,164	0,041	0,112
$CV_{T-Lg}$	0,021	0,053	0,055	0,014	0,040	0,115	0,160	0,024	0,108	0,036	0,057	0,087	0,158	0,044	0,164	0,041	0,112
$K_{SPE}$	<b>0,85</b>	<b>5,63</b>	<b>5,90</b>	<b>0,24</b>	<b>3,07</b>	<b>26,49</b>	<b>50,47</b>	<b>1,09</b>	<b>23,30</b>	<b>1,67</b>	<b>6,40</b>	<b>15,12</b>	<b>49,68</b>	<b>3,85</b>	<b>53,52</b>	<b>3,31</b>	<b>24,94</b>
$F_{calc}^b$	<b>1,521</b>	<b>2,486</b>	<b>79,684</b>	<b>1,889</b>	<b>1,321</b>	<b>1,449</b>	<b>5,007</b>	<b>2,615</b>	<b>2,125</b>	<b>6,809</b>	<b>3,970</b>	<b>21,967</b>	<b>2,742</b>	<b>8,687</b>	<b>16,496</b>	<b>3,527</b>	<b>15,395</b>
$F_{crit}(0,90,4,4)$	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107	4,107
A homogenizálás eredménye $F_{0,95,4,4}$ szinten	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-
$F_{crit}(0,95,4,4)$	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388	6,388
A homogenizálás eredménye $F_{0,95,4,4}$ szinten	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-
$CV_{SPE-Sm}$	0,0652	0,1678	0,1718	0,0350	0,1239	0,3639	0,5023	0,0737	0,3413	0,0913	0,1788	0,2749	0,4984	0,1388	0,5173	0,1287	0,3531
$CV_{SP-Sm}$	0,0649	0,1678	0,1717	0,0346	0,1237	0,3639	0,5023	0,0735	0,3413	0,0911	0,1788	0,2749	0,4984	0,1387	0,5173	0,1285	0,3531
$K_{SP}$	<b>0,84</b>	<b>5,63</b>	<b>5,90</b>	<b>0,24</b>	<b>3,06</b>	<b>26,48</b>	<b>50,47</b>	<b>1,08</b>	<b>23,29</b>	<b>1,66</b>	<b>6,39</b>	<b>15,11</b>	<b>49,67</b>	<b>3,80</b>	<b>53,50</b>	<b>3,30</b>	<b>24,90</b>

$Q_{Lg}$ : a visszanyert aktivitások átlaga a nagy mintahányadokban; + jól kevert; - nem jól kevert minta;  
 $CV_{SPE-Sm}$ : minta-homogenizálás bizonytalansága a kis mintahányadra vonatkozóan, a  $K_{SPE}$ -ből becsült érték, mely az extrakcióból eredő bizonytalanságot is tartalmazza;  $CV_{SP-Sm}$ : minta-homogenizálás bizonytalansága a kis mintahányadra vonatkozóan, az extrakcióból eredő bizonytalanságot nem tartalmazza  
Zöld érték: az  $F_{calc}^b > F_{crit}(0,95,4,4)$ , azonban a mintahomogenizálás hozzájárulása nem jelentős, mivel a  $V_T$  ill. a  $V_A$  nem különbözik egymástól szignifikánsan.

### 5.3.2 Az őrlés alkalmazhatóságának értékelése

Az őrlést csak azoknál a mintáknál alkalmaztam, melyek víztartalma alacsony volt (kb. 5-6%, mint például a V01 és a V02). A száraz talajmintát dörzsmozsárban eldörzsöltem, majd malomban megőröltem a 4.4.3.2 szakaszban leírtak szerint. A vizsgálatok eredményeit a 16. táblázatban foglaltam össze.

16. táblázat. Vizsgálati eredmények összefoglalása - Őrlés

Talajminta kódja	V01	V02
Ismétlések sorszáma	1	1
$V_A$	39,35	443,49
$CV_A$	0,004	0,011
$V_T$	6601,53	129443,02
$F_{calc}=V_T/V_A$	167,76	291,87
$V_{SPE}$	6562,18	128999,53
$CV_{SPE}$	0,056	0,182
$CV_T$	0,056	0,182
$K_{SPE} (kg)$	6,26	65,912
$F_{calc}$	44,174	35,688
$F_{crit} (0,9;4;4)$	<b>4,107</b>	<b>4,107</b>
Homogenizálás eredménye P0,9 szinten <sup>1</sup>	-	-
$F_{crit} (0,95;4;4)$	<b>6,388</b>	<b>6,388</b>
Homogenizálás eredménye P0,95 szinten <sup>1</sup>	-	-

<sup>1</sup> a homogenitás eredménye + jól kevert, - nem jól kevert minta

Habár finomszemcsés, porszerű anyagot kaptam, az eredmény nem volt jól reprodukálható. A számított F értékek ( $F_{calc\ v01} = 44,174$ ;  $F_{calc\ v02} = 35,688$ ) mindkét esetben jóval meghaladták a kritikus értékeket ( $F_{crit(0,9,4,4)} = 4,107$  illetve  $F_{crit(0,95,4,4)} = 6,388$ ), azaz egyik esetben sem sikerült jól kevert mintához jutni. Így a módszerre jellemző mintavételi állandó becslése nem lehetséges. Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy a kezelő sztenderd oldat nagy affinitással kötődött meg a száraz, finom szemcsés talaj egy-egy kis részletén, így apró, nedves rögöcskék keletkeztek, melyeket ezek után már nem lehetett az alkalmazott technikával megfelelően elkeverni. Megállapítottam, hogy az eljárás a száraz talajok esetében nem alkalmazható a minta-homogenizálás hatékonyságának vizsgálatához.

Az őrlés alkalmazásának limitáló tényezője, hogy a talajminta víztartalma alacsony legyen ( $\leq 5\%$ ). Ehhez azonban a legtöbb talajt a homogenizálást megelőzően ki kell szárítani. Szárítás során, valamint az őrlés közben intenzív hő érheti a vizsgálandó komponenseket. Mivel a növényvédő szerek közül számos illékony, illetve érzékeny a hőhatásra, további vizsgálatokkal kell meggyőződni a módszer alkalmazhatóságáról. Az előzőekben leírtak miatt az őrlés helyett inkább egy másik, kevésbé kockázatos minta-homogenizálási módszer alkalmazását javaslom.

### **5.3.3 A szárazjég hozzáadásával történő homogenizálás hatékonyságának értékelése**

A szárazjéggel történő minta-homogenizálást általánosan alkalmazzák a zöldség és gyümölcs minták növényvédőszer-maradék analitikai vizsgálatánál (MAESTRONI, et al., 2000; LEHOTAY & COOK, 2015), mivel növeli a homogenizálás hatékonyságát még nehezen aprítható anyagok (növényi szárak, szalma) esetében is, továbbá csökkenti a szermaradékok bomlási sebességét. Kísérleteim során azt vizsgáltam, hogy a szárazjég alkalmazása a talajminták homogenizálása során növeli-e a minta-homogenizálás hatékonyságát illetve reprodukálhatóságát.

A vizsgálatokat 5 különböző fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkező talajmintával végeztem el a 4.4.3.3 szakaszban leírtak szerint. A számításokból a nem jól kevert sorozatokat kihagytam. A varianciák homogenitását Cochran-teszttel vizsgáltam. Az átlagos mintavételi állandó becsléséhez csak a 3 jól kevert minta eredményeit alkalmaztam. Az így becsült állandó nem tekinthető tipikus értéknek, mivel kevés számú mérésen alapul és az egyes sorozatok közötti szórás (1,15-25) igen jelentős (17. táblázat).

Mivel a  $K_{SP}$  értékek nagyon széles skálán mozogtak (1,15 – 25 kg) és ötből két esetben nem sikerült homogén mintához jutnom, megállapítottam,

hogy a nedves talajok esetében szárazjég alkalmazása nem növelte a minták előkészítésének reprodukálhatóságát. Mivel a módszer alkalmazása nem javította a talajhomogenizálás hatékonyságát, ezzel a módszerrel további vizsgálatokat nem végeztem. Az is megállapítható, hogy a száraz talajok esetében nem sikerült jól kevert mintát kapni.

Az adatok nagy szórása miatt a módszerre jellemző tipikus mintavételi állandó becslése nem volna helyes.

17. táblázat. Vizsgálati eredmények összefoglalása - A szárazjég hozzáadásával történő minta-homogenizálás

Talajminta kódja	$F_{calc}^1$	Homogenitás <sup>2</sup>	$K_{SP}$ (kg)	$CV_{SP20}$ (%)
Y97	2.234	+	13	26
X65	1.497	+	1.15	7.6
W33	2,072	+	25	35
U128	<b>29.813</b>	-	-	-
U129	<b>126.427</b>	-	-	-
<b>Kísérletek száma</b>	5			
$K_{Stip}$ (kg)	xx <sup>3</sup>			
$K_{Smin}$ (kg)	-			
$K_{Smax}$ (kg)	-			

<sup>1</sup>  $F_{crit}(0.9, 4, 4) = 4,107$ ;  $F_{crit}(0.95, 4, 4) = 6.388$ ; Kivastagított értékek:  $F_{calc} > F_{crit}(0.95, 4, 4)$ .

<sup>2</sup> +: jól kevert; -: nem jól kevert. <sup>3</sup> A számított átlagérték 13,1, de ez nem tekinthető tipikus értéknek az adatok kevés száma miatt.

$CV_{SP20}\%$ : mintahomogenizálásból eredő bizonytalanság;  $K_{SP}$ :  $CV_{SP20}\%$  felhasználásával becsült, finomított mintavételi állandó.

### 5.3.4 A desztillált víz hozzáadásával végzett minta-homogenizálás hatékonysága

A desztillált víz hozzáadása a száraz mintához az aprítás, homogenizálás során igen gyakori a növényvédőszer-maradékok, mikotoxinok vizsgálatánál (AMBRUS, et al., 1996; VARGA, 2010). Gyakran a talajhoz is adnak vizet extrakció előtt (JARZICK & AMITROLE, 1992; TAYLOR, et al., 1971).

Ebben a kísérletsorozatban azt vizsgáltam, hogy a víz hozzáadása hogyan növeli a homogenizálás hatékonyságát. Öt különféle talajjal összesen 11 vizsgálati sorozatot végeztem az 4.4.3.4. pontban részletezett módszer szerint. A vizsgálatok eredményeit a 18. táblázatban foglaltam össze.

Az eredmények értékelésekor a 4.4.6. pontban részletesen leírt módszert alkalmaztam. Néhány esetben (pl. U128/W/1, U129/W/1, U129/W/3 és Y97/W/1) előfordult, hogy az F-teszt eredménye alapján a kapott minta nem volt jól kevert. Mivel azonban a  $CV_{Tsm}$  értékek nagyon alacsonyak (0,7-1,5%) voltak és sok esetben az elvégzett F-teszt alapján nem lehetett különbséget tenni a  $V_T$  és a  $V_A$  között sem, ami azt jelenti, hogy a minta-homogenizálásból eredő hiba ( $V_{SP}$ ) gyakorlatilag elhanyagolható volt, így ezeket a mintákat is statisztikailag jól kevertnek tekintettem.

A fentiek figyelembevételével a 11 vizsgálatból csupán egy esetben nem sikerült jól kevert mintát kapnom (U129/W/1). A tipikus mintavételi állandó becsléséhez így a 10 jól kevert minta eredményeit alkalmaztam és az eredményeket a 18. táblázatban foglaltam össze.

18. táblázat. Vizsgálati eredmények összefoglalása - Víz hozzáadásával történő minta-homogenizálás

Talajminta kódja	$F_{calc}^1$	Homogenitás <sup>2</sup>	$K_{SP}$ (kg)	$CV_{SP20}$ (%)
	<b>30,586</b>	-	1,30	8,05
	1,460	+	0,27	3,64
U128 <sup>3</sup>	2,007	+	0,04	1,37
	5,981	+	0,05	1,52
	5,693	+	0,02	0,98
	25,702	+	0,08	1,96
U129 <sup>4</sup>	3,494	+	4,50	15,00
	57,487	+	0,04	1,34



Talajminta kódja	$F_{calc}^1$	Homogenitás <sup>2</sup>	$K_{SP}$ (kg)	$CV_{SP20}$ (%)
Y97	7,845	+	0,43	4,63
X65	5,497	+	0,07	1,82
W33	226,450	-	0,40	4,49
<b>Kísérletek száma</b>	11			
<b><math>K_{S\bar{t}ip}</math> (kg)</b>	<b>0,61<sub>(9)</sub></b>			
<b><math>K_{Smin}</math> (kg)</b>	0,40			
<b><math>K_{Smax}</math> (kg)</b>	1,0			

<sup>1</sup>  $F_{crit(0,9, 4, 4)} = 4,107$ ;  $F_{crit(0,95, 4, 4)} = 6,388$ , kivastagított értékek:  $F_{calc} > F_{crit(0,95, 4, 4)}$ , nem jól kevert minták, a  $K_{S\bar{t}ip}$  számításánál nem vettem figyelembe; dőlt értékek: habár  $F_{calc} > F_{crit(0,95, 4, 4)}$ , a  $V_T$  és a  $V_A$  nem különbözött egymástól szignifikánsan, így a  $V_{sp} = V_T - V_A$  gyakorlatilag elhanyagolható, azaz a minta jól kevert; <sup>2</sup> +: jól kevert –: nem jól kevert; <sup>3</sup> Száraz talaj, de az U129-höz képest könnyebben szétesett a homogenizálás során; <sup>4</sup> Száraz, nehezen aprítható talaj.

$CV_{SP20}\%$ : mintahomogenizálásból eredő bizonytalanság;  $K_{SP}$ :  $CV_{SP20}\%$  felhasználásával becsült, finomított mintavételi állandó.

### 5.3.5 A minta-homogenizálás bizonytalanságának becslése

Az alkalmazott minta-homogenizálási módszerek jellemző paramétereit a 19. táblázatban foglaltam össze. A becsült tipikus mintavételi állandókból kiszámítottam, hogy mekkora lesz a minta-homogenizálás becsült bizonytalansága (25. egyenlet) abban az esetben, ha az extrakcióhoz különböző nagyságú analitikai mintahányadokból indulok ki.

19. táblázat. Minta-homogenizálási módszerek összefoglalása

Homogenizálási módszerek	$K_{S\bar{t}ip}$ (kg)	$K_{S\bar{t}ip min} - K_{S\bar{t}ip max}$ (kg)	$CV_{SP20 min-max}$ (%)
Kézzel történő homogenizálás	14,1	9,8-22,0	22,1-33,2
Örlés	-	-	-
Szárazjéggel történő homogenizálás	13,1 <sup>1</sup>	-	25 <sup>2</sup>
Homogenizálás vízzel	0,61	0,40-1,0	4,5-7,0

<sup>1</sup> számított átlagérték, a kevés adat és nagy szórásuk miatt a tipikus érték nem becsülhető

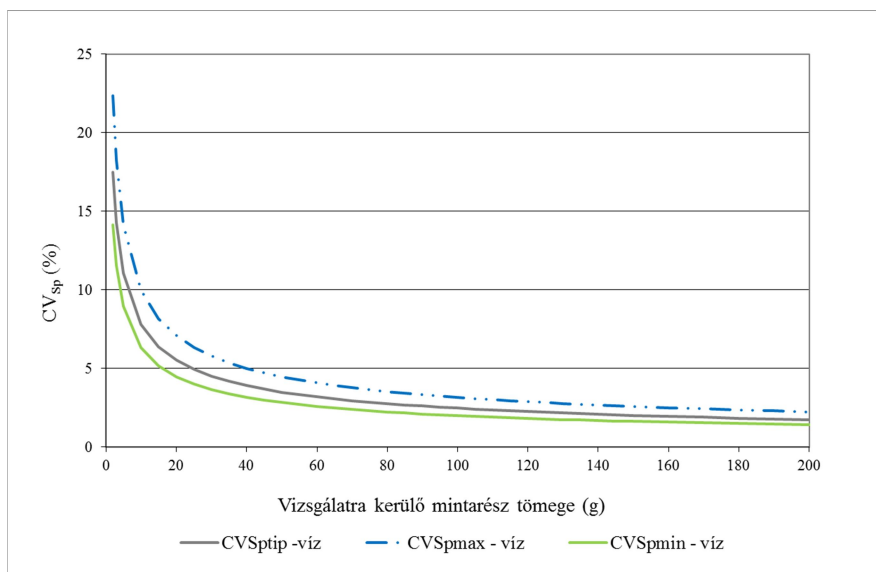
<sup>2</sup> átlagértékből ( $K_S$ ) becsült

A hagyományos, kézi homogenizálás alkalmazásakor 20 grammos analitikai mintahányad esetén kb. 20-35%-os minta-homogenizálásból eredő

relatív bizonytalansággal kell számolnunk. Ha csökkentjük a bemérést, ez a hiba drasztikusan megnő (pl. 5 grammnál a relatív bizonytalanság már 44-66%). Ellenben, ha a minta-homogenizálás bizonytalanságát 20% alatt szeretnénk tartani, minimum 60 gramm mintát kellene a homogenizátumból bemérni, melynek az extrakciója már nehezebb a rutin laboratóriumok számára, mert megnöveli a szükséges edényzet méretét, vegyszerek, oldószerek mennyiségét, ami egyben nagyobb költséget is eredményez.

A vízzel történő homogenizálás esetében kapott mintavételi állandó kb. a huszad része a hagyományos kézzel keveréses módszernél kapott  $K_{SP}$  értéknél. A 9. ábra jól szemlélteti, hogy hogyan változik a minta-homogenizálás bizonytalansága a bemért analitikai mintahányadok tömegétől függően. A diagramról leolvasható, hogy 20 grammos bemérésnél kb. 4-7%-os lesz a minta-homogenizálásból eredő hiba. A minta-homogenizálás bizonytalansága még 5 grammos beméréssel is várhatóan 20% alatt tartható.

A kísérletek eredményeiből megállapítottam, hogy a víz hozzáadása a talajmintához homogenizálás előtt nagymértékben növelte a keverés hatékonyságát minden vizsgált talajtípus esetében, valamint hogy a kísérletekben alkalmazott módszerek közül ez bizonyult a legjobban reprodukálhatónak. A talajminták szermaradék vizsgálatához ezt a minta-homogenizálási eljárást javaslom.



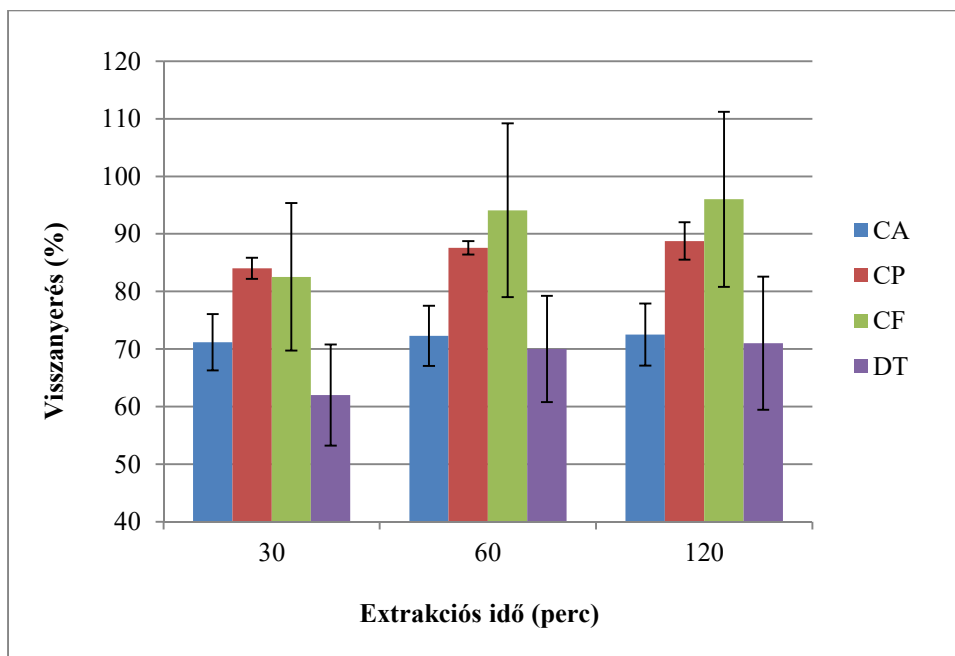
**9. ábra.** A minta-homogenizálás relatív bizonytalanságának változása különböző tömegű extrahált mintahányad esetén (homogenizálás vízzel). Az ábrán a 20 grammos bemérés alatti tömegekhez tartozó  $CV_{Sp}$  a mintavételi állandóból a 25. egyenlettel számított érték, kisebb tömegekkel nem végeztem el a vizsgálatot.

## 5.4 A talajhoz kötött növényvédőszer-maradékok extrakciója hatékonyságának vizsgálata

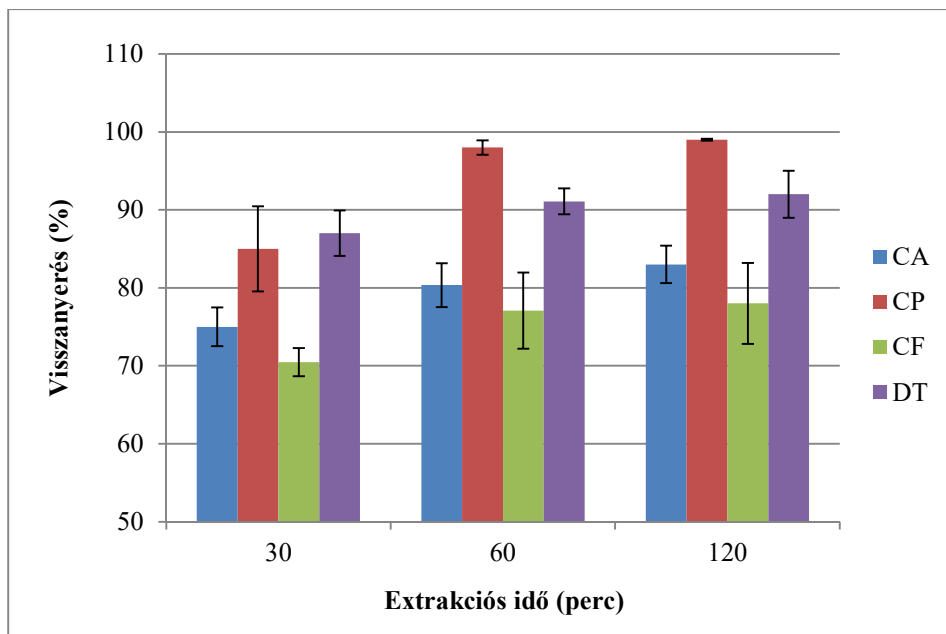
### 5.4.1 Az extrakció optimális idejének meghatározása

A  $^{14}\text{C}$  jelzett tesztkomponensekkel (4. táblázat) kezelt talajmintákat fél, egy, illetve két órán keresztül rázattam horizontális rázógépen annak érdekében, hogy az extrakcióhoz szükséges optimális rázatási időt meghatározzam. A visszanyeréseket (10/a, b, c ábrák) az extraktban mért és az elméleti aktivitásból számoltam (26. egyenlet).

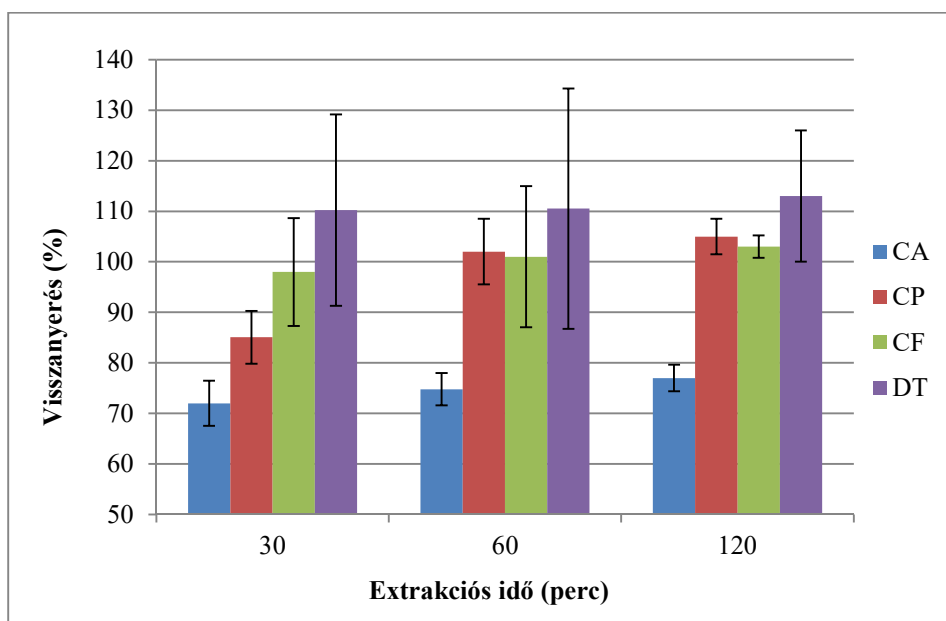
Néhány esetben az egy óra után visszanyert  $^{14}\text{C}$  aktivitás gyakorlatilag nem változott a fél órához képest (pl. karbofurán etil-acetáttal; DDT, karborán, klórfeninfosz hexán:aceton 1:1 esetén). Az esetek többségében azonban a visszanyerés javult (pl. DDT- EA, klórfeninfosz-EA, klórpirifosz-A és HA), így érdemes az extrakciót egy órán át folytatni. A két órás ráztatás során gyakorlatilag nem tapasztalható további lényeges növekedés, így optimális rázatási időnek az egy órát állítottam be.



10/a. ábra. Az extrakció hatékonyságának változása etil-acetát extrahálószer alkalmazása esetén (CA: karbofurán, CP:klórpirifosz, CF: klórfeninfosz, DT:2,4'-DDT)



10/b. ábra. Az extrakció hatékonyságának változása aceton extrahálószer alkalmazása esetén (CA: karbofurán, CP:klórpirifosz, CF: klórfenvinfosz, DT:2,4'-DDT)



10/c. ábra. Az extrakció hatékonyságának változása hexán:aceton=1:1 extrahálószer alkalmazása esetén (CA: karbofurán, CP:klórpirifosz, CF: klórfenvinfosz, DT:2,4'-DDT)

## 5.4.2 Az optimális extraháló szer kiválasztása

A vizsgálatok során azt tapasztaltam, hogy a 3 extraháló szer közül egyedül az acetont alkalmazásakor esett szét a talaj, így homogén, iszapszerű elegyet kaptam, mely a hatékony extrakcióhoz ideális. Az etil-acetát használatakor a talaj nem esett szét, rögökben maradt és az extraháló szer e fölött helyezkedett el. A hexán: aceton=1:1 elegy esetében a folyadék rész a talaj víztartalmával elegyedve két fázist alkotott, ami a mennyiségi meghatározás szempontjából nem előnyös. A felső hexán-acetonos fázisban dúsultak fel az apoláros komponensek, míg a polárosok az alsó aceton-vizes fázisban maradtak. Az LSC vizsgálatokat ebben az esetben a felső fázisból végeztem.

A hexán:aceton=1:1 elegy eredményeinek értékelésénél figyelembe vettem, hogy a mérés a felső, hexános fázisból történt, melyben az apolárosabb anyagok (pl. DT, CF) szívesebben oldódnak, míg a polárosabbak (pl. CA) inkább az alsó fázisban maradtak. A vártan megfelelően a legpolárosabb acetont esetében épp ennek ellenkezőjét tapasztaltam, azaz hatékonysága az apolárosabb komponensek esetében alulmaradt a hexánhoz képest. További fontos előnye, hogy a rázatás során a leghatékonyabban esett szét benne a talaj lehetővé téve, hogy az extraháló szer jobban megközelítse a talajrészecskékhez kötött szermaradékokat. A közepesen poláros etil-acetát jó kompromisszumos megoldásnak tűnik a növényvédőszer-maradékok általános extrakciójához, hiszen mind a poláros, mind a szemi, illetve apoláros maradékokat általánosan jó hatékonysággal vonja ki a talajból, legalább 60%-ban minden vizsgált komponens kinyerésére alkalmas volt.

## 5.4.3 Az optimalizált extrakciós módszer

A különböző oldószerekkel, illetve extrakciós idővel végzett vizsgálatok tapasztalatai alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a széles polaritás skálán mozgó növényvédőszer-maradékok nagy hányadának kinyerésére a legalkalmasabb, ha az extrakció első lépésében (első fél óra rázatás) acetont alkalmazva a talaj minél jobban szétesik, és így a második lépésben (második fél óra rázatás) hozzáadott etil-acetát is hatékonyabban tudja a maradékokat kiextrahálni a talajból. Ezt támasztották alá a kapott visszanyerési eredmények is (ld. 20. táblázat). Az aceton/etil-acetát kombináció a vízben jól oldódó karbofurán és a gyakorlatilag nem oldódó p,p' DDT esetén is minimum 70%-os átlagos extrakció hatékonyságot eredményezett ezért a talajok szermaradék tartalmának vizsgálatára az aceton/etil-acetát kombinációt tartom a legalkalmasabbnak. A <sup>14</sup>C-vel kapott vizsgálatok eredményét megerősítették a 10, széles tartományban változó

fizikai-kémiai tulajdonságú tesztvegyülettel végzett visszanyerési vizsgálatok (22. táblázat).

Az optimális talaj:extraháló szer arányt kísérleteimben nem vizsgáltam, a szakirodalmakban és módszerekben elterjedten alkalmazott 1:2 arányt vettem alapul.

A QuEChERS (ANASTASSIADES, et al., 2007) módszer alkalmazása során a zöldség-gyümölcs mintákban felgyűlt rengeteg adat alapján az acetonitril lehetne még alkalmas extrahálószer a növényvédőszer-maradékok általános vizsgálatához talajminták esetében is (KADENCZKI, et al., 2012; YANG, et al., 2010; FERNANDEZ, et al., 2013). Míg azonban az így kapott extrakt tömegspektrometriás detektálással azonnal vizsgálható, nem alkalmas közvetlenül N-P szelektív termoiszotópos (TSD) vagy elektronbefogási (ECD) detektorok esetében, ezért az acetonitrilt vizsgálataimból kihagytam.

#### 5.4.4 A talajban maradt kiextrahálatlan anyagok vizsgálata

A kiextrahált talajban maradt szermaradék koncentrációját a 4.6 pontban leírtak szerint a  $^{14}\text{C}$  aktivitás mérésével határoztam meg.

Az eredmények (20. táblázat) azt mutatják, hogy jelentős eltérés van az egyes hatóanyag-talaj párok esetében a talajban maradt  $^{14}\text{C}$  aktivitását tekintve ( $Q_S = 8,2\% - 34,8\%$ ). A mérés pontosságát jellemzi, hogy az extrahált, illetve a talajban maradt anyag összege ( $Q_T = Q_E + Q_S$ ) közel van a 100%-hoz (átlaguk 100,2%,  $CV = 1,5\%$ ), ami azt jelenti, hogy a hozzáadott anyag nagy részét reprodukálhatóan visszakaptam.

Az egyes növényvédőszer-maradékok kötődését a talajrészecskékhez valamint megoszlásukat a talaj-extrahálószer rendszerben nagymértékben befolyásolja, hogy az adott talaj milyen fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkezik. Azonban az elvégzett vizsgálatok alacsony száma miatt nem vonható le egyértelmű következtetés a köztük lévő kapcsolat jellemzésére. Vizsgálataim viszont egyértelműen jelzik annak fontosságát, hogy a módszervalidálás során a talajhoz kötött szermaradékokkal kell az extrakció hatékonyságát vizsgálni. Ennek leghatékonyabb módja, ha  $^{14}\text{C}$ -jelzett komponenseket alkalmazunk, bár ez a technika a rutin vizsgáló laboratóriumok többségében nem elérhető. A Codex jó laboratóriumi gyakorlat irányelvében (CODEX SECRETARIAT, 2000) valamint a FAO JMPR kézikönyvében (AMBRUS, 2016) azonban található jó alternatíva, mellyel az extrakció hatékonysága megbecsülhető. Ennek egyik módja például, hogy a  $^{14}\text{C}$ -jelzett vegyületekkel végzett metabolit vagy kimosódási vizsgálatoknál kapott és további vizsgálatok céljára tárolt minták szermaradék tartalmát extrahálják az alkalmazni kívánt oldószerrel. Ha a  $^{14}\text{C}$ -

jelzett vegyületekkel és a szermaradék vizsgálati módszerrel végzett vizsgálatok eredménye nem szignifikánsan különbözik, akkor az utóbbi hatékonysága megfelelőnek tekinthető.

20. táblázat. Visszanyerési eredmények összefoglalása a kiextrahált, illetve a talajban maradt anyagok mennyiségére vonatkozóan

Visszanyerési eredmények (%)					
		Karbofurán	Klórpirifosz	Klórfevínfosz	4,4-DDT
<b>X65</b>	$Q_E$	86,60	73,80	69,00	90,00
	$Q_S$	13,00	28,50	32,60	9,70
	$Q_T$	<b>99,6</b>	<b>102,3</b>	<b>101,6</b>	<b>99,7</b>
<b>V01</b>	$Q_E$	76,38	93,40	85,58	75,73
	$Q_S$	21,92	8,20	12,72	24,57
	$Q_T$	<b>98,3</b>	<b>101,6</b>	<b>98,3</b>	<b>100,3</b>
<b>V02</b>	$Q_E$	76,27	83,10	82,84	64,44
	$Q_S$	25,8	16,2	15,1	34,8
	$Q_T$	<b>102,1</b>	<b>99,3</b>	<b>97,9</b>	<b>99,2</b>

$Q_E$ : az acetonnal majd etil-acetáttal kiextrahált hatóanyag visszanyerése;  $Q_S$  a kiextrahált talajban maradt szermaradék mennyisége;  $Q_T$  a kezelt talajból kinyert szermaradék mennyiség összesen.

A másik módszer, hogy a talajkezelést követően a talajban maradt (*incurred*) szermaradékot 1:2 és 1:5 oldószerarányal extrahálják, és ha a két eredmény nem tér el, akkor azt mondhatjuk, hogy az alkalmazni kívánt talaj - oldószer aránnyal megfelelő az extrakció hatékonysága.

Ki kell emelni, hogy a mért aktivitás az eredeti komponens illetve annak metabolitjainak, melyek szintén tartalmazhatnak  $^{14}\text{C}$ -et, az együttes aktivitását jelenti. A komponens és metabolitjainak aránya a talajban sok tényezőtől függ: pl. a kezelés és a mintavétel között eltelt időtől, a mikrobiális aktivitás mértékétől, a pH-tól illetve egyéb fizikai paraméterektől stb. Ezért az adott növényvédő szer komponens valós mennyisége alacsonyabb lehet a  $^{14}\text{C}$  méréssel kapott mennyiséghez képest.

### 5.4.5 Az optimált extrakciós módszer alkalmazhatósága növényvédőszer-maradékok meghatározására talajban

A 4.7 pontban ismertetett validált módszer alkalmazhatóságát 3 talajon ½LOQ-100LOQ hozzáadási szinten határoztam meg. A komponensek azonosításához a klórpirifoszra, mint belső sztenderdre vonatkoztatott relatív retenciós időket (*RRT*) alkalmaztam, melyeket a 11. táblázatban foglaltam össze. A komponensek elválasztását a 11. ábra mutatja be.

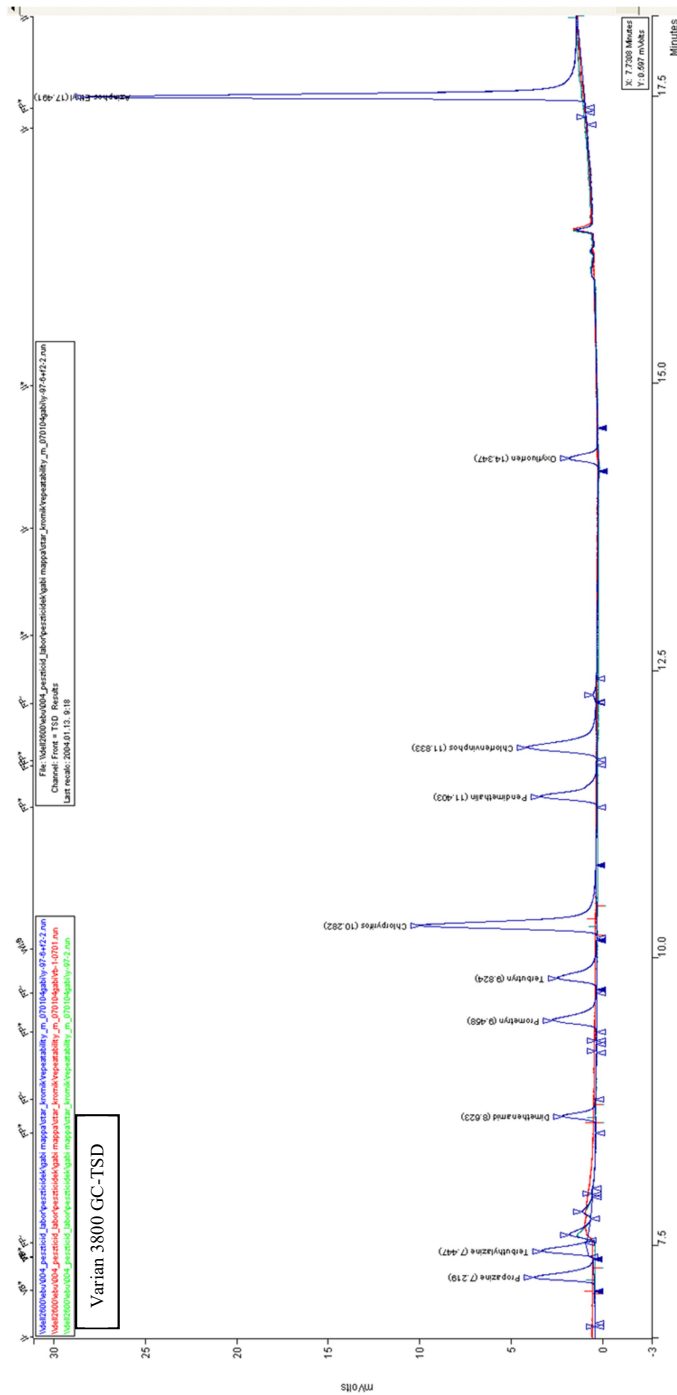
A kimutatási határ megállapításához a kalibráló oldatokat csökkenő koncentrációban injektáltam és megvizsgáltam a kapott csúcsok jel/zaj viszonyát, majd becsültem a detektálási illetve kimutatási határt 2,5 mg injektált talajra vonatkozóan (11. táblázat).

A módszer linearitását a ½LOQ-150LOQ tartományban vizsgáltam. Ehhez az összes komponenst együttesen tartalmazó, nyolc különböző koncentrációjú kalibrációs oldatot készítettem kezeletlen (vak) talajminta extrakt felhasználásával a mátrix hatás kiküszöbölése érdekében. A kalibrációs egyenesek készítéséhez a munkatársakkal kidolgozott Excel® sablont használtam. A pontokra minden esetben súlyozott lineáris regresszióval illesztettem egyenest, melyekre néhány példát a Függelékben (Függelék 3.ábra) mutatok be. Az így készített egyenesek illesztése minden esetben megfelelt a SANTE irányelveinek (EUROPEAN COMMISSION, 2015). Az egyenesek jellemző paramétereit a 21. táblázatban foglaltam össze.

21. táblázat. Az egyes komponensek kalibrációs egyeneseinek jellemző paramétereit

Komponensek	Kalibráló pontok száma	Lineáris tartomány (ng/ml)	$S_{rr}$	$R^2$
Azinfosz-etil	7	12-2400	0,074	0,9960
Klórfevínfosz	8	12-3600	0,069	0,9990
Klórpirifosz (ISTD)	8	12-3600	0,041	0,9983
Dimetenamid	8	24-80000	0,076	0,9934
Oxifluorfen	8	60-18000	0,053	0,9938
Pendimetalin	8	24-7200	0,062	0,9987
Prometrin	8	12-3600	0,070	0,9909
Propazin	8	12-3600	0,048	0,9955
Terbutilazin	6	14-1200	0,043	0,9982
Terbutrin	8	12-3600	0,045	0,9920

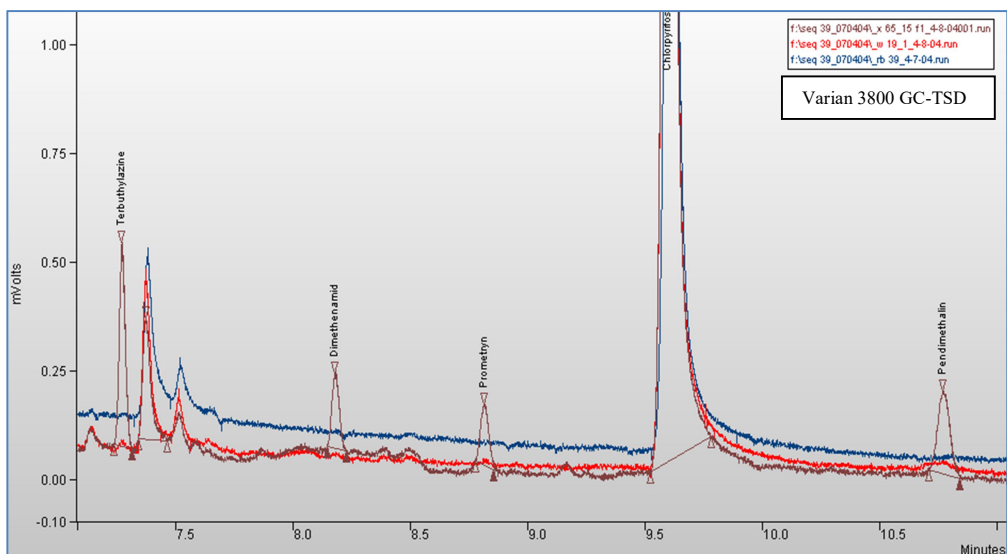




11. ábra. Bemutatott kromatogram részlet a módszervalidálásból a detektor specifikusságára: egy talajminta (Y97, piros), egy hozzáadott sztenderdet 20LOQ szinten tartalmazó kezeltlen talajminta (kék) illetve egy reagens vak (zöld)

A módszer specifikusságának vizsgálata során a három vizsgálati területen gyűjtött kezeletlen talajminták (V01, V02 és X65) extraktjaiból felvett kromatogramokat elemeztem, illetve hasonlítottam össze a kimutatási határnak megfelelő szinten sztenderd oldattal kezelt talajmintával (egy példát mutat be a 12. ábra). Mivel az egyes komponensek retenciós idejénél nem találtam zavaró csúcsot a komponens kimutatási határának 30%-át meghaladó mértékben, (EUROPEAN COMMISSION, 2003), a módszert specifikusnak tekintettem.

A reprodukálhatóság vizsgálatához a kezeletlen talajmintákat az összes komponenset tartalmazó sztenderd oldattal kezeltem 3 különböző szinten ( $F_1=LOQ$ ,  $F_2=20LOQ$  és  $F_3=100LOQ$ ) 5-5 párhuzamosban 3 különböző napon két munkatársam segítségével. Szintenként és komponensenként meghatároztam az átlagos visszanyeréseket ( $\bar{Q}_{L1}$ ,  $\bar{Q}_{L2}$ ,  $\bar{Q}_{L3}$ ) és a relatív szórásokat ( $CV_Q$ ). A kapott eredmények, melyeket a 22. táblázatban foglaltam össze, kielégítik a vonatkozó minőségbiztosítási előírásokat (azaz az átlagos visszanyerés 70-120% közé esik, ill. a relatív szórás  $\leq 20\%$ ). A különböző talajokban kapott visszanyerések azt mutatják, hogy reprodukálhatóságban nincs szignifikáns különbség, ami alátámasztja az extrakció reprodukálhatóságának vizsgálatokor tapasztaltakat.



12. ábra. A módszer specifikusságának vizsgálatához készített reagens vak (kék), kezeletlen talajminta (piros) valamint egy  $LOQ$  szintjén hozzáadott sztenderdet tartalmazó kezeletlen talajminta (barna) kromatogram részlete

22. táblázat. Az optimált módszer reprodukálhatósága<sup>1</sup> talajmintákra (X65, Y97, W33) alkalmazva

Komponensek	F1. szint (LOQ)			F2. szint (20LOQ)			F3. szint (100LOQ)		
	mg/kg	$\bar{Q}_{L1}$	$CV_{Q1}$	mg/kg	$\bar{Q}_{L2}$	$CV_{Q2}$	mg/kg	$\bar{Q}_{L3}$	$CV_{Q3}$
Azinfosz-etil	0,01	91,2	0,15	0,2	87,8	0,13	1	81,4	0,10
Klórfevínfosz	0,01	99,9	0,12	0,2	79,4	0,13	1	89,8	0,11
Klórpirifosz	0,01	86,6	0,15	0,2	80,5	0,12	1	83,1	0,09
Dimetenamid	0,02	102,7	0,20	0,4	75,9	0,10	2	92,6	0,11
Oxifluorfen	0,05	84,5	0,13	1	76,3	0,10	5	88,5	0,11
Pendimetalin	0,02	110,8	0,11	0,4	75,8	0,11	2	83,0	0,13
Prometrin	0,01	100,9	0,20	0,2	87,0	0,18	1	100,5	0,13
Propazin	0,01	96,7	0,15	0,2	77,4	0,14	1	87,1	0,11
Terbutilazin	0,01	110,0	0,15	0,2	106,6	0,18	1	110,7	0,21
Terbutrin	0,01	113,7	0,17	0,2	85,8	0,16	1	102,7	0,12

<sup>1</sup> a reprodukálhatóság meghatározásához komponensenként 15 tesztvizsgálat készült, melyet 3 személy különböző napokon készített;  $\bar{Q}_L$ : a reprodukálhatósági vizsgálat során kapott átlagos visszanyerések (%);  $CV_{Q1-3}$ : az egy szinthez tartozó visszanyerések relatív szórása.

A módszer validálása során vizsgált teljesítmény-jellemzők kielégítették a vonatkozó minőségbiztosítási elvárásokat, ezért a módszert alkalmasnak ítélem a kezelt területen gyűjtött egyes talajfuratok minőségi és mennyiségi meghatározásához.

## 5.5 A mért szermaradékok eloszlása és a mintavétel hibájának becslése

### 5.5.1 Belső minőségbiztosítási minták értékelése

A két kezelt területen gyűjtött 130-130 egyedi talajfurat szermaradék koncentrációjának meghatározása során minden vizsgálati sorozatban QC mintákat (ismert mennyiségű sztenderd oldattal kezelt vak talajminta) is készítettem. A kapott visszanyeréseket a 23. táblázatban összegeztem. Mivel a visszanyerések 70 és 120% közé esnek, a  $CV_A$  pedig kisebb, mint 20%, az eredmények a vonatkozó minőségbiztosítási elvárásoknak megfeleltek.

23. táblázat. *Visszanyerések illetve relatív szórásuk összefoglalása*

Hozzáadás szintje	Dimetenamid			Pendimetalin			Prometrin		
	<i>Q</i>	<i>CV<sub>A</sub></i>	<i>n</i>	<i>Q</i>	<i>CV<sub>A</sub></i>	<i>n</i>	<i>Q</i>	<i>CV<sub>A</sub></i>	<i>n</i>
LOQ	86,4	0,19	6	97,2	0,02	4	82,2	0,06	6
20LOQ	74,5	0,09	8	75,5	0,11	8	77,0	0,07	8
100LOQ	88,9	0,08	6	87,1	0,12	6	86,4	0,07	6
<b>Összevont</b>	<b>82,4</b>	<b>0,15</b>	<b>20</b>	<b>84,2</b>	<b>0,14</b>	<b>18</b>	<b>81,4</b>	<b>0,08</b>	<b>20</b>

*LOQ*: kimutatási határ; *Q*: visszanyerés (%); *CV<sub>A</sub>*: variációs koefficiens; *n*: visszanyerések száma; Összevont: mindhárom hozzáadási szint visszanyeréseit figyelembe véve számolt értékek.

A módszer hosszú távú működését jellemző laboron belüli reprodukálhatóságot (*CV<sub>L</sub>*) a talajminták ismételt vizsgálatával határoztam meg. A homogenizált talajból néhány esetben félretettem 20-20 grammnyi mennyiséget PE zacskókba és fagyasztóban tároltam, majd egy másik napon a többi mintával együtt meghatároztam a szermaradék koncentrációkat. Az ismételt mérések eredményeiből az 5. egyenlettel becsültem a *CV<sub>L</sub>*-t. Az eredményeket a 24. táblázatban foglaltam össze.

24. táblázat. *A laboratóriumon belüli reprodukálhatóság összefoglalása*

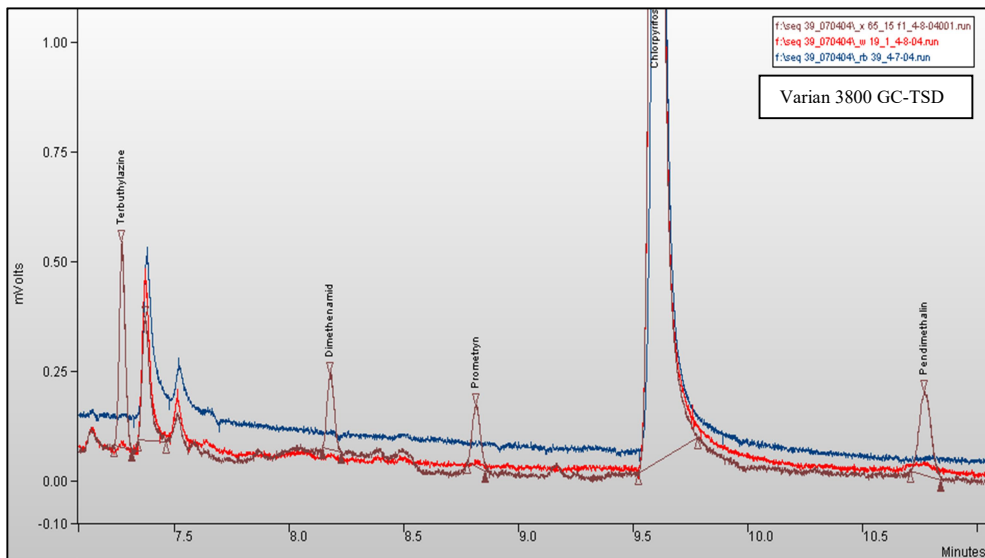
Komponens	<i>k</i>	<i>CV<sub>L</sub></i>
Dimetenamid <sup>1</sup>	25	0.260
Pendimetalin	16	0.191
Prometrin <sup>1</sup>	28	0.176

<sup>1</sup> mindkét mintavételi hely (Mezőkövesd, Herceggút) eredményét tartalmazza; *k*: a párhuzamos minták száma

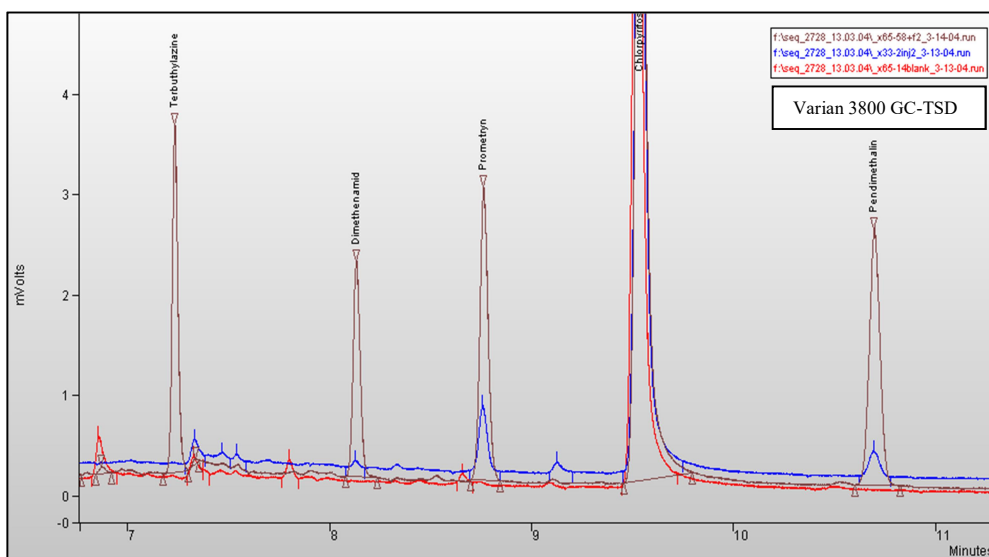
### 5.5.2 A vizsgálati eredmények értékelése

A Mezőkövesd, illetve Herceggút közelében fekvő növényvédő szerekkel kezelt területeken megvett 130-130 talajfurat vizsgálatához a mintákat először vízzel homogenizáltam (4.4.3.4.), majd a validált módszerrel (4.7.) extraháltam. A szermaradékok (dimetenamid, pendimetalin, prometrin) mennyiségi meghatározást GC-TSD-vel végeztem.

A detektálás érzékenyégét illetve az elválasztás jóságát 13. illetve 14. ábrán bemutatott kromatogramok szemléltetik.



13. ábra. Reagens vak (kék), kezelt területől származó talajminta (piros), illetve egy LOQ szintjén hozzáadott sztenderdet tartalmazó vak talajminta (QC minta) (barna) összehasonlító kromatogram részlete



14. ábra. Kezeletlen (vak) talajminta (mintavak) (piros), kezelt területől származó talajminta (kék), illetve egy 20LOQ szinten hozzáadott sztenderdet tartalmazó vak talajminta (barna) összehasonlító kromatogram részlete

Minden mintasorozathoz meghatároztam a talajfuratokban mért minimum, maximum és átlag koncentrációkat is, melyeket a 25. táblázatban foglaltam össze. A táblázatról leolvasható, hogy az egyes pozíciókban vett talajfuratokban mért szermaradékok között 60-240-szeres koncentrációbeli különbségek is előfordultak. Az elemi talajmintákban mért maradékok variabilitásának szemléltetésére a mezőkövesdi tábla prometrin eredményeit választottam (15. ábra). Az ábra jól mutatja, hogy milyen nagy a mért szermaradékok variabilitása a területen. Az értékelésből azokat a mintákat sem hagytam ki, melyekben nem volt kimutatható szermaradék. Ebben az esetben mért értéknek a kimutatási határ felének megfelelő mennyiséget vettem, így a maradékok variabilitására illetve a mintavétel hibájára pontosabb becslést kaptam.

Az egy területről vett talajfuratokban mért szermaradékok eloszlásának relatív szórása ( $CV_{distr}$ ) az alábbi egyenlettel határozható meg:

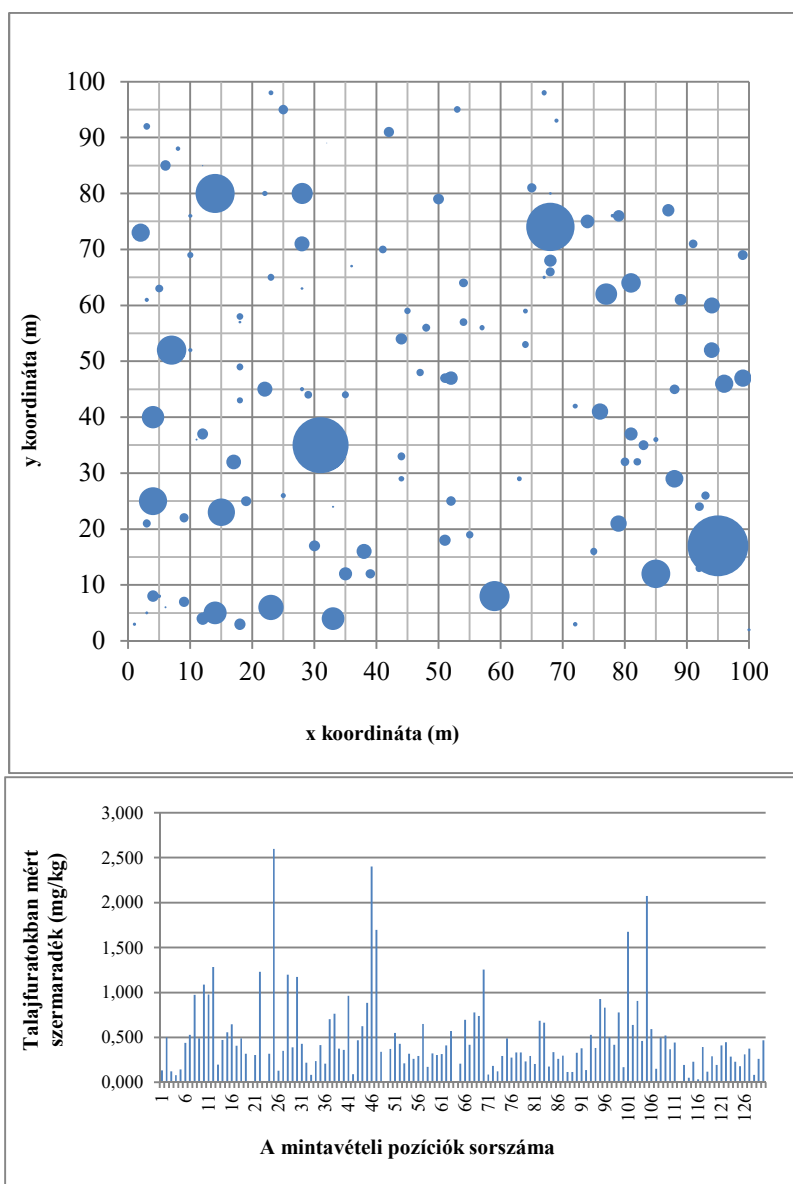
$$CV_{distr} = \sqrt{CV_R^2 - CV_L^2} \quad (32)$$

Ahol a  $CV_R$  a mért szermaradék relatív szórása, a  $CV_L$  a laboratóriumi vizsgálat relatív szórása (24. táblázat).

25. táblázat. Az egyes talajfuratokban mért szermaradékok eredményeinek összefoglalása

	Mezőkövesd			Herceggút	
	Dimetenamid	Prometrin	Pendimetalin	Prometrin	Dimetenamid
$R_{\text{átl}} \text{ (mg/kg)}$	0,498	0,495	0,143	0,108	0,267
$CV_R$	0,83	0,88	0,69	0,87	1,14
$R_{\text{min}} \text{ (mg/kg)}$	0,046	0,035	0,010	0,005	0,010
$R_{\text{max}} \text{ (mg/kg)}$	2,97	2,60	0,644	0,836	2,44
$CV_{distr}$	0,81	0,86	0,66	0,85	1,13

$R_{\text{átl}}$ : a talajfuratokban mért szermaradék átlaga;  $CV_R$ : a talajfuratokban mért szermaradékok relatív szórása (kerekített értékek);  $R_{\text{min}}$  és  $R_{\text{max}}$  a legalacsonyabb és a legmagasabb mért maradék;  $CV_{distr}$ : a véletlenszerűen kiválasztott pontokon vett talajfuratokban mért szermaradékok területen belüli eloszlása (kerekített értékek)

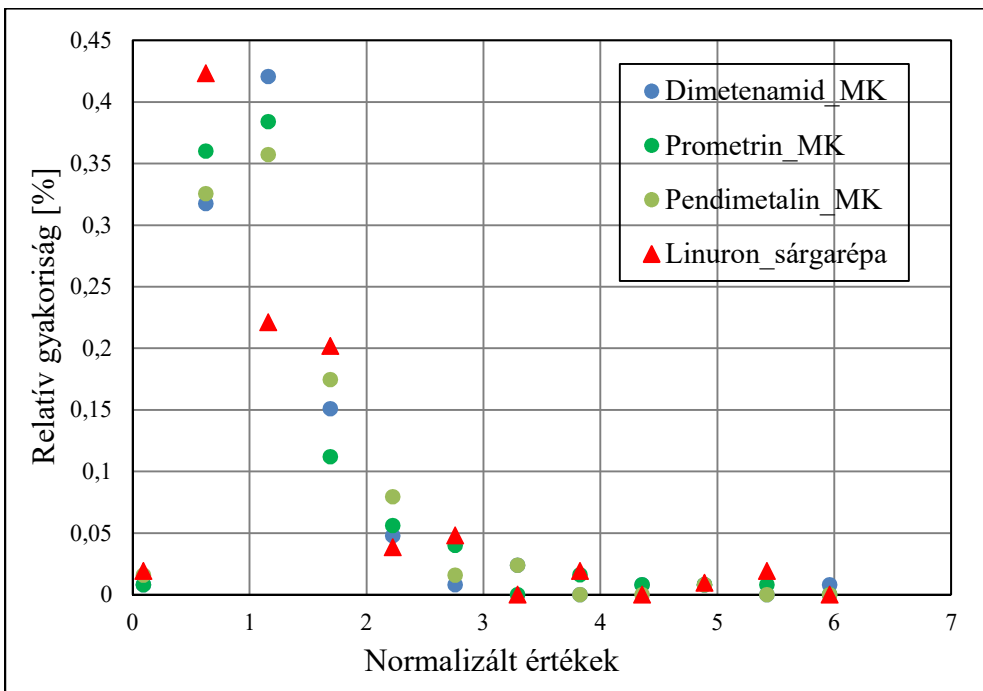


15. ábra. Az egyes mintavételi helyeken mért prometrin koncentrációja a mezőkövesdi mintavételi területen (a pontok nagysága arányos a mért szermaradék mennyiségével)

A 25. táblázat adatait elemezve megállapítható, hogy a szermaradékok területen belüli variabilitásának ( $CV_{distr}$ ) hozzájárulása a mért szermaradékokhoz ( $CV_R$ ) 95-99% (a megfelelő varianciákból számolva:  $V_{distr}/V_R$ ), ami azt jelzi, hogy az analitikai fázis bizonytalanságának hozzájárulása a végeredmény variabilitásához elhanyagolható. Ezért a

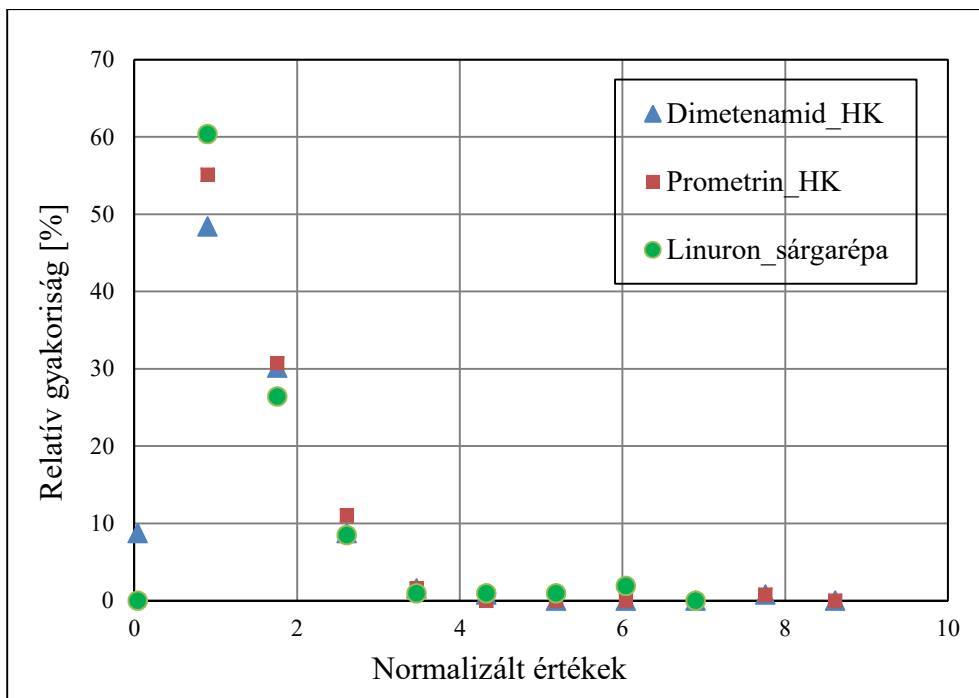
mintavétel bizonytalansága a mért eredményekből közvetlenül meghatározható.

Megvizsgáltam, van-e hasonlóság a szermaradékok talajban valamint a talajban termesztett zöldségfélékben tapasztalt eloszlása között. Az egy területről vett talajfúratokban mért szermaradék értékeket normalizáltam (azaz az átlagos értékkel elosztottam), majd a normalizált eredmények gyakorisági eloszlását összevettem a sárgarépa kísérletekből származó linuron (HORVÁTH, et al., 2013; FARKAS, et al., 2014) és burgonyából származó aldikarb (szintén normált) eredmények relatív gyakoriságával. A 16. és 17. ábráról leolvasható, hogy a szermaradékok a talajban illetve a sárgarépában nagyon hasonló eloszlást mutatnak.



**16. ábra. A Mezőkövesden (MK) vett talajmintákban mért szermaradékok relatív gyakoriságának, illetve a sárgarépa mintában mért linuron relatív gyakoriságának összehasonlítása**





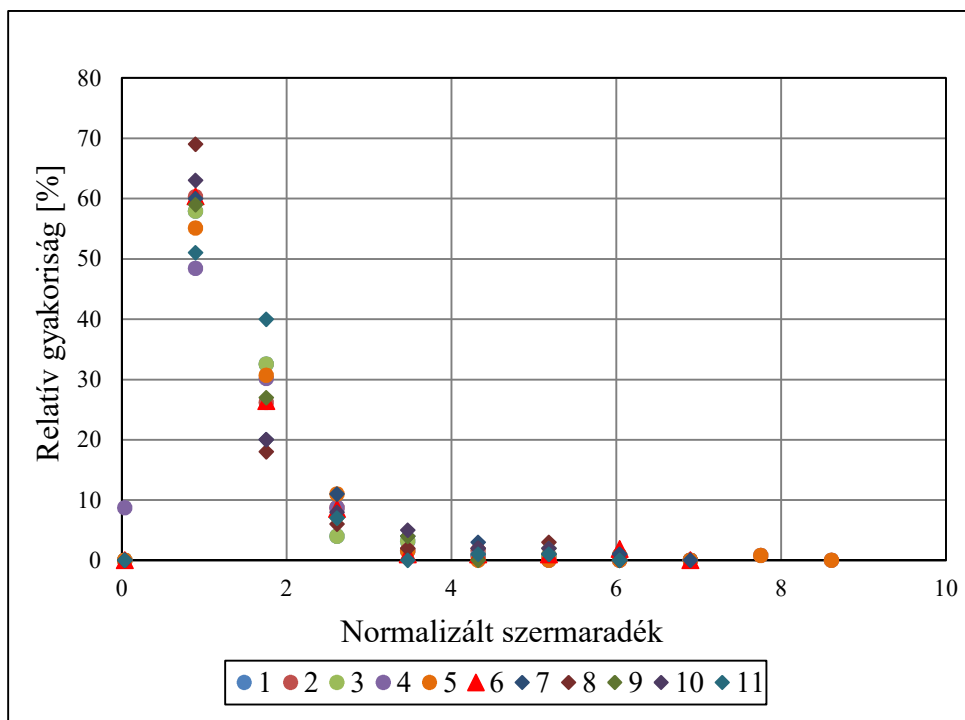
17. ábra A Hercegkúton (HK) vett talajmintákban mért szermaradékok relatív gyakoriságának, illetve a sárgarépa mintában mért linuron relatív gyakoriságának összehasonlítása

A 18. ábrán a normalizált talajvizsgálati eredmények mellett a sárgarépában mért linuron valamint a burgonyában mért aldikarb eredményeket együtt ábrázoltam. A diagramon jól látszik, hogy növényvédő szerrel kezelt talajban mért szermaradékok (1-5 számmal jelölt pontok) variabilitása, valamint a kezelt talajban termesztett gumós és gyökérzöldségekben (6-11) mért szermaradékok variabilitása azonos tartományon belül mozog.

Azt is vizsgáltam, hogy a 2. egyenlet alkalmazható-e a kezelt területről származó talajfuratokban mért szermaradékok esetében is. Ehhez véletlen visszahelyezéssel mintavétellel komponensenként 10 000 random összetett mintát képeztem egy Excel makróval  $n=10$  és 25 mintaszámmal (AMBRUS, 2009). Az eredményeket a 26. táblázatban foglaltam össze.

A táblázatból leolvasható, hogy random visszahelyezéssel generált összetett mintákban kapott szermaradékok koncentrációjának relatív bizonytalansága ( $CV_R$ ) kevesebb, mint 1,2%-kal ( $\Delta_{CV}$ ) tér el a 2. egyenlettel számolt elméleti értéktől ( $CV_{Rteo}$ ). Az is jól látszik, hogy az elemi mintákban mért átlagos szermaradék, illetve az összetett mintákban meghatározott átlagos maradék is maximum 0,8%-kal tér el egymástól ( $\Delta_{\text{átl}}\%$ ). Az elemi talajminták esetében rendelkezésre álló 5 adatsorból meghatározott átlagos

$CV_{Rtalaj} = 88\%$  ( $n=1$ ), míg a talajban termesztett növények (sárgarépa és burgonya) esetén rendelkezésre álló 14 adatsorból számolt  $CV_{Rzöltség}$  ( $n=1$ ) 99%-nak adódott. Az eredmények jó összhangban vannak a Farkas és munkatársai (FARKAS, et al., 2015) által meghatározott, 256 szerkísérlet alapján elemi mintákban becsült  $CV_R$  értékkel, mely 103%.



18. ábra. Mezőkövesden (1:dimetenamid, 2: pendimetalin, 3:prometrin) és Herceggkúton (4: dimetenamid, 5. prometrin) talajban sárgarépában (6: linuron) és burgonyában különböző tételekben mért aldikarb (7, 8, 9, 10, 11) szermaradékok relatív gyakorisági eloszlása.

A 27. táblázatból leolvasható, hogy ha egy mintához nem egy, hanem 10 elemi talajmintát veszünk, akkor  $CV_S$  érték 28%-ra csökken, 25 elemi minta vételekor pedig kb. 18%-ra, ami jól korrelál az Ambrus (1996) által zöltség-gyümölcs mintákban megállapított mintavételi bizonytalansággal ( $n=10$   $CV_S=25-30\%$ ,  $n=25$   $CV_S=16\%-20\%$ ) illetve a Farkas és munkatársai (2014) által talajban termesztett gyökér és gumós zöltségekben becsült bizonytalansággal ( $n=10$ ,  $CV_S=20\%$ ). Így megállapítható, hogy a sok ezer vizsgálaton alapuló növényi mintavételek alapján meghatározott mintavételi bizonytalanságok alkalmazhatóak a talajok becsült mintavételi bizonytalanságának kiegészítésére.

26. táblázat. Az elemi minták (talajfuratok) szermaradék koncentrációiból véletlen visszahelyezéssel mintavétellel generált összetett mintákban kapott szermaradékok jellemzői

Komponensek	<i>n</i>	<i>R<sub>át</sub></i> (mg/kg)	<i>CV<sub>R</sub></i>	<i>CV<sub>Rteo</sub></i>	$\Delta_{CV}\%$	$\Delta_{át}\%$
Dimetenamid (MK)	1	0,498	0,829	-	-	-
	10	0,499	0,262	0,262	0,28	0,15
	25	0,500	0,167	0,166	0,45	0,36
Prometrin (MK)	1	0,495	0,877	-	-	-
	10	0,495	0,278	0,277	0,06	0,08
	25	0,494	0,175	0,175	-0,28	0,30
Pendimetalin (MK)	1	0,143	0,688	-	-	-
	10	0,143	0,216	0,217	0,59	0,15
	25	0,143	0,136	0,138	1,17	0,02
Prometrin (HK)	1	0,111	0,869	-	-	-
	10	0,110	0,269	0,270	0,32	0,75
	25	0,110	0,170	0,171	0,58	0,69
Dimetenamid (HK)	1	0,267	1,144	-	-	-
	10	0,267	0,360	0,362	0,61	0,03
	25	0,267	0,227	0,229	0,74	0,07

*R<sub>át</sub>*: az elemi minták és a 10 000 összetett minta szermaradékának átlaga; *CV<sub>R</sub>*: az elemi és az összetett mintákban kapott szermaradék eredmények relatív szórása; *CV<sub>Rteo</sub>*: a 2. egyenlet alapján becsült relatív szórás;  $\Delta_{CV}\%$ : A 2. egyenletből becsült (*CV<sub>Rteo</sub>*), illetve a kísértettel meghatározott *CV<sub>R</sub>* százalékos eltérése a *CV<sub>Rteo</sub>*-ra viszonyítva;  $\Delta_{át}\%$ : az összetett minták átlagos szermaradék tartalma és az elemi minták átlagos szermaradék tartalmának százalékos különbsége az elemi mintákra vonatkoztatva; MK: Mezőkövesd, HK: Herceghát

Miután a talaj-mintavételi eredmények bizonytalanságának alábecslése téves következtetések levonásához vezethet, javaslok a  $CV_S=100\%$ -ra kerekített relatív szórás alkalmazását a talaj felső 15 cm-es rétegeből vett talajfuratok szermaradék tartalma variabilitásának jellemzésére mindaddig, amíg a kezelt talajra vonatkozóan pontosabb adatok nem állnak rendelkezésre. A  $CV_S$  változását az elemi minták számának növekedésével a 27. táblázatban szemléltetem.

27. táblázat. A mintavétel bizonytalanságának becslése a különböző számú elemi mintából álló összetett mintákkal

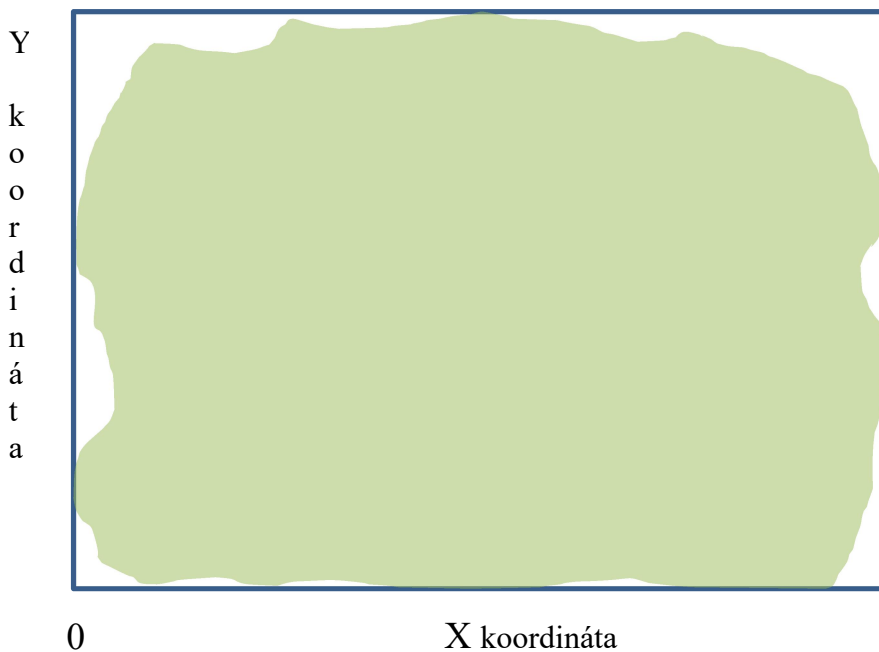
n	$CV_S$ (kísérleti)=88%	$CV_S$ (javasolt) =100%
10	28%	32%
25	18%	20%
30	16%	18%
50	12%	14%

Az összetett talajminták szermaradék tartalmának varianciája a 2. egyenlettel becsülhető az összetett mintát alkotó elemi minták számának valamint szermaradék tartalmuk varianciájának ismeretében. Miután az összetett minta szermaradék tartalmának bizonytalansága fordítottan arányos az elemi minták számának négyzetgyökével, így az csak enyhén csökken az elemi minták számának 25 fölé emelésével (27. táblázat). Az ilyen nagyméretű minták (n=30-50) feldolgozása a rutin laboratóriumok számára már komoly nehézségeket okoz, valamint ezzel arányosan megnövekszik a minta-homogenizálásból eredő hiba is, mely az eredmények kombinált mérési bizonytalanságának emelkedéséhez vezet.

Mindezeket figyelembe véve, a talajok növényvédőszer-maradék tartalmának meghatározásához végzett mintavételénél 25 elemi minta vétele javasolt, mert így a mintavételből eredő bizonytalanság 20% körül tartható és ez a mintaméret még kezelhető a rutin laboratóriumokban rendelkezésre álló eszközökkel. Vizsgálataim megerősítik, hogy a vonatkozó ISO mintavételi szabvány által előírt (ISO, 2002) 25 elemű minta vétele növényvédőszer-maradékok vizsgálatára is megfelelő. Az elemi mintaszám független a terület nagyságától. Farkas és munkatársai (2017) vizsgálati alapján célszerű legalább 4 független elemi minavételi pontokról származó összetett mintát venni.

A 100-szor 100 m-es mintavételi területen a 10 méterenként elhelyezett karók megfelelő segítséget adtak a mintavételi pontok kijelöléséhez. Azonban, ha a mintavételi terület ettől jóval nagyobb méretű (akár több hektár), ez a módszer már nem alkalmazható. Ebben az esetben a mintavételi pontok kijelölésére a következő módszert javaslom. A mintavételi terület pontos kijelölése után, rajta egy képzeletbeli derékszögű koordináta rendszert fektetünk le, mely a teljes mintázandó területet lefedi (19. ábra). A koordináta rendszer nullpontját rögzítjük, és az X:Y koordinátákkal meghatározott mintavételi pontokat a teljes mintázandó

területen véletleszám generálással meghatározott koordináták alapján kijelöljük. A mintavételi területen kívül eső, illetve az ismétlődő pontokat kihagyjuk. A mintavételi pontok azonosítását GPS készülékkel végezzük, melyek közül a  $\pm 1\text{m}$  pontosságúak ma már megfizethető áron beszerezhetőek. A GPS készülékek alkalmazásának előnye, hogy lehetővé teszi az ismételt mintavételt az adott mintavételi pontból, amennyiben erre szükség van.



**19. ábra.** A mintavételi terület elhelyezése a koordináta rendszerben

## 6. Új tudományos eredmények összefoglalása

A  $^{14}\text{C}$ -izotóppal jelzett növényvédő szerek alkalmazásával vizsgáltam a talajok homogenizálására alkalmazható eljárások hatékonyságát, az oldószeres extrakció reprodukálhatóságát és a termoionos és elektronbefogási detektorokkal kompatibilis oldószer kombinációk (acetón, etil-acetát, hexán) hatékonyságát a talajhoz kötött szermaradékok kinyerésére. Az optimális acetón/etil-acetát extrakciós módszert eltérő fizikai-kémiai tulajdonságú három talajjal és 10 növényvédő szerrel a nemzetközi előírásoknak megfelelően validáltam. A kapott teljesítményjellemzők kielégítették a vonatkozó minőségbiztosítási elvárásokat. Az optimalizált módszerrel határoztam meg a két napraforgó tábláról vett 126-126 talajfuratban található szermaradék koncentrációkat a szermaradékok területi eloszlásának és a mintavétel bizonytalanságának vizsgálata céljából.

A  $^{14}\text{C}$ -izotóppal jelzett komponensek használatának nagy előnye, hogy a komponensek a folyadék szcintillációs számlálóval (LSC) közvetlenül az extraktból mérhetőek kisebb, mint 1% relatív bizonytalanság mellett, lehetővé téve a szermaradékok meghatározásakor alkalmazott műveletek hozzájárulásának elkülönített vizsgálatát az eredmény kombinált bizonytalanságához.

1. Öt különböző fizikai kémiai tulajdonságú talajjal végzett vizsgálatok alapján megállapítottam, hogy az átlagos laboratóriumi körülmények között alkalmazható talajminta-feldolgozási eljárások (a hagyományos kézzel történő aprítás és összekeverés, a talaj  $\leq 2$  mm szemcseméretűre darálása, aprítása szárazjég illetve desztillált víz hozzáadásával) közül általánosan a desztillált víz hozzáadásával, illetve bizonyos talajoknál a kézi keveréssel érhető el a feldolgozott minta jól kevert állapota. Ez 20 g talajminta hányadra vonatkoztatva, rendre, a vizsgált szermaradék  $<8\%$  illetve  $<34\%$  relatív szórását eredményezte. A növényvédőszer-maradék vizsgálatok reprodukálhatóságával szembeni általános követelménynek ( $CV \leq 25\%$ ) csak a víz hozzáadásával végzett homogenizálás felel meg.
2. Hét különböző fizikai-kémiai tulajdonsággal rendelkező talajmintával  $^{14}\text{C}$ -atrazinnal végzett visszanyerési vizsgálatok alapján megállapítottam, hogy a vizsgálandó mátrixnak helyesen megválasztott oldószerrel végrehajtott extrakció reprodukálhatósága ( $CV_E=0,54\%$ ) és a 100,9%-os átlagos visszanyerés gyakorlatilag nem járul hozzá a mintavizsgálatoknál tapasztalt 70-120% visszanyerési értékekhez. Az

eredmények szóródását az extrakciót követő tisztítási, bepárlási műveletek okozhatják.

3. Hét eltérő tulajdonságú talajban 6 hónapig „érlelt” négy különböző fizikai-kémiai tulajdonságú,  $^{14}\text{C}$ -jelzett növényvédő szer hatóanyag felhasználásával meghatároztam az optimálisnak talált extrakció hatékonyságát. Megállapítottam, hogy a gyakorlati szempontok alapján szóba jöhető oldószerek (aceton, etil-acetát, hexán) közül a két lépcsős, acetonnal, majd etil-acetáttal történő extrakciós módszer a legalkalmasabb a különböző polaritású szermaradékok jelentős hányadának a kinyerésére különböző hatóanyag-talaj párok esetében. Az eredmények felhívják a figyelmet arra, hogy az extrakció előtt hozzáadott vegyületekkel végzett visszanyerési vizsgálatok nem adnak megbízható információt az extrakció hatékonyságára, azaz az eredmény helyességére, amit a talajvizsgálatokra alkalmazni kívánt módszer validálásakor külön meg kell meghatározni.
4. A validált módszerrel meghatároztam 2 normál mezőgazdasági gyakorlat szerint művelt terület felső 15 cm-es rétegéből vett 5 cm átmérőjű talajmintákban a növényvédőszer-maradékok eloszlását, melyekből ismételt véletlen visszatevéses mintavételi eljárással modelleztem a 10-25 elemi mintából álló összetett minták mintavételi bizonytalanságát, ami a két szermaradék adatsor alapján 10 és 25 elemű összetett minták esetén 32% és 20% volt. Megállapítottam, hogy a  $CV_n = \frac{CV_1}{\sqrt{n}}$  összefüggés az elemi mintákban a magas szermaradék értékek felé erősen elnyújtott eloszlásokra is alkalmazható, tehát az összetett minták átlagos szermaradék tartalma tetszőleges elemszámra számítható.
5. A talajokból vett elemi minták (talajfuratok) növényvédőszer-maradék tartalmának relatív gyakorisági eloszlását összehasonlítva a kezelt talajokban termett különböző növényi minták szermaradék tartalmának eloszlásával megállapítottam, hogy azok nagyon hasonlóak és átfedik egymást. Következésképpen a sok ezer eredmény alapján a növények szermaradék tartalmának vizsgálatára meghatározott mintavételi bizonytalanságok jól kiegészítik a talajvizsgálati eredményeket. A növényi és talajminta vizsgálati eredmények együttes figyelembevételével a talajok elemi mintáiban a növényvédőszer-maradékok relatív szórását 100%-os értékkel javaslom figyelembe venni, mely szükség szerint finomítható, ha különböző talajokban további szermaradék eloszlási vizsgálatok eredményei rendelkezésre állnak.

6. A talajok növényvédőszer-maradék tartalmának meghatározásához végzett mintavételénél 25 elemi minta vétele javasolt, mert így a mintavételből eredő bizonytalanság 20% körül tartható és ez a mintaméret még kezelhető a rutin laboratóriumokban rendelkezésre álló eszközökkel. Vizsgálataim megerősítik, hogy a vonatkozó ISO-10381-1 mintavételi szabvány (ISO, 2002) által előírt 25 elemű minta vétele növényvédőszer-maradékok vizsgálatára is megfelelő.



## 7. Összefoglalás

A környezet növényvédő szer szennyezésének fő forrása a talaj. A mért szermaradék koncentráció értelmezéséhez szükség van a mérési eredmény kombinált bizonytalanságának ismeretére. Az analitikai vizsgálati eredmények szóródását a várható érték körül számos tényező befolyásolja. Ezek közül a fő összetevők a mintavétel, mintaméret csökkentés, mintahomogenizálás és az analízis véletlen hibája. A mintavétel bizonytalanságára, illetve a szermaradékok eloszlására növényi minták esetében számos irodalmi adattal rendelkezünk, talajokra viszont alig van adat.

Kutatómunkám során meghatároztam a talajok növényvédőszermaradék tartalmának vizsgálatához alkalmazott minta-előkészítési módszerek hatékonyságát, megbecsültem az egyes minta-előkészítési eljárások relatív hibáját, az oldószeres extrakció reprodukálhatóságát, illetve a talajhoz kötött szermaradékok extrakciójának hatékonyságát. Mindezeket túl optimalizáltam, majd validáltam a szermaradékok talajból történő kinyeréséhez szükséges extrakciós módszert, valamint a gázkromatográfiás meghatározást. Az így kapott módszerrel meghatároztam két, rendszeres mezőgazdasági gyakorlat szerint növényvédő szerrel kezelt napraforgótáblán gyűjtött, 15 cm mélyről vett 5 cm átmérőjű talajfuratokban a szermaradékok eloszlását.

Az elemi minták (talajfuratok) alkotta alapsokaságból ismételt véletlen visszatevéses mintavételi eljárással, számítógépes makró segítségével összetett mintákat képeztem és meghatároztam a mintavétel bizonytalanságát 10, ill. 25 elemi mintából álló összetett minták esetén. Az eredmények alapján vizsgáltam, hogy a  $CV_n = \frac{CV_1}{\sqrt{n}}$  összefüggés a magas szermaradék értékek felé erősen elnyújtott eloszlásokra is alkalmazható-e. Végül a talajfuratokban mért szermaradékok relatív gyakorisági eloszlását összehasonlítottam a kezelt talajokon termesztett sárgarépa és burgonya mintákban tapasztalt relatív gyakorisági eloszlásokkal, hogy megvizsgáljam, hogy a növényi minták esetében rendelkezésre álló sok ezer, a szermaradékok eloszlására vonatkozó, adattal és információval kiegészíthető-e a talajok esetén limitáltan rendelkezésre álló adatok annak érdekében, hogy a legpontosabb becslést kapjam az összetett talajmintákban várható mintavételi bizonytalanságára.

Ismert mennyiségű  $^{14}\text{C}$ -atrazinnal kezelt talaj mintahányadok acetonos extrakciójának reprodukálhatóságát vizsgáltam és megállapítottam, hogy a hozzáadott anyag közel 100%-ban visszanyerhető  $CV_E=0,54\%$ -os reprodukálhatósággal. Azaz az eredmények tipikus variabilitásáért (70%-120%), illetve reprodukálhatóságáért ( $CV_A = 5\text{-}20\%$ ) nem az extrakció, hanem a további lépések (tisztítás, bepárlás stb.) a felelősek.

A minta-homogenizálás hatékonyságának vizsgálatát 5 különböző tulajdonságú talajmintával végeztem, melyek 1/25-részt  $^{14}\text{C}$ -atrazinnal kezeltem, majd a négy vizsgálandó módszer (kézzel történő keverés, őrlés, homogenizálás szárazjéggel illetve desztillált vízzel) egyikével homogenizáltam, végül acetonnal extraháltam. A legalacsonyabb átlagos relatív minta-homogenizálásból eredő bizonytalanságot (20 gramm mintahányad esetén a  $CV_{sp}=4-7\%$ ) a desztillált víz jelenlétében történő homogenizálás eredményezte, melyet az összes vizsgált talajra alkalmasnak találtam.

A talajhoz kötött szermaradékok extrakciójának hatékonyságát a leggyakrabban alkalmazott, termoionos illetve elektronbefogási detektorokkal kompatibilis oldószerekkel (aceton, etil-acetát illetve hexán) határoztam meg. A vizsgálatokhoz a különböző fizikai-kémiai tulajdonságú talajmintákat  $^{14}\text{C}$ -jelzett modellvegyületekkel kezeltem. Megállapítottam, hogy a vizsgált extrahálószeresek közül a két lépcsős, acetonnal, majd etil-acetáttal történő extrakciós módszer a legalkalmasabb a különböző polaritású komponensek kinyerésére.

A  $^{14}\text{C}$ -jelzett komponensek használatának nagy előnye, hogy koncentrációjuk a folyadék szcintillációs számlálóval (LSC) közvetlenül az extraktból mérhetőek, kisebb, mint 1% relatív bizonytalanság mellett.

Az optimált módszert validáltam és ezzel a módszerrel meghatároztam a két növényvédő szerrel kezelt területen vett 5 cm átmérőjű 126-126 talajfurat szermaradék tartalmát abból a célból, hogy vizsgáljam a szermaradékok eloszlását, illetve a mintavétel bizonytalanságát. Az egyes talajfuratokban mért koncentrációk között 60-240-szeres különbségeket tapasztaltam. Megállapítottam, hogy a kezelt területen az egyedi talajfuratokban mért szermaradékok eloszlása 5 növényvédőszer-maradék talaj kombinációból származó adatsorból átlagosan 88%-os relatív szórással jellemezhető.

A mintavétel bizonytalanságának meghatározásához az elemi talajfuratokban mért eredmények alkotta populációból ismételt véletlen visszatevéses mintavételi eljárással 10, illetve 25 elemszámú összetett mintákat képeztem számítógépes makró segítségével. Megállapítottam, hogy a  $CV_n = \frac{CV_1}{\sqrt{n}}$  összefüggés a magas szermaradék értékek felé erősen elnyújtott eloszlásokra is alkalmazható, tehát az összetett minták átlagos szermaradék tartalma tetszőleges elemszámra számítható.

A talajban termesztett növények (sárgarépa és burgonya) 14 kezelt területről vett elemi mintáiban mért szermaradék átlagos  $CV_{Rzöltség}$  értéke 99% volt. Az eredmények jó összhangban vannak a gyökér és gumós zöltségek elemi mintáiban 256 szerkísérlet alapján becsült  $CV_R = 103\%$

értékkel. A talajfuratokban mért, valamint a kezelt talajokon termesztett sárgarépa és burgonya mintákban tapasztalt relatív gyakorisági eloszlásokat összehasonlítva megállapítottam, hogy azok nagyon hasonlóak és átfedik egymást, így hasonló variabilitást várható a talajfuratok, illetve a talajban termesztett termékek szermaradéktartalma esetén. Figyelembe véve a fenti megállapításokat, javaslom a  $CV_S=100\%$  alkalmazását a talajokban mért szermaradékok eloszlásának jellemzésére, valamint a talajmintavétel bizonytalanságának becslésére. Amennyiben a talajfuratokban mért szermaradékok eloszlására több adat áll rendelkezésre, ez az érték a későbbiekben tovább finomítható.

Vizsgálataim megerősítik, hogy a vonatkozó ISO-10381-1 mintavételi szabvány (ISO, 2002) által előírt 25 elemű minta vétele növényvédőszer-maradékok vizsgálatára is megfelelő, mert ez a mintaméret a legtöbb rutin laboratórium számára még jól kezelhető és így a mintavételből származó bizonytalanság is 20% körül tartható.

## 8. Summary

The main source of the pesticide contamination in the environment is the soil. To correctly interpret the residue concentration measured in the soil samples, it is necessary to have reliable information on the combined uncertainty of the results. The dispersion of test results around the mean is affected by several factors, such as the random error of sampling, sample preparation, sample processing and the analysis. In case of plant commodities numerous data are available on the uncertainty of sampling and the distribution of residues, but only a few in case of soils.

As part of my research the efficiency of methods for processing soil samples for the determination of pesticide residues; recovery and reproducibility of extraction of soils, efficiency of extraction of soil incurred residues were determined. Further on, the extraction procedure and gas chromatographic determination of residues from soil were optimised and this method was used to determine the distribution of residues in soil cores of 5 cm diameter down to 15 cm depth taken from two sunflower fields treated with pesticides according to normal agriculture practice.

The uncertainty of taking composite samples of size 10 and 25 was determined with computer modelling drawing random samples with replacement from the primary residue populations derived from soil cores. Based on the results, the applicability of the  $CV_n = \frac{CV_1}{\sqrt{n}}$  equation was tested for strongly skewed primary populations. Finally the relative frequency distributions of residues in soil cores were compared to those observed in case of carrot and potato grown in treated soils to examine if the numerous data and extensive information on the distribution of residues in crop units can be used to complement the limited data available from the results of analyses of soil cores taken from two fields in order to provide the best estimate for the expectable uncertainty of taking composite soil samples.

Testing the level and reproducibility of recovery of residues from spiked test portions revealed that the extraction of  $^{14}\text{C}$ -atrazine with acetone can be performed with nearly 100% recovery and reproducibility  $CV_E$  of 0,54%. The results indicate that not the extraction but the further steps of the determination of residues (clean up, evaporation etc.) are responsible for the typical variability (70%-120%) and reproducibility ( $CV_A$  between 5-20%) of recoveries.

The efficiency of sample processing was tested with five types of soil mixed in 1/25 proportion treated with  $^{14}\text{C}$  labelled atrazine and extracted with acetone. Of the four soil sample processing procedure tested (manual mixing, milling, and homogenization in the presence of dry ice or distilled water), the homogenisation in the presence of added distilled water resulted in the lowest

average relative uncertainty of sample processing ( $CV_{sp}=4-7\%$  in case of 20 g test portion) and found to be applicable for all types of soil.

The efficiency of extraction of soil incurred pesticide residues was determined in case of the most frequently used solvents (acetone, ethyl acetate, and hexane), compatible with thermoionic and electron capture detectors, applying different  $^{14}\text{C}$ -labelled test compounds and soils with different physical-chemical properties. The two-step extraction method, using first acetone and continued with acetone ethyl acetate 1:1 mixture, was the most suitable for general application.

The advantage of using  $^{14}\text{C}$ -labelled compounds is that their residues can be measured directly from the raw extract by a liquid scintillation counter (LSC) with lower than 1% of relative uncertainty.

After validation, the optimized method was used to analyse the pesticide residues in 126-126 soil cores of 5 cm diameter taken from two sunflower fields treated according to the normal agricultural practice in order to study the distribution of residues and estimate the uncertainty of sampling. There was 60-240 times difference among the concentrations of residues measured in the primary soil cores. Based on the residue data obtained from 5 pesticide – soil combination, the distribution of residues within a field can be characterised, on an average, with a  $CV$  of 88% ( $n=1$ ).

The sampling uncertainty was modelled drawing random composite samples of size 10 and 25 with replacement from the primary residue population measured in soil cores. The applicability of  $CV_n = \frac{CV_1}{\sqrt{n}}$  equation was tested for the strongly skewed residue distribution. The results indicate that it can be used to estimate the residue content of the composite samples of different sample sizes from the residues measured in primary samples (soil cores).

The average relative standard deviation of residues detected in carrot and potato samples taken from 14 sites was 99%. This result is in good agreement with the typical  $CV_{RI}$  of 103% estimated for root and tuber vegetable group based on 256 independent supervised trials. The relative frequency distribution of residues measured in the primary soil samples was compared to the relative frequency distribution of residues in vegetables grown in treated soils in order to check, if the estimated sampling uncertainty based on many thousand data in plant matrices is applicable in case of soil samples too. The results show that the variability of residues being present in the soil of sampled fields was within the range of residues in carrot and potato primary samples grown in treated soils at different sites. Consequently, similar variability can be expected in soil cores and root vegetables grown in treated soil. Considering all data, I concluded, that a  $CV_S=100\%$  would be appropriate to characterise the distribution of residues

in soil, and it could be used for the estimation of uncertainty of sampling for various sample sizes. When more data on the distribution of pesticide residues in soil cores will be available, the estimated uncertainty of soil sampling can be further refined.

It can be concluded, that taking 25 (according to the ISO-10381-1 standard) primary sample from one field is suitable to keep the sampling uncertainty around 20% and the corresponding amount of soil can still be processed in any routine laboratories.

## 9. Köszönetnyilvánítás

Legnagyobb köszönettel társ-témavezetőmnek, Prof. Dr. Ambrus Árpádnak tartozom, aki hol kollégaként, hol barátként több mint 15 éve támogatja szakmai fejlődésemet, egyengeti utamat. Az ő ajánlásával jutottam el a Nemzetközi Atomenergiái Hivatal seibersdorfi laboratóriumába, ahol egy év alatt elvégezhettem a kutatás alapját képező vizsgálatokat. A sok közös munka, szakmai és baráti beszélgetések eredményeképpen több publikáció, poszter és előadás született. Végtelenül hálás vagyok neki, hogy rendkívül értékes javaslatokkal járult hozzá doktori értekezésem elkészítéséhez. Nagyon sokat tanulhattam tőle, mindig számíthattam a segítségére.

Köszönöm Dr. habil Lakatos Gyula témavezetőmnek a sok éven át nyújtott segítségét, hogy mindvégig kitartóan támogatta munkámat.

Külön köszönettel tartozom a Nemzetközi Atomenergia Ügynökség seibersdorfi laboratóriuma munkatársainak, név szerint Marianna Schweikert Turcunak, Philip Klausnak és Marivil. D. Venidának a talajok mintavételénél, valamint az egyes talajfuratok feldolgozásánál nyújtott segítségéért, valamint N.M. Rathornak az LSC készülék kezelésében, valamint a mérések kivitelezésében nyújtott támogatásáért.

Ezúton szeretném megköszönni azoknak a gazdáknak a támogatását, akik a termőterületek tulajdonosaként hozzájárultak ahhoz, hogy a vizsgálatokhoz szükséges talajmintákat begyűjtsem.

Köszönöm Szabóné Kele Gabriellának, a NÉBIH Növény- Talaj- és Agrárkörnyezet-védelmi Igazgatóság Velencei Talajvédelmi Laboratórium munkatársának a talaj eredmények értékelésében nyújtott segítségét.

Köszönöm a Syngentának, hogy a mérések kivitelezéséhez szükséges a  $^{14}\text{C}$  atrazint a rendelkezésemre bocsátotta.

Köszönöm Dr. Berente Bálint kollégámnak a dolgozat nagyon alapos áttekintését és javító szándékú észrevételeit. Köszönöm közvetlen kollégáimnak, különösen Horváthné Soós Erikának, illetve a kis peszticides csapatomnak, hogy biztattak, amikor nagyon távolinak tűnt a cél elérése, és hogy barátságukkal, emberségükkel mindig mellettem álltak.

Végül legnagyobb hálámmal családomnak tartozom. Férjemnek, aki akár áldozatvállalásokkal is, de biztosította a nyugodt, támogató háttérrel a munkához és szerelmével mindig túllendített a holtponthoz; gyermekeimnek, akiktől annyi, de annyi ölelést, szeretetet és energiát kaptam, és akiktől oly sok értékes időt „csentem el” a dolgozat írása közben. Drága anyósomnak és apósomnak, akik odaadó szeretetükkel egy második otthon teremtettek unokáik számára és lehetővé tették, hogy én nyugodtan dolgozhassak. Drága szüleimnek, hogy annyi éven át mindenben támogattak!

## 10. Irodalomjegyzék

### 10.1 Az értekezésben hivatkozott publikációk jegyzéke

- AHARONSON, N., 1987. Potential contamination of ground water by pesticides. *Pure Appl. Chem.*, 59(10), 1419-1446.
- AMBRUS, Á., 1979. The influence of sampling methods and other field techniques on the result of residue analysis. In: Frehse, H. & Geissbühler, H. (szerk.) *Pesticide Residues*. Oxford, Pergamon Press, 6-18.
- AMBRUS, Á., LANTOS, J., VISI, É., CSATLÓS, I., SÁRVÁRI, L., 1981. General method for the determination of pesticide residues in samples of plant origin, soil and water. I. Extraction and cleanup. *J. of AOAC*, 64(3), 733-742.
- AMBRUS, Á., SOLYMOSNÉ, M.E., KORSÓS, I., 1996a. Estimation of uncertainty of sampling for analysis of pesticides residues. *J. Environ. Sci. and Health B.*, 31, 435-442.
- AMBRUS, A., SOLYMOSNÉ, M.E., KORSÓS, I., 1996b. Estimation of uncertainty of sample preparation for the analysis of pesticide residues. *J. Environ. Sci. and Health B.*, 31, 443-450.
- AMBRUS, Á., 2000. Measurement of uncertainty in pesticide residue analysis: implications in legal limits. *J. Food Sci.*, 12(3), 259-278.
- AMBRUS, Á., SOBOLEVA, E., 2004. Contribution of sampling to the variability of pesticide residue data. *J. of AOAC International*, 87, 1368-1379.
- AMBRUS, Á., 2006. Variability of pesticide residues in crop units. *Pest. Manag. Sci.*, 62, 693-714.
- AMBRUS, Á., 2008. Quality assurance. In: Tadeo, J.L., (szerk.) *Analysis of pesticides in Food and Environmental samples*. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis group.
- AMBRUS, Á., 2009. Estimation of sampling uncertainty for determination of pesticide residues in plant commodities. *J. Environ. Sci. and Health B.*, 44, 1-13.
- AMBRUS Á., 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. 3<sup>rd</sup> ed. *FAO Plant Production and Protection Paper*, 225.  
<http://www.fao.org/agriculture/crops/core-themes/theme/pests/jmpr/jmpr-docs/en/>
- AMBRUS, Á., BUCZKÓ, J., HAMOW, K.Á., JUHÁSZ, V., SOLYMOSNÉ, M.E., SZEMÁNNÉ, D.H., SZITÁS, R., 2016. Contribution of sample processing to variability and accuracy of the results of pesticide residue



- analysis in plant commodities. *J. Agric. Food Chem.*, 64(31), 6071-6081.
- AMBRUS, Á., BUCZKÓ, J., HAMOW, K.Á., JUHÁSZ, V., SOLYOSNÉ, M.E., SZEMÁNNÉ, D.H., SZITÁS, R., 2017. Az analitikai standard adatok pontossága és a névleges koncentrációjuk bizonytalansága. *Journal of Food Investigation*, 64(1), 1398-1421.
- ANASTASSIADES, M., TASDELEN, B., SCHERBAUM, E., STAJNBAHER, D., 2007. Recent developments in QuEChERS methodology for pesticide multiresidue analysis. In: Ohkawa, H., Miyagawa, H., Lee, P., (szerk.) *Pesticide chemistry: Crop protection, public health, environmental safety*. Weinheim: Wiley-VCH.
- BABIC', S., PETROVIC', M., KAŠTELAN-MACAN, M., 1998. Ultrasonic solvent extraction of pesticides from soil. *J. Chromatogr. A*, 823, 3-9.
- BAVCON, A., TREBŠE, P., ZUPANČIČ-KRALJ, L., 2003. Investigations of the determination and transformations of diazinon and malathion under environmental conditions using gas chromatography coupled with a flame ionisation detector. *Chemosphere*, 5, 595-601.
- BETTENCOURT DA SILVA, R., LINO, M., SANTOS, J., 2002. Evaluation of the sampling procedure adopted by the EU pesticide monitoring program to assess consumer exposure to high acute toxicity pesticides - methamidophos in sweet pepper. *Accred. Qual. Assur.*, 7, 195-201.
- CALDAS, E., JARDIM, A., AMBRUS, Á., SOUZA, L., 2006. Variability of organophosphorus insecticide residues in large size crops grown in commercial farms in Brazil. *Food Additives and Contaminants*, 23(2), 148-158.
- CAYLEY, G., LORD, A.K., 1980. The extraction and assay of thiabendazole in strong adsorbing soil. *Pestic. Sci.*, 11, 9-14.
- CODEX SECRETARIAT, 1999. Codex Alimentarius Commission, Recommended methods of sampling for the determination of pesticide residues for compliance with MRLs. CAC/GL-33. [Online] [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCAC%2BGL%2B33-1999%252FCXG\\_033e.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCAC%2BGL%2B33-1999%252FCXG_033e.pdf)  
[Hozzáférés dátuma: 2016.09.15.]
- CODEX SECRETARIAT. 2000. Codex Alimentarius Commission, Guidelines on Good Laboratory Practice in Pesticide Residue Analysis. CAC/GL-40-1993, módosítva 2000. [Online] <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCAC%2BGL%2B40->

- 1993%252Fcxg\_040e.pdf  
[Hozzáférés dátuma: 2016.09.13.]
- CODEX SECRETARIAT, 2004., Codex Alimentarius Commission, General guidelines on sampling CAC/GL-50. [Online]  
[http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCAC%2BGL%2B50-2004%252FCXG\\_050e.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCAC%2BGL%2B50-2004%252FCXG_050e.pdf)  
[Hozzáférés dátuma: 2016.09.16.]
- CODEX SECRETARIAT, 2006. Codex Alimentarius Commission, Guidelines on Estimation of Uncertainty of Results. CAC/GL-59. [Online]  
[www.codexalimentarius.net/download/standards/10692/cxg\\_059e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10692/cxg_059e.pdf)  
[Hozzáférés dátuma: 2016.09.15.]
- CODEX SECRETARIAT, 2016. Proposed draft guidelines on performance criteria for methods of analysis for the determination of pesticides residues. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Codex Committee on Pesticide Residues. China.
- CERVELLI, S., MANNIPIERI, P. & SEQUI, P., 1978. Interaction between agrochemicals and soil enzymes. In: R. Burns, szerk. Soil Enzymes. London: Academic Press., 380.
- CONCHA-GRANA, E., TURNES-CAROU, M.I., MUNIATEGUI-LORENZO, S., LÓPEZ-MAHÍA, P., FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E., PRADA-RODRÍGUEZ, D., 2004. Development of pressurized liquid extraction and cleanup procedures for determination of organochlorine residues in soils. *J. Chromatogr. A*, 1047, 147-155.
- CROSS, J., WALKLATE, P., MURRAY, R., 2001. Spray deposits and losses in different sized apple trees from an axial fan orchard sprayer: 1. Effects of spray liquid flow rate. *Crop Protect.*, 20, 13-30.
- DABROWSKA, H., DABROWSKI, L., BIZIUK, M., GACA, J., NAMIES'NIK, J., 2003. Solid-phase extraction clean-up of soil and sediment extracts for the determination of various types of pollutants in a single run. *J. Chromatogr. A*, 1003(1-2), 29-42.
- DUAH-YENTUMI, S., JOHNSON, D., 1986. Changes in soil microflora in response to repeated applications of some pesticides. *Soil Biol. Biochem.*, 18(6), 629-635.
- DUBUS, I., BROWN, C., BEULKE, S., 2003. Sources of uncertainty in pesticide fate modelling. *Sci. Total Environ.*, 317, 53-72.
- EK, 2013. COMMISSION REGULATION (EU) No. 283/2013 of 1 March 2013 setting out the data requirements for active substances, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European

- Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection product.  
<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32013R0283>  
[Hozzáférés dátuma: 2016.10.25.]
- EPA, 2007. Method 1699. Pesticides in water, soil, sediment, bio-solids and tissue by HRGC/HRMS.
- EURACHEM/CITAC, 2012. Guideline, Quantifying uncertainty in analytical measurement. [Online]  
[http://www.eurachem.org/images/stories/guides/pdf/QUAM2012\\_P1.pdf](http://www.eurachem.org/images/stories/guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf)  
[Hozzáférés dátuma: 2016.08.15.]
- EURACHEM/CITAC, 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd Edition. [Online]  
[https://www.google.hu/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwjL3eG05ejPAhXMDiwKHTkEDj4QFggjMAA&url=https%3A%2F%2Fwww.eurachem.org%2Fimages%2Fstories%2FGuides%2Fpdf%2FMV\\_guide\\_2nd\\_ed\\_EN.pdf&usg=AFQjCNElaVk7Ya7temA8OBjM87EEBvenIQ&cad=rja](https://www.google.hu/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwjL3eG05ejPAhXMDiwKHTkEDj4QFggjMAA&url=https%3A%2F%2Fwww.eurachem.org%2Fimages%2Fstories%2FGuides%2Fpdf%2FMV_guide_2nd_ed_EN.pdf&usg=AFQjCNElaVk7Ya7temA8OBjM87EEBvenIQ&cad=rja)  
[Hozzáférés dátuma: 2016.10.20.]
- EUROPEAN COMMISSION, 2003. Quality control procedures for pesticide residue analysis. Directorate-General for health and food safety, SANCO/10476/2003
- EUROPEAN COMMISSION, 2015. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Directorate-General for health and food safety, SANTE/11945/2015.
- FAO, 2001. Pesticide residues in food - Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Report-2001. Plant Production and Protection Paper, 167(24).
- FAO, 2002. Pesticide residues in food - Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Report 2002. Plant Production and Protection Paper, 172(38).
- FAO, 2014. Pesticide residues in food - Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Report-2014. Plant Production and Protection Paper, 221.
- FAO, 2016. FAOSTAT Pesticides (Use). [Online]  
<http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>  
[Hozzáférés dátuma: 2016.12.03.]
- FAO, 1991-2016. FAO AGP - JMPR Reports and evaluations. [Online]  
<http://www.fao.org/agriculture/crops/core->

themes/theme/pests/jmpr/jmpr-rep/en/

[Hozzáférés dátuma: 2016.11.10.]

FAO/WHO, 1974. 1973 Evaluations of some pesticide residues in food.[Online]

<http://www.who.int/foodsafety/publications/jmpr-monographs/en/>

[Hozzáférés dátuma: 2016.02.11.]

FARKAS, ZS., HORVÁTH, ZS., KERÉKES, K., AMBRUS, Á., HÁMOS, A., SZEITZNÉ SZABÓ, M., 2014. Estimation of sampling uncertainty for pesticide residues in root vegetable crops. *J. Environ. Sci. and Health B.*, 49, 1-14.

FARKAS, Z., HORVÁTH, Z., SZABÓ, I., AMBRUS, Á., 2015. Estimation of sampling uncertainty of pesticide residues based on supervised residue trial data. *J. Agric. Food Chem.*, 63, 4409-4417.

FARKAS, Z., COOK, J., AMBRUS, Á., 2017. Estimation of uncertainty of measured residues and testing compliance with MRLs. In: Ambrus Á., Hamilton, D., (szerk.) *Food safety assessment of pesticide residues*. London, UK: Imperial College Press, p. 405-466.

FENNER, K., CANONICA, S., WACKETT, L., ELSNER, M., 2013. Evaluating pesticide degradation in the environment: blind spots and emerging opportunities. *Science*, 341, 752-758.

FERENCZI, J., AMBRUS, A., WAUCHOPE, R., SUMMER, H., 2002. Persistence and runoff losses of three herbicides and chlorpyrifos from a corn field in the Lake Balaton watershed of Hungary. *J. Environ. Sci. and Health B.*, 37, 211-224.

FERNANDEZ, V., DOMINIKES, V., MATEUS, N., DELERUE-MATOS, C., 2013. Multiresidue pesticides analysis in soils using modified QuEChERS with disposable pipette extraction and dispersive solid-phase extraction. *J. Sep. Sci.*, 36, 376-392.

FRANK, R., NORTHOVER, J., BRAUN, H., 1985. Persistence of captan on apples, grapes, and pears in Ontario, Canada. *J. Agric. Food Chem.*, 33(3), 514-518.

FRANK, R., BRAUN, H., RITCEY, G., 1987. Disappearance of captan from field-grown and greenhouse-grown tomato fruit in relationship to time of harvest and amount of rainfall. *Canadian J. Plant Sci.*, 67(1), 355-357.

FUSSEL, R. J. A., REYNOLDS, S., WILSON, M., 2002. Assessment of the stability of pesticides during cryogenic sample processing 1. Apples. *J. Agric. Food Chem.*, 50(3), 441-448.

FUSSEL, R., HETMANSKI, M.T., MACARTHUR, R., FINDLAY, D., SMITH, F., AMBRUS, Á., BRODESSER, P.J., 2007. Measurement uncertainty associated with sample processing of oranges and tomatoes for pesticide residue analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 55(4), 1062–1070.

- GEVAO, B., SEMPLE, K., JONES, K., 2000. Bound pesticide residues in soil: a review. *Environmental Pollution*, 108, 3-14.
- GONÇALVES, C., ALPENDURADA, M., 2005. Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta*, 65, 1179-1189.
- GONÇALVES, C., CARVALHO, J., AZENHA, M., ALPENDURADA, M., 2006. Optimization of supercritical fluid extraction of pesticide residues in soil by means of central composite design and analysis by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1110, 6-14.
- GOODING, R., SAHA, M., HOROWITZ, M., GORDON, B., FINCH, A., DOWNS, C., JONES, J., 2014. High sample throughput - size does matter or does it – case studies: How to verify that your homogenization technique is adequate for your demands. 28<sup>th</sup> ACS National Meeting and 13<sup>th</sup> IUPAC Congress on Pesticide Chemistry, San Francisco, CA, Aug 10-14.
- GRØN, C., 2007. Uncertainty from sampling - A NORDTEST handbook for sampling planners on sampling quality assurance and uncertainty estimation (NT TR 604), Oslo.
- GY, P., 1998. *Sampling for Analytical Purposes*. Chichester, UK, John Wiley & Sons.
- HARRIS, C., DAVIS, T., 1998. Unit to unit variability of pesticide residues in celery, plums and kiwi fruit, York, UK, Pesticide Safety Directorate (now Chemical Regulation Directorate).
- HILL, A., REYNOLDS, S., 1999. Guidelines for in-house validation of analytical methods for pesticide residues in food and animal feeds. *Analyst*, 124, 953-958.
- HILL, A., HARRIS, C., WARBURTON, A., 2000. Effects of sample processing on pesticides residues in fruit and vegetables. In: Fajgelj A., Ambrus, A. (szerk.) *Principles of Method Validation*. Cambridge, UK, Royal Society of Chemistry, 41-48.
- HILL, A., REYNOLDS, S., 2002. Unit to unit variability of pesticide residues in fruits and vegetables. *Food Additives and Contaminants*, 19(8), 733-747.
- HOGENDOORN, E.A., WESTHUIS, K., DIJKMAN, E., HEUSINKVELD, H.A.G., CHAMRASKUL, P., 2000. Determination of carbendazim in water, soil and sediment samples by RPLC with and without column switching and various spectrometric detection modes. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 78(1), 67-85.
- HOGENDOORN, E., HULS, R., DIJKMAN, E., HOOGERBRUGGE, R., 2001. Microwave assisted solvent extraction and coupled-column

- reversed-phase liquid chromatography with UV detection. Use of an analytical restricted-access-medium column for the efficient multi-residue analysis of acidic pesticides in soils. *J. Chromatogr. A*, 938, 23-33.
- HORVÁTH, Z., AMBRUS, Á., MÉSZÁROS, L., BRAUN, S., 2013. Characterization of distribution of pesticide residues in crop units. *J. Environ. Sci. and Health B., Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 48, 615-625.
- HUGGENBERGER, F., LETEY JR., J., FARMER, W., 1973. Adsorption and mobility of pesticides in soil. *California Agriculture*, 27(2), 8-10.
- HUSSEN, A., WESTBOM, R., MEGERSA, N., MATHIASSEN, L., BJÖRKLUND, E. 2007. Selective pressurized liquid extraction for multi-residue analysis of organochlorine pesticides in soil. *J. Chromatogr. A*, 1152, 247-253.
- INGAMELLS, C., SWITZER, P., 1973. A proposed sampling constant for use in geochemical analysis. *Talanta*, 20, 547-568.
- ISO, 2002. ISO-10381-1: Soil quality - Sampling - Part 1: Guidance on the design of sampling programmes.
- ISO, 2003a. ISO-10381-4: Soil quality - Sampling -Part 4: Guidance on the procedure for investigation of natural, near-natural and cultivated sites.
- ISO, 2003b. ISO-11648-1: Statistical aspects of sampling from bulk materials - Part 1: General principles.
- ISO, 2006. ISO-11464: Soil quality – Pre-treatment of samples for physico-chemical analysis.
- ISO, 2003. ISO-14507: Soil quality – Pre-treatment of samples for determination of organic contaminants.
- ISO, 2012. ISO-16179: Sludge, treated bio-waste and soil - Guidance for sample pre-treatment.
- IZOTÓPINTÉZET, 2016. [www.izotop.hu](http://www.izotop.hu). [Online] <http://www.izotop.hu/?p=450>  
[Hozzáférés dátuma: 2016.10.01.]
- JABLONOWSKI, N.D., LINDEN, A., KÖPPCHEN, S., THIELE, B., HOFMANN, D., MITTELSTAEDT, W., PÜTZ, T., BURAUER, P., 2012. Long-term persistence of various <sup>14</sup>C-labeled pesticides in soils. *Environmental Pollution*, 168, 29-36.
- JARZICK, H., AMITROLE, M., 1992. *Manual of pesticide residue analysis*. California: Wiley, VCH.
- KADENCZKI, L., KERESZTÉNY, N. & SZEMÁNNÉ DOBRIK, H., 2012. Növényvédőszer-maradék analitikai multi-residue módszer kidolgozása talajmintákra a QUECHERS módszer átalakításával, GC/MS, LC/MS, GC/ECD és GC/FPD detektálással. I. rész: Foszforsav-észterek. *Műszaki Földtudományi Közlemények*, 83(1.), 101-110.

- KHAN, S., 1982. Bond residues in soil and plants. In: Gunther, F.A, Gunther, J.D., (szerk.) Residue reviews. 84, 1-25.
- KIHAMPA, C., RAM MATO, R., MOHAMED, H., 2010. Residues of Organochlorinated Pesticides in Soil from Tomato Fields, Ngarenanyuki, Tanzania. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.*, 14(3.), 37-40.
- KODAKA, R., SUGANO, T., KATAGI, T., TAKIMOTO, Y., 2003. Clay-catalyzed nitration of a carbamate fungicide diethofencarb. *J. Agric. Food Chem.*, 51(26), 7730-7737.
- KOVAČIĆ, N., PROSEN, H., ZUPANČIČ-KRALJ, L., 2004. Determination of triazines and atrazine metabolites in soil by microwave-assisted solvent extraction and high pressure liquid chromatography with photodiode-array detection. *Acta Chim. Slov.*, 51, 395-407.
- KRAMMER, B., RYAN, P., MACINTOSH, D., 1999. Initial investigation of analytical extraction techniques for the determination of bioavailability of pesticides in soil. [Online]  
<https://www.engg.ksu.edu/HSRC/99Proceed/>  
 [Hozzáfértés dátuma: 2016.07.04.]
- KRATOCHVIL, B., 1985. Sampling for chemical analysis of the environment: statistical considerations. Trace Residue Analysis, ACS Symposium Series.
- KREUZIG, R., KOINECKE, A., BAHADIR, M., 2000. Use of supercritical fluid extraction in the analysis of pesticides in soil. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 43, 403-409.
- LAMBROPOULOU, D., KONSTANTINOU, I., ALBANIS, T., 2002. Factors affecting multiresidue determination of priority herbicides when using solid-phase microextraction. *J. of AOAC*, 85(2), 486-493.
- LAMBROPOULOU, D., ALBANIS, T., 2004. Determination of the fungicides vinclozolin and dicloran in soils using ultrasonic extraction coupled with solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 514, 125-130.
- LEHOTAY, S., COOK, J., 2015. Sampling and sample processing in pesticide residue analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 63(18), 4395-4404.
- LEONARD, R., 1990. Movement of pesticides into surface water. In: Cheng H.H. (szerk.) Pesticides in the soil environment: processes, impacts and modelling. 1<sup>st</sup> ed, Madison, Wisconsin, USA, Soil Science Society of America, p. 303-349.
- LESUEUR, C., GARTNER, M., MENTLER, A., FUERHACKER, M., 2008. Comparison of four extraction methods for the analysis of 24 pesticides in soil samples with gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-ion trap-mass spectrometry. *Talanta*, 75, 284-293.

- LOURENCETTI, C., DE MARCHI, M., RIBEIRO, M., 2008. Determination of sugar cane herbicides in soil and soil treated with sugar cane vinasse by solid-phase extraction and HPLC-UV. *Talanta*, 77(2), 701-709.
- LYN, J., RAMSEY, M., FUSSEL, R., WOOD, J., 2003. Measurement uncertainty from physical sample preparation: Estimation including systematic error. *Analyst*, 128, 1391-1398.
- LYN, J.A., RAMSEY M.H., COAD, D.S., DAMANT, A.P., WOOD, R., BOON, K.A., 2007. The duplicate method of uncertainty estimation: are eight targets enough? *Analyst*, 132, 1147–1152.
- LYN, J., RAMSEY, M., DAMANT, A., WOOD, R., 2007. Empirical versus modelling approaches to the estimation of measurement uncertainty caused by primary sampling. *Analyst*, 132(12), 1231-7.
- LYN, K., BUCHHOLZ, L., RITER, L., 2014. Inter-laboratory assessment of cryomilling sample preparation for residue analysis. 28<sup>th</sup> ACS National Meeting and 13<sup>th</sup> IUPAC Congress on Pesticide Chemistry, San Francisco, CA, Aug 10-14.
- MAESTRONI, B., GHODS, A., EL-BIDAOUI, M., RATHOR, N., TON, T., AMBRUS, A., 2000. Testing the efficiency and uncertainty of sample processing using <sup>14</sup>C labelled chlorpyrifos. Part II. In: Ambrus, A., Fajgelj, A., (szerk.) *Principles of Method Validation*. Cambridge (UK): Royal Society of Chemistry, 59-74.
- MATSUMURA, F., 1982. Degradation of pesticides in the environment by microorganisms and sunlight. In: Matsumura F., Krishna Murti, C.R., (szerk.) *Biodegradation of pesticides*. London: Plenum Press, 67-84.
- MILLER, N., MILLER, J., 2010. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* 6<sup>th</sup> ed. UK: Pearson Education Ltd. Harlow.
- MOLINS, C., HOGENDOORN, E.A., DIJKMAN, E., HEUSINKVELD, H.A.G., BAUMANN, R.A., 2000. Determination of linuron and related compounds in soil by microwave-assisted solvent extraction and reversed-phase liquid chromatography with UV detection. *J. Chromatogr. A*, 869, 487-496.
- MOLNÁR, Z., 2007. *Mérés folyadékszintillációs technikával*. Budapest: Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Nukleáris Technikai Intézet.
- MOORMAN, T., 2013. A review of pesticide effects on microorganisms and microbial processes related to soil fertility. *Journal of Production Agriculture*, 2, 14-23.
- MSZH., 2005. MSZ-EN ISO/IEC 17025 Vizsgáló- és kalibrálólaboratóriumok felkészültségének általános követelményei.
- MSZH., 2006. MSZ 21470-108: Környezetvédelmi talajvizsgálatok. 108. rész: Apoláris oldószerrel extrahálható, halogéntartalmú szerves vegyületek (EOX) meghatározása



- OECD, 2007. Guidance document on pesticide residue analytical methods, OECD Environment, Health and safety Publications, Series on Testing and Assessment, No. 72, Series on Pesticides No. 39, ENV/JM/MONO(2007)17.
- OECD, 2016. OECD Environment, Health and safety Publications " Draft Guidance document on Crop Field Trials". Series on Pesticides No. 66 and Series on Testing and Assessment No. 164. [Online]  
[https://www.oecd.org/env/ehs/testing/GD%20CFT\\_31%20March%2016.pdf](https://www.oecd.org/env/ehs/testing/GD%20CFT_31%20March%2016.pdf) 18  
 [Hozzáférés dátuma: 2017.03.14.]
- PARK, J-H., MAMUN, I.R., CHOI, J-C., EL-ATY, A.M.A., ASSAYED, M.E., 2010. Development of a multiresidue method for the determination of multiclass pesticides in soil using GC. Biomed. Chromatogr., 24, 893-901.
- PICÓ, Y., FERNÁNDEZ, M., RUIZ, M., FONT, G., 2007. Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment. J. Biochem. Biophys. Methods, 70, 117-131.
- PROKISCH, J., HOVÁNSZKI, D., SZÉLES, É., KOVÁCS, B., GYŐRI, Z., 2007. Inhomogeneity of agricultural soils in Hungary. VI. Alps-Adria Scientific Workshop, Obervellach, Austria, 957-960.
- PROKISCH, J., SZÉLES, É., KOVÁCS, B., GYŐRI, Z., NÉMETH, T., WEST, L., HARPER, S., ADRIANO, D., 2009. Sampling strategies for testing and evaluation of soil contamination in riparian systems at the Tisza river basin in Hungary. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 40(1-6), 391-406.
- RAJAGOPAL, B., BRATHMAPRAKASH, G., REDDY, B., SINGH, U., SETHUNATHAN, N., 1984. Effect and persistence of selected carbamate insecticides in soil. In: Gunther, F., Gunther, J., (szerk.) Residue reviews. p. 2-198.
- RAMSEY, H., ELLISON, R., 2007. Measurement uncertainty arising from sampling. A guide to methods and approaches. In: EURACHEM/CITAC Guide. Produced jointly by Eurachem, EUROLAB, CITAC, Nordtest and the RSC Analytical Methods Committee.
- RAWN, D.F.K., QUADE, S.C., SCHIELDS, J.B., CONCA, G., SUN, W., LACROIX, G.M.A., SMITH, M., FOUQUET, A., BÉLANGER, A., 2007. Variability in captan residues in apples from a Canadian orchard. Food Addit. Contam. Part A., 24, 149-155.
- REDONDO, M., RUIZ, M., BOLUDA, R., FONT, G., 1993. Determination of pesticides in soil samples by solid phase extraction disk. Chromatographia, 36, 187-189.

- RITER, L., LYNN, K., WUJCIK, C., BUCHHOLZ, L., 2015. Interlaboratory Assessment of Cryomilling Sample Preparation for Residue Analysis. *J. Agric. Food Chem*, 63(18), 4405–4408.
- RITTER, W., JOHNSON, H., LOVELY, W., MALNAU, M., 1974. Atrazine, Propachlor and Diazinon residues on small agricultural watersheds runoff losses, persistence and movement. *Environ. Sci. Technol.*, 8, 39-42.
- ROBERTS, T., 1984. Non-extractable pesticide residues in soil and plants. *Pure and Appl. Chem.*, 56, 945-956.
- SALAH, I., WOOD, M., PUSSEMIER, L., VANDERHEYDEN, V., DOUKA, C., VIZANTINOPOULOS, S., GYŐRI, Z., BORBÉLY, M., KÁTAI, J., 1997. Potential dissipation of atrazine in the soil unsaturated zone: a comparative study in four European countries. *Pest. Manag. Sci.* 50, 99-103.
- SÁNCHEZ-BRUNETE, C., RODRIGUEZ, A., TADEO, J., 2003. Multiresidue analysis of carbamate pesticides in soil by sonication assisted extraction in small columns and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1007, 85-91.
- SÁNCHEZ-BRUNETE, C., ALBERO, B., TADEO, J., 2004. Multiresidue determination of pesticides in soil by gas chromatography-mass spectrometry detection. *J. Agric. Food Chem.*, 52(6), 1445-1451.
- SCHNEIDER, R., 1995. Evaluation of an extraction method for triazine herbicides from soils for screening purposes. *Agrobiol. Res.*, 48(3-4), 193-206.
- SHEN, G., LEE, H., 2003. Determination of triazines in soil by microwave-assisted extraction followed by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 985, 167-174.
- SMITH, F., MacHARDY, W., 1984. The retention and redistribution of captan on apple foliage. *Phytopatology*, 74, 884-899.
- SOBOLEVA, E., AMBRUS, Á., 2004. Application of a system suitability test for quality assurance and performance optimization of a gas chromatographic system for pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*, 1027, 55-65.
- SOKAL, R., ROHLF, F., 1995. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research.* New York: W.H. Freeman and Company.
- SONG, Y., LU, X., REN, F., 2011. Variability of pesticide residues in vegetables for the marketplaces in Jinan City. *Agricultural Sciences in China*, 10(10), 1646-1652.
- SUN, L., LEE, H., 2003. Optimization of microwave-assisted extraction and supercritical fluid extraction of carbamate pesticides in soil by experimental design methodology. *J. Chromatogr. A*, 1014, 165-177.

- TAO, S., GUO, L., WANG, X., LIU, W., 2004. Use of sequential ASE extraction to evaluate the bioavailability of DDT and its metabolites to wheat roots in soils with various organic carbon contents. *The Science of the Total Environment*, 320, 1-9.
- TAYLOR, A., FREEMAN, H., EDWARDS, W., 1971. Sample variability and the measurement of dieldrin content of a soil in the field. *J. Agric. Food Chem.*, 19(5), 832-836.
- TAYLOR, A., CARO, J., FREEMAN, H., TURNER, B., 1985. Sampling and variance in measurement of trifluralin disappearance from soil. *Proc. Am. Chem. Soc.*, 284, 25-35.
- THOMPSON, M., ELLISON, S.L.R., ROGER, W., 2002. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical report). *Pure Appl. Chem.*, 74(5), 835-885.
- TIRYAKI, O., BAYSOYU, D., 2006. Estimation of sample processing uncertainty for chlorpyrifos residue in cucumber. *Accred. Qual. Assur.*, 10, 550-553.
- TOR, A., AYDIN, M., ÖZCAN, S., 2006. Ultrasonic solvent extraction of organochlorine pesticides from soil. *Analytica Chimica Acta*, 559, 173-180.
- TRAVIS, J., 1987a. Effects on canopy density on pesticide deposition in apple trees. *Plant Disease*, 71, 613-615.
- TRAVIS, J., 1987b. Effects of travel speed, application volume, and nozzle arrangement on deposition and distribution of pesticides in apple trees. *Plant Disease*, 71, 606-612.
- TURNER, J., 2015. *The Pesticide Manual*, 17<sup>th</sup> Edition. British Crop Protection Council, Hampshire, UK.
- UNSWORTH, J.B., WAUCHOPE, R.D., KLEIN, A.W., DORN, E., ZEEH, B., YEH, S.M., AKERBLUM, M., RACKE, K.D., RUBIN, B., 1999. Significance of the long range transport of pesticide in the atmosphere. *Pure and Appl. Chem.*, 71(7), 1359-1383.
- YOUNG, J. W., 1967. *Statistical Manual of the AOAC*. *J. of Assoc. Off. Anal. Chem.*, 50, 1007-1013.
- VARGA, I., 2010. Az analitikai módszerek kiválasztása mikotoxinok kiválasztására. In: AMBRUS, Á., (szerk.) *Élelmiszerbiztonság megítélési módszerei*. Edison House Holding Zrt., 813-818.
- WALLACE, D., KRATOCHVIL, B., 1987. Visman equation in the design of sampling plans for chemical analysis of segregated bulk materials. *Anal. Chem.*, 59, 226-232.
- WAUCHOPE, R., 1978. The pesticide content of surface water draining from agricultural fields - A review. *J. Environ. Qual.*, 38, 459-472.
- WEBER, J., 1973. Herbicides in soil. *Weed Science* 21., 556-560.

- WILLIAMS, S., 1990. In: Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington (VA): AOAC, 278.
- XU, X., WU, P., THORBEEK, P. & HYDER, K., 2006. Variability of initial spray deposit in apple trees in space and time. *Pest. Manag. Sci.*, 62, 947-956.
- YANG, X., YING, G.-G., KOOKANA, R., 2010. Rapid multiresidue determination for currently used pesticides in agricultural drainage waters and soils using gas chromatography–mass spectrometry. *J. Environ. Sci. and Health B.*, 45, 152-161.
- YOLCI, P. O., AMBRUS, Á., BOYACIOGLOU, D., SOLYMOSNÉ, E. M., 2013. Uncertainty of the sample size reduction step in pesticide residue analysis of large-sized crops. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 30(1), 116-126.

## 10.2 A jelölt tudományos tevékenységének jegyzéke

### 10.2.1 Az értekezés témakörében megjelent vagy közlésre elfogadott impaktos publikációk jegyzéke

1. SUSZTER, G., AMBRUS, Á., SCHWEIKERT TURCU, M., KLAUS, P. M., 2006. Estimation of efficiency of processing soil samples for pesticide residues analysis. *J. Environ. Sci. Health B.*, 41., 531-552.  
DOI: 10.1080/03601230600701668  
(Impakt faktor:0,604)
2. SUSZTER, G., AMBRUS, Á., 2017. Testing the efficiency of extraction of incurred residues from soil with optimized multi-residue method. *J. Environ. Sci. Health B.*, 52(8). Online May 10 2017.  
DOI: 10.1080/03601234.2017.1316162  
(Impakt faktor:1,247)
3. SUSZTER, G., AMBRUS Á., 2017. Distribution of pesticide residues in soil and uncertainty of sampling. *J. Environ. Sci. Health B.*, 52(8), Online May 10 2017.  
DOI: 10.1080/03601234.2017.1316171  
(Impakt faktor:1,247)

### 10.2.2 Az értekezés témakörében megjelent egyéb közlemények jegyzéke

1. KÖTELESNÉ SUSZTER G., A minta-előkészítés véletlen hibájának meghatározása. In Ambrus Á. (szerk.) *Élelmiszer-biztonság megítélési módszerei. II.* 703-716. Edison House Kiadó, 2010. ISBN: 978-963-88947-1-7
2. AMBRUS Á., FARKAS ZS., HORVÁTH ZS., KÖTELESNÉ SUSZTER G., 2014. Az élelmiszerek növényvédőszer-maradék tartalma ellenőrzésének elvi alapjai és gyakorlati megvalósítása (Principles and practices of control of pesticide residues in food). *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 60(2), 114-142.

### 10.2.3 Egyéb közlemények jegyzéke

1. AMBRUS, Á.; NOONAN, G.; NÉMETH, A.; KÖTELESNÉ SUSZTER, G.; ANASTASSIADES, M.; HAMOW, K.Á.; SOLYMOSNÉ, E.M., 2017. Testing the accuracy of analytical standard solutions used for quantitative determination of pesticide residues. J. AOAC Int. 100(4) 1-4. Online March 3 2017.

DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0018>

(Impakt faktor: 0,918)

2. AMBRUS Á., KAMIRÁN Á. H., KÖTELESNÉ SUSZTER G., NÉMETH A., SOLYMOSNÉ MAJZIK E., 2017. Az analitikai standard oldatok pontossága és a névleges koncentrációjuk bizonytalansága. Élelmiszervizsgálati Közlemények, 63(1), 1398-1421.

3. CULLERES, D., BLACK, R., BOESTEN, J., BOOBIS, A., HARDY, A., HART, A., KOEPP, H., LUTTIK, R., MACHERA, K., MARONI, M., MCGREGOR, D., MEYER, O., MORETTO, A., PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E., PETZINGER, E., SAVOLAINEN, K., SCHAEFFER, A., STENSTRÖM, J., STEURBAUT, W., TSIPI-STEFANITSI, D., VLEMINCKX, C., AMBRUS, A., CRAIG, P., SUSZTER, G., WALTERS, E., 2005. Opinion of the scientific panel on plant health, plant protection products and their residues on a request from Commission related to the appropriate variability factor(s) to be used for acute dietary exposure assessment of pesticide residues in fruit and vegetables. The EFSA Journal, 177, 1-61.

DOI:10.2903/j.efsa.2005.177

4. DINYA Z., SUSZTER G., KISS A., PAPP G., BAK I., 2002. Környezetszennyező szerves vegyületek analitikája (egyetemi jegyzet), Kossuth Egyetemi Kiadó, 2002

5. FARKAS, ZS., SLATE, A., WHITAKER, T.B., KÖTELESNÉ SUSZTER, G., AMBRUS, Á., 2015. Use of combined uncertainty of pesticide residue results for testing compliance with MRLs. J. Agric. Food Chem., 63(18), 4418-4428.

DOI: 10.1021/jf505512h

(Impakt faktor:2,857)

6. JUVANCZ Z., GARAI E., SZABÓ L., BODA-KENDROVICS R., KÖTELES-SUSZTER G., 2015. Determination of recent concentration of DDT and its metabolites in breast milk in the

teaching of behaviors of persistence organic compounds. Acta Polytechnica Hungarica, 12 (8), 231-244.

7. SUSZTER G., KADENCZKI L., DARAGÓNÉ SZŰCS E., 2001. Tritoszulfuron gázkromatográfiás - tömegspektrometriás meghatározása. In 6. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, Előadások – Proceedings, Szerk. Kövics Gy. J., 368-374, Debrecen.
8. SZIGETI T.J., SUSZTER G., LÁSZLÓ J., 2014. A glifozát maradékainak jelenléte környezetünkben, és analitikai meghatározásának lehetőségei (The presence of glyphosate residues in our environment and possibilities for their analytical determination). Élelmiszervizsgálati Közlemények, 60(3), 234-255
9. SZIGETI T.J., SUSZTER G., LÁSZLÓ J., PALOTAI Z.: A glyphosate maradékainak megjelenése a környezetben – a gyomirtó szer maradékainak analitikai vizsgálata. In III. Ökotoxikológiai Konferencia előadás és poszter kötete, Szerk. Darvas B., Budapest, 2013

ISBN:978-963-89452-2-8

## 11.A dolgozatban használt rövidítések jegyzéke

Bq	becquerel
CV <sub>A</sub>	az analízis bizonytalansága
CV <sub>distr</sub>	a szermaradékok területen belüli variabilitásának relatív szórása
CV <sub>E</sub>	az extrakció reprodukálhatóságát kifejező relatív szórás
CV <sub>L</sub>	az analitikai módszer laboron belüli reprodukálhatóságát kifejező relatív szórás
CV <sub>R</sub>	a mérési eredmény relatív véletlen hibája
CV <sub>S</sub>	a mintavétel relatív bizonytalansága
CV <sub>SP</sub>	a minta-homogenizálás relatív bizonytalansága
CV <sub>SS</sub>	a mintaméret csökkentés bizonytalansága
Dpm	disintegration per minute
ECD	elektronbefogási detektor
IAEA	Nemzetközi Atomenergia Ügynökség
K <sub>s</sub>	mintavételi állandó
LSC	folyadék szcintillációs számláló
PE	polietilén
Q	visszanyerés
R	szermaradék koncentráció
S/N	jel-zaj arány
SFE	szuperkritikus folyadék extrakció
S <sub>rr</sub>	relatív reziduálisok szórása
SST	rendszerellenőrző sztenderd tesztkeverék
TSD	termoionos detektor



## 12.Függelék

F1. táblázat: A minta-homogenizálás véletlen hibájának meghatározását célzó vizsgálat adatainak rögzítéséhez szolgáló Excel sablon bemutatása

A	B	C	D	E	F	G
1	Vizsgálat kódja	AC09_03	Vizsgálatot végezte	INST	Dátum	16.10.03
2	Minta lab.reg. száma	VOZ / ÖRLÉS	Minta tömege [g]	1300.35	Idegen anyagok [g]	
3	Alkalmazott aktív hatóanyag	Atrazin	Minta tömege szárazanyagban [g]	=E2*G8	Egyéb	
4			Spec. aktivitás [dpm/g oldat]	2911183.05569343	Hozzáadott komponens konc. [mg/kg]	0.05
5	Spikhoz alk. standard oldat kódja	SSS 11	Spike szintje [dpm/g]	=G5*E4E3)*G8	Hozzáadott std. oldat térfogata [µl]	1000
6			Üres petri csésze tömege [g]	29.15	Hozzáadott std. oldat tömege [g]	0.84
7	Nedves talaj tömege [g]	=G7-E7	Petri csésze+száraz talaj [g]	39.495	Petri csésze+nedves talaj [g]	39.95
8	Száraz talaj tömege [g]	=E8-E7			Szárazanyag tartalom	=C8/C7
9						
10	Ismétlések száma:	1	2	3	4	5
11	Analtikai mmtárhányad kódja (200g)	V02/Milled/2001	V02/Milled/2002	V02/Milled/2003	V02/Milled/2004	V02/Milled/2005
12	Extrakció edény tömege kupakkal [g]	311.56	316.89	309.46	334.07	312.28
13	Extr. edény + bemért talaj [g]	413.92	556.08	560.16	525.38	531.96
14	Hozzáadott 0.2 M-os NH <sub>4</sub> Cl oldat [g]	28.95	27.77	27.63	27.83	28.01
15	Hozzáadott aceton [g]	313.95	314.61	313.76	313.29	313.19
16	Végző extrakt tömege [g]	=C14-C15	=D14-D15	=E14-E15	=F14-F15	=G14-G15
17	Az extrakcióra kerülő miniatérsz. tömege [g]	=C13-C12	=D13-D12	=E13-E12	=F13-F12	=G13-G12
18	Az extrakcióra kerülő miniatérsz. szárazanyag tart.[g]	=C17*G388	=D17*G388	=E17*G388	=F17*G388	=G17*G388
19						
20	Analtikai mmtárhányad kódja (20g)	V02/Milled/201	V02/Milled/202	V02/Milled/203	V02/Milled/204	V02/Milled/205
21	Extrakció edény tömege kupakkal [g]	99.5	95.34	91.3	92.27	99.76
22	Extr. edény + bemért talaj [g]	126.73	118.11	117.86	115.26	125.27
23	Hozzáadott 0.2 M-os NH <sub>4</sub> Cl oldat [g]	2.76	2.66	2.78	2.81	2.76
24	Hozzáadott aceton [g]	31.49	31.06	31.17	31.78	31.62
25	Végző extrakt tömege [g]	=C23+C24	=D23+D24	=E23+E24	=F23+F24	=G23+G24
26	Az extrakcióra kerülő miniatérsz. tömege [g]	=C22-C21	=D22-D21	=E22-E21	=F22-F21	=G22-G21
27	Az extrakcióra kerülő miniatérsz. szárazanyag tart.[g]	=C26*G388	=D26*G388	=E26*G388	=F26*G388	=G26*G388

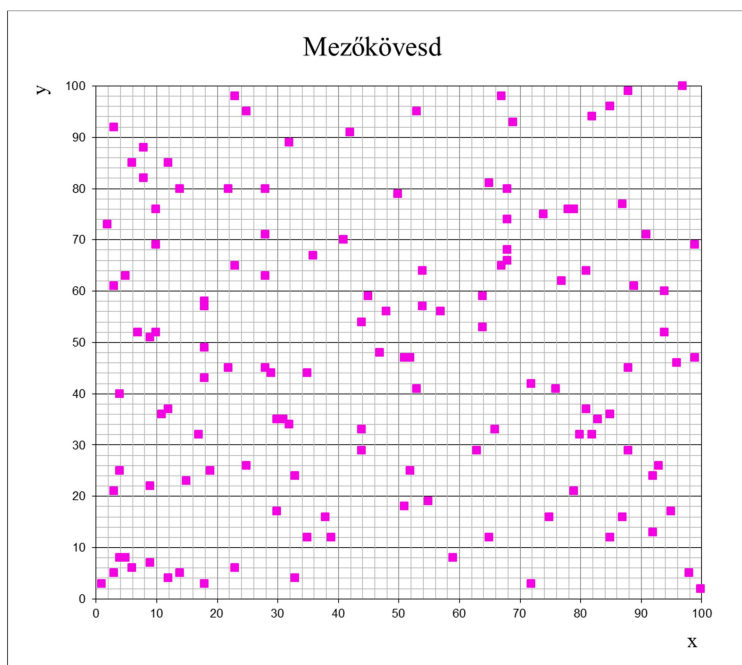
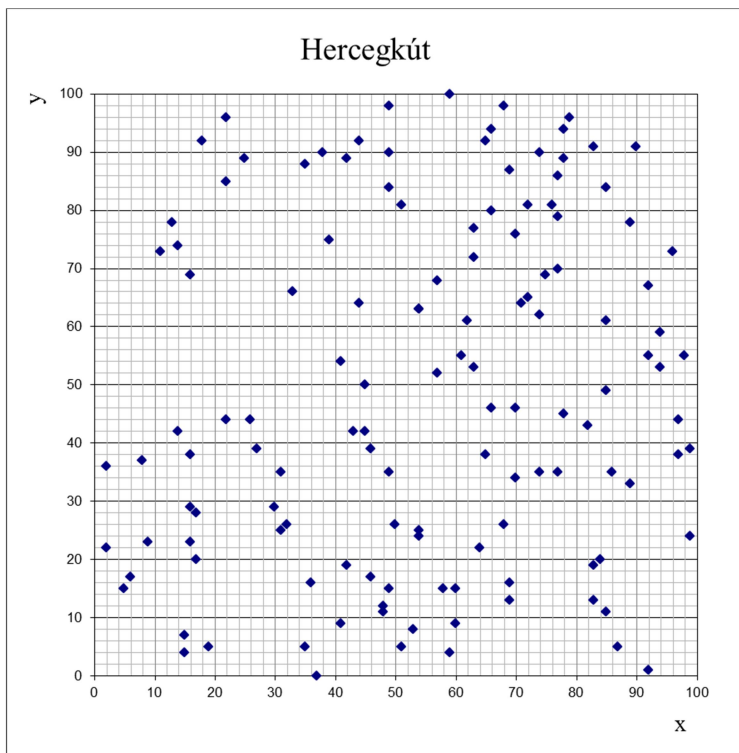
F1. táblázat folyt.(számítás a 200 grammos analitikai mintahányadok esetében)

A	B	C	D	E	F	G	H	I
28	Mért aktivitások az 5-5 ml extraktban (ismételt mérések eredményei)							
	200 g-os mintahányad	1	2	3	Átlag	Variancia	CV	Ave recovery
29	5 ml extrakt tömege [g]	4.004	3.955	3.974	=ÁTLAG(C30:E30)	=VAR(C30:E30)	=SZORÁS(C30:E30)/F30	
30	Átlagos beütésszám [dpm]	3933,15	3876,82	3926,56	=ÁTLAG(C31:E31)	=VAR(C31:E31)	=SZORÁS(C31:E31)/F31	
31	V02Miled2001	=C31-\$J\$2	=D31-\$J\$2	=E31-\$J\$2	=ÁTLAG(C32:E32)	=VAR(C32:E32)	=SZORÁS(C32:E32)/F32	
32	Korrigált beütésszám [dpm]	=C31-\$J\$2	=D31-\$J\$2	=E31-\$J\$2	=ÁTLAG(C33:E33)	=VAR(C33:E33)	=SZORÁS(C33:E33)/F33	=F33/SESS*100
33	Aktiválás [dpm/g minta]	=1/(C30/\$C\$16*\$C\$18)*C32	=1/(D30/\$C\$16*\$C\$18)*D32	=1/(E30/\$C\$16*\$C\$18)*E32	=ÁTLAG(C34:E34)	=VAR(C34:E34)	=SZORÁS(C34:E34)/F34	
34	5 ml extrakt tömege [g]	3.833	3.988	4.026	=ÁTLAG(C35:E35)	=VAR(C35:E35)	=SZORÁS(C35:E35)/F35	
35	V02Miled2002	4527,86	4697,16	4804,06	=ÁTLAG(C36:E36)	=VAR(C36:E36)	=SZORÁS(C36:E36)/F36	
36	Korrigált beütésszám [dpm]	=C35-\$J\$2	=D35-\$J\$2	=E35-\$J\$2	=ÁTLAG(C37:E37)	=VAR(C37:E37)	=SZORÁS(C37:E37)/F37	=F37/SESS*100
37	Aktiválás [dpm/g minta]	=1/(C34/\$D\$16*\$D\$18)*C36	=1/(D34/\$D\$16*\$D\$18)*D36	=1/(E34/\$D\$16*\$D\$18)*E36	=ÁTLAG(C38:E38)	=VAR(C38:E38)	=SZORÁS(C38:E38)/F38	
38	5 ml extrakt tömege [g]	4.012	4.024	4.009	=ÁTLAG(C39:E39)	=VAR(C39:E39)	=SZORÁS(C39:E39)/F39	
39	V02Miled2003	5685,89	5670,53	5733,54	=ÁTLAG(C40:E40)	=VAR(C40:E40)	=SZORÁS(C40:E40)/F40	
40	Korrigált beütésszám [dpm]	=C39-\$J\$2	=D39-\$J\$2	=E39-\$J\$2	=ÁTLAG(C41:E41)	=VAR(C41:E41)	=SZORÁS(C41:E41)/F41	=F41/SESS*100
41	Aktiválás [dpm/g minta]	=1/(C38/\$E\$16*\$E\$18)*C40	=1/(D38/\$E\$16*\$E\$18)*D40	=1/(E38/\$E\$16*\$E\$18)*E40	=ÁTLAG(C42:E42)	=VAR(C42:E42)	=SZORÁS(C42:E42)/F42	
42	5 ml extrakt tömege [g]	3.952	3.975	3.985	=ÁTLAG(C43:E43)	=VAR(C43:E43)	=SZORÁS(C43:E43)/F43	
43	V02Miled2004	5362,26	5374,84	5507	=ÁTLAG(C44:E44)	=VAR(C44:E44)	=SZORÁS(C44:E44)/F44	
44	Korrigált beütésszám [dpm]	=C43-\$J\$2	=D43-\$J\$2	=E43-\$J\$2	=ÁTLAG(C45:E45)	=VAR(C45:E45)	=SZORÁS(C45:E45)/F45	=F45/SESS*100
45	Aktiválás [dpm/g minta]	=1/(C42/\$F\$16*\$F\$18)*C44	=1/(D42/\$F\$16*\$F\$18)*D44	=1/(E42/\$F\$16*\$F\$18)*E44	=ÁTLAG(C46:E46)	=VAR(C46:E46)	=SZORÁS(C46:E46)/F46	
46	5 ml extrakt tömege [g]	4.009	4.003	4.016	=ÁTLAG(C47:E47)	=VAR(C47:E47)	=SZORÁS(C47:E47)/F47	
47	V02Miled2005	4002,02	4098,49	4031,7	=ÁTLAG(C48:E48)	=VAR(C48:E48)	=SZORÁS(C48:E48)/F48	
48	Korrigált beütésszám [dpm]	=C47-\$J\$2	=D47-\$J\$2	=E47-\$J\$2	=ÁTLAG(C49:E49)	=VAR(C49:E49)	=SZORÁS(C49:E49)/F49	=F49/SESS*100
49	Aktiválás [dpm/g minta]	=1/(C46/\$G\$16*\$G\$18)*C48	=1/(D46/\$G\$16*\$G\$18)*D48	=1/(E46/\$G\$16*\$G\$18)*E48				

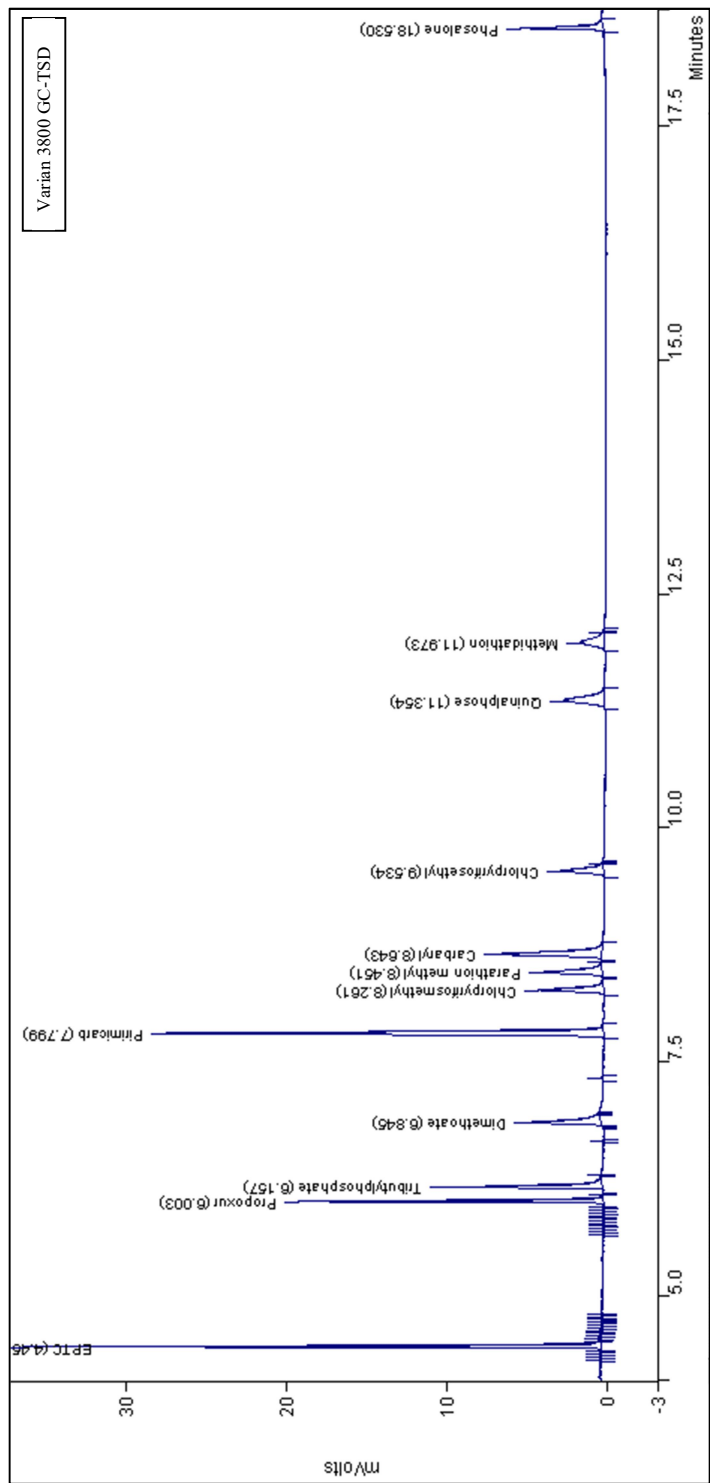
F2. táblázat: A linearitás vizsgálatához használt kalibráló oldatok pontos koncentrációja (ng/ml)

Komponensek	LOQ <sub>theo</sub> (mg/kg)	LOQ-nak megfelelő injektált sztenderd*							
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
		1/2 LOQ	LOQ	10*LOQ	20*LOQ	30*LOQ	50*LOQ	100*LOQ	150*LOQ
Azinfosz-etil	0,01	12	30	299	598	757	1195	2390	3586
Klórfenvírfosz	0,01	12	31	309	618	759	1235	2396	3594
Klórpírfosz	0,01	12	30	300	600	760	1201	2401	3602
Dimetenamid	0,02	24	60	600	1199	1524	2398	4814	7221
Oxifluorfen	0,05	60	149	1488	2976	3794	5952	11981	17971
Pendimetalin	0,02	24	60	603	1207	1529	2413	4827	7240
Prometrin	0,01	13	31	308	616	767	1233	2421	3631
Propazin	0,01	12	30	297	595	760	1189	2400	3600
Terbutilazin	0,01	14	30	300	601	768	1201	2425	3637
Terbutrim	0,01	13	31	306	612	761	1223	2402	3603

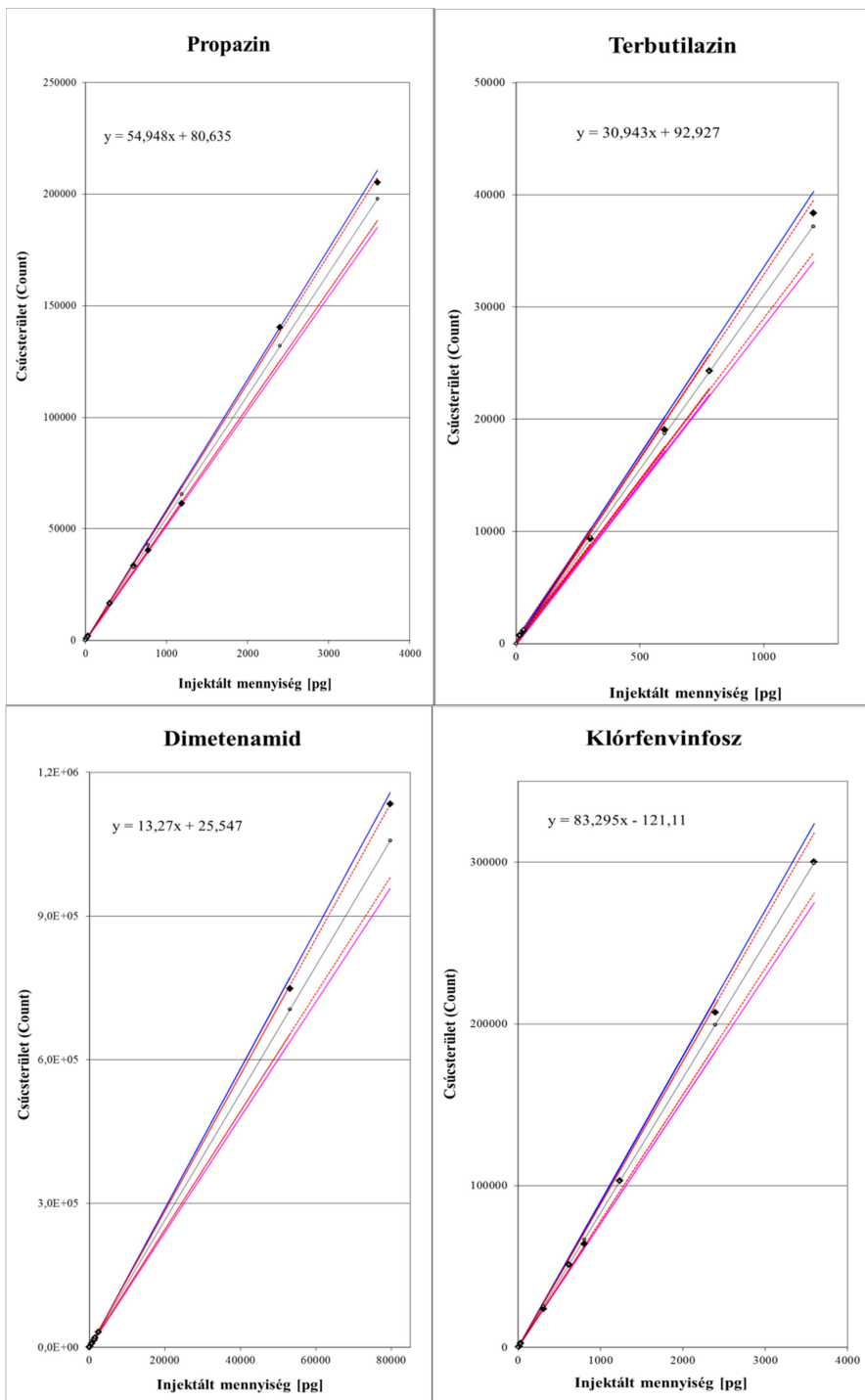
\*2,5 mg injektált talajminta es et en



**Függelék 1. ábra.** Az egyes mintavételi pontok elhelyezkedése a mintázott területeken



Függelék 2. ábra. Egy SST (System Suitability Test) kromatogram



Függelék 3. ábra. A módszer linearitásának bemutatása néhány példán keresztül