

Plán standardizace – Program rozvoje metrologie 2019

Zpráva pro závěrečnou oponenturu (13.11.2019)

Číslo úkolu: VIII/18/19

Název úkolu: PŘÍPADOVÁ STUDIE POSTUPU PŘÍPRAVY MATRICOVÉHO KANDIDÁTSKÉHO RM PŮDA METODOU PŘÍDAVKU („SPIKOVÁNÍ“) ORGANICKÝCH ANALYTŮ A VLIV TOHOTO POSTUPU NA KONCENTRACI ANORGANICKÝCH ANALYTŮ V TÉTO MATRICI. OVĚŘENÍ VHODNOSTI POSTUPU PŘÍPRAVY TOUTO METODOU

Zadavatel: Česká republika – Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, organizační složka státu

Řešitel: ANALYTIKA, SPOL. S R.O.

Vypracoval: Mgr. Petr Šmejkal, Ing. Daniela Weisserová,
Doc.RNDr. Václav Sychra, CSc.

Schválil: Ing. Daniela Weisserová

Datum: 8.11.2019

Rozdělovník: 2x ÚNMZ
1x řešitel
1x oponenti

VÝTISK Č.

Obsah

Obsah.....	2
1. Úvod.....	3
2. Shrnutí informací ze vstupní a průběžné oponentury.....	4
2.1. Materiály obdobného složení či matrice.....	4
2.2. Příprava materiálů zemědělské půdy.....	4
2.3. Posouzení homogenity testovaných materiálů	6
3. Popis řešení úkolu a dosažené výsledky	8
3.1. Posouzení homogenity derivátů HCH, DDT a endrinu.....	8
3.2. Posouzení krátkodobé stability materiálů.....	14
3.2.1. Zvolený model posouzení stability	14
3.2.2. Výsledky isochronního posouzení stability.....	15
3.2.3. Vyhodnocení krátkodobé stability sledovaných pesticidů.....	20
3.3. Posouzení eventuálního vlivu spikování na obsah anorganických analytů přítomných ve spikovaném materiálu.....	21
4. Shrnutí výsledků celého projektu.....	21
5. Čerpané náklady na úkol.....	21
6. Závěr.....	22
7. Literatura	22
Příloha č.1 Plánovací list úkolu	23

1. Úvod

Předkládaný úkol je součástí Programu rozvoje metrologie 2019. Příprava matricových referenčních materiálů (zejména s pevnou maticí) vhodných pro daný účel, tj. s obsahem všech požadovaných analytů na přibližné požadované úrovni koncentrace je, až na malé výjimky (většina typů vod, některé kapalné potraviny), složitá záležitost pokud chce výrobce použít původní přírodní materiál (např. půdu, sediment atp.). V celé řadě případů se totiž nepodaří získat vhodný přírodní materiál, který by v plném rozsahu vyhovoval požadavkům pro daný účel. V takových případech se nabízí možnost získání vhodného materiálu mísením dvou nebo více přírodních materiálů o stejné matici (ale s různými analyty o různých koncentracích) nebo přidáním potřebného množství příslušného analytu tzv. „spikování“, tj. nějakou chemickou operací pomocí čistých chemikálií, standardních roztoků atp. S mísením několika pevných nebo kapalných materiálů, respektive se „spikování“, stoupá riziko nehomogenity výsledného produktu. Posuzování homogenity a stability je v těchto případech zcela zásadní operací, která rozhoduje o použitelnosti příslušného kandidátského RM (CRM).

V průběžné zprávě ze dne 23.7.2019 bylo konstatováno, že půda naspikovaná vybranými pesticidy je homogenní pro testované organické i anorganické analyty, a proto se může pokračovat v dílčích úkolech.

Předkládaná zpráva k závěrečné oponentuře úkolu posuzuje homogenitu vybraných organochlorovaných pesticidů, isochronní krátkodobou (transportní) stabilitu spikované půdy, a taktéž shrnuje veškeré výsledky provedené v rámci tohoto úkolu v období března-listopadu 2019.

2. Shrnutí informací ze vstupní a průběžné oponentury

2.1. Materiály obdobného složení či matrice

Většina CRM týkajících se pesticidů, herbicidů a fungicidů v půdách je staršího data. Pochází převážně z portfolia firmy RTC Corp., která je již ale zaniklá a část tohoto portfolia převzala firma Sigma Aldrich. Analyty jsou hlavně deriváty DDT, DDE, DDD, HCH, endosulfan, dieldrin, methoxychlor, 2,4,5-T, z organofosforových látek pak azinfos, malathion, chlorpyrifos a jeho deriváty. Je zřejmé, že se jedná většinou o látky s relativně vysokou hodnotou času degradace. Značná část těchto RM je již nedostupná, nebo proexpirovaná.

Velmi zajímavé však je, že některé z těchto materiálů byly připraveny umělým obohacením přírodních materiálů o výše uvedené pesticidy. Eventuální zkušenost z tohoto procesu však nelze použít, protože z dostupných certifikátů nelze vyčíst, jakým způsobem bylo toto obohacení provedeno, a certifikační zprávy nejsou dostupné. Konkrétně se jedná o následující materiály:

CRM817: Herbicides - loam soil
CRM821: OP pesticides - loam soil
CRM827: OP pesticides - sandy loam 2
CRM837: OP pesticides - silt loam
CRM847: Pesticides - clay soil
CRM818: Pesticides - loam 1
CRM860: Pesticides - loamy sand

Nové CRM týkající se moderních pesticidních látek prakticky neexistují. Není to zase, až tak překvapivé vezmeme-li v úvahu, že dlouhodobá stabilita v současné době používaných pesticidních látek je z ekologického pohledu nechtěná, což je v rozporu s požadavky výrobců RM na dlouhodobou stabilitu. Jinými slovy se do toho nikomu nechce. Vždyť i jediný novější CRM pro pesticidy vyrobený v BAM (ERM-CC007a) certifikuje pouze deriváty DDT a HCH. Výše uvedené skutečnosti ovlivnily i výběr analytů pro plánovanou studii [1].

2.2. Příprava materiálů zemědělské půdy

Na základě předběžných analýz byla vybrána (z portfolia přírodních materiálů, které vlastní ANALYTIKA® spol. s r.o.) vhodná zemědělská půda pocházející z oblasti Polabí. Tento materiál byl připraven následujícím postupem:

Nejdříve byl na vzduchu usušen, ručně nadrcen, homogenizován a uložen do PE pytlů. Poté byl převezen do ÚNS Kutná Hora s.r.o., kde byla provedena jeho úprava mletím v kulovém porcelánovém mlýnu a následně síťováním přes polypropylenové síto na konečnou frakci o velikosti částic max. 100 μ m. Takto upravený materiál byl převezen do firmy Safina a.s. kde byl 48 hodin homogenizován na homogenizačním bubnu („turbuli“). Takto zhomogenizovaný materiál byl uložen do dvojitého PE pytlů, které byly pevně uzavřeny.

20 kg upraveného materiálu zemědělské půdy bylo rehomogenizováno v uzavřené stavební míchačce a „naspikováno“ roztokem obsahujícím všechny sledované analyty. Jako rozpouštědlo byl použit metanol o objemu 1000 ml. V tabulce č.1. jsou uvedené jednotlivé pesticidy, jejich klasifikace, sumární vzorec a navážky.

Tabulka č.1: Pesticidy ve spikovacím roztoku

Analyt	Využití klasifikace	Sumární vzorec	Navážky analytů v µg/kg
Azoxystrobin	fungicid	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	334,5
Carbendazim	fungicid	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	320,0
Prochloraz	fungicid	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂	228,3
Epoxiconazol	fungicid	C ₁₇ H ₁₃ ClFN ₃ O	239,5
Metconazol	fungicid	C ₁₇ H ₂₂ ClN ₃ O	306,1
Tebuconazol	fungicid	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	941,1
Spiroxamin	fungicid	C ₁₈ H ₃₅ NO ₂	599,0
Fenpropidin	fungicid	C ₁₉ H ₃₁ N	119,3
Pendimethalin	herbicid	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	222,8
Metazachlor	herbicid	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O	840,2
Dimethenamid	herbicid	C ₁₂ H ₁₈ ClNO ₂ S	426,3
Linuron	herbicid	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	520,3
Terbutylazin	herbicid	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	526,9
Atrazin	herbicid	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	521,6
Chlorotoluron	herbicid	C ₁₀ H ₁₃ ClN ₂ O	114,1
Metamitron	herbicid	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O	628,0
Diflufenican	herbicid	C ₁₉ H ₁₁ F ₅ N ₂ O ₂	748,6
Pethoxamid	herbicid	C ₁₆ H ₂₂ ClNO ₂	325,9
Methoxyfenozid	insekticid	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₃	857,3
Chlorpyrifos	insekticid	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	947,1
Atrazin-2-hydroxy		C ₈ H ₁₅ N ₅ O	
Terbutylazin-2-h		C ₉ H ₁₇ N ₅ O	
2,4'-DDT	insekticid	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	420,6
4,4'-DDD	insekticid	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄	599,6
4,4'-DDT	insekticid	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	796,5
Delta-HCH	insekticid	C ₆ H ₆ Cl ₆	1013,2
Gamma-HCH	insekticid	C ₆ H ₆ Cl ₆	906,2
Endrin	insekticid	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	692,6

Atrazin-2-hydroxy a Terbutylazin-2-h jsou vzniklé metabolity.

Postup úpravy spikováním:

20 kg půdy bylo rozděleno na deset částí po 2 kg, každá část byla přesypána do skleněné nádoby a „naspikována“ 1/10 spikovacího roztoku smíchaným s 200 ml metanolu. Po promíchání bylo k půdě přidáváno 450 ml metanolu k vytvoření homogenní kašovité hmoty. Půda byla v přikrytých mísách ponechána do druhého dne za občasného míchání a poté byla přelita na plechy, kde byla sušena za laboratorní teploty. Během sušení se postupně roztíraly vzniklé hrudky, aby se docílilo původní jemnosti materiálu. Vysušená půda byla přesypána po 2 kg do 2,5 l skleněných lahví. Lahve byly umístěny do rotační třepačky na 3 hodiny při rychlosti 25 otáček za minutu. Poté byl veškerý naspikovaný materiál z lahví přemístěn do stavební míchačky a homogenizován po dobu 12 hodin. Následně byla půda rozvážena po 50 g do hnědých skleněných lahvíček o objemu 75 ml. Lahvičky byly označeny štítky (AN-PEST, 50g, pořadové číslo 1-400).

Následně bylo náhodně vybráno 12 kusů lahvíček (3 kusy z každého sta lahvíček) pro posouzení homogenity. Všechny lahvíčky byly převezeny do firmy Bioster, s.r.o., kde byla provedena stabilizace materiálu v homogenním radiačním poli dávkou 25 Kgy.

Lahvičky vybrané pro posouzení homogenity pesticidů byly odeslány k analýze do akreditované zkušební laboratoře (subjekt č.1071) ÚKZÚZ (oddělení reziduálních analýz). Testování homogenity na anorganických analytech bylo ověřováno ve zkušební laboratoři ZL Radlák [2].

2.3. Posouzení homogenity testovaných materiálů

Primární data z ÚKZÚZ byla vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu ANOVA a jejich shrnutí je prezentováno v tabulce č.2.

Tabulka č.2: Souhrn statistických dat pro pesticidy ve spikované půdě

analyt	F	S _{mv}	S _{opak}	S _{mv} [%]	S _{opak} [%]
Azoxystrobin	0,65	4,8	14,1	1,55	4,56
Carbendazim	1,00	0,6	16,1	0,21	5,60
Prochloraz	0,62	2,6	7,4	1,21	3,38
Epoxiconazol	1,89	6,8	12,5	3,19	5,86
Metconazol	0,55	6,1	15,8	1,87	4,83
Tebuconazol	0,96	5,4	45,2	0,60	5,03
Spiroxamin	1,21	3,3	12,6	0,68	2,60
Fenpropidin	1,52	1,6	3,9	1,33	3,19
Pendimethalin	0,47	4,8	11,4	2,28	5,44
Metazachlor	0,36	15,2	32,8	1,78	3,84
Dimethenamid	0,66	4,9	14,8	1,11	3,31
Linuron	0,60	8,9	24,4	1,76	4,81
Terbutylazin	1,0	1,2	22,1	0,23	4,12
Atrazin	0,37	10,5	22,9	2,00	4,38
Chlorotoluron	0,64	1,3	3,7	1,11	3,19
Metamitron	0,85	10,2	26,2	1,69	4,36
Diflufenican	0,85	12,1	54,9	1,39	6,30
Pethoxamid	1,27	5,6	18,9	1,51	5,07
Methoxyfenozid	0,65	13,4	39,5	1,46	4,28
Chlorpyrifos	1,12	4,35	21,4	0,84	4,14
Atrazin-2-hydroxy	0,10	1,2	2,2	3,95	7,23
Terbutylazin-2-h	0,03	1,2	2,0	4,12	7,25

Hodnoty S_{mv}, S_{opak} jsou v µg/kg, hodnota F_{krit} je 2,22

Tabulka č.3: Souhrn statistických dat pro anorganické analyty ve spikované půdě

analyt	F	S _{mv}	S _{opak}	S _{mv} [%]	S _{opak} [%]
Pb	2,65	0,044	0,059	3,25	4,39
Cu	1,49	0,004	0,009	0,37	0,92
Mn	1,61	0,082	0,182	0,43	0,96
Zn	0,76	0,021	0,072	0,51	1,78
V	2,21	0,025	0,039	1,73	2,72
Ni	2,65	0,009	0,012	0,91	1,23
Sr	1,45	0,027	0,070	1,28	3,31

Hodnoty S_{mv}, S_{opak} jsou v mg/kg, hodnota F_{krit} je 2,22

Z tabulky číslo 2 lze vyčíst, že RSD pro pesticidy se pohybují od 3 % do 6 %, což jsou hodnoty, které můžeme považovat za velmi dobré pro tento druh analýzy a analytů.

U všech organických analytů jsou hodnoty F nižší než hodnota F_{krit} (tabulka číslo 2), zároveň je u všech analytů s_{mv} menší než s_{opak} což svědčí o tom, že dominantním příspěvkem k “nehomogenitě“ je opakovatelnost a ne mezilahvičková nehomogenita. Celkově tyto údaje svědčí o velmi dobré homogenitě materiálu.

U vybraných anorganických analytů jsou hodnoty F menší než F_{krit} (tabulka číslo 3), nebo je jen mírně přesahují. Taktéž s_{mv} je menší než s_{opak} což opět svědčí o dominantním příspěvku opakovatelnosti k celkové nehomogenitě.

Příspěvek nejistoty způsobený nehomogenitou se pro většinu analytů pohybuje mezi 3,0-4,5 %.

Jestliže cílová nejistota stanovení hodnoty měřené veličiny bude nastavena tak, aby vyhovovala pro daný účel, což je pro danou matici, analýzu a analyty obvykle v rozmezí 10-15 %, potom hodnoty s_{opak} vyhovují prakticky ve všech případech ideálnímu požadavku, aby

$$\frac{s_{opak}}{\sqrt{n}} \leq \frac{u_{trg}}{3}, \text{ kde } n \text{ je počet aliquotů odebraných z každé jednotky měření.}$$

Rovněž hodnoty příspěvků nejistoty homogenity jsou výrazně nižší než hodnota u_{trg}

$$\text{kdy } u_{trg} = \sqrt{u_{char}^2 + u_{hom}^2 + u_{stab}^2}.$$

Z výše uvedených důvodů lze konstatovat, že homogenita spikované půdy je pro všechny zkoumané analyty dostačující.

Překvapivě byly při analýzách souvisejících s posuzováním homogenity spikovaných pesticidů nalezeny i stopové koncentrace metabolitů atrazinu (atrazin-2-hydroxy) a terbutylazinu (terbutylazin-2-h) na úrovni 5 resp. 6 % spikovaného obsahu původních látek. Velmi zajímavý bude obsah těchto látek po ukončení studie krátkodobé stability.

3. Popis řešení úkolu a dosažené výsledky

3.1. Posouzení homogenity derivátů HCH, DDT a endrinu

Homogenita těchto pesticidů byla zkoumána v jiné akreditované laboratoři (Aquatest a.s.) než ostatní pesticidy z důvodu nemožnosti provedení potřebných analýz na pracovišti ÚKZÚZ. Primární data byla vyhodnocena pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu ANOVA a jsou prezentována v následujících tabulkách.

Tabulka č.4: Posouzení homogenity gama HCH v $\mu\text{g/kg}$

lahvička	analýza 1	analýza 2	analýza 3
3	531	561	595
20	575	611	546
88	564	566	606
123	568	614	650
146	586	620	563
185	544	606	599
206	546	585	612
257	580	632	622
283	613	649	621
326	609	605	627
344	574	571	648
380	590	646	612

ANOVA

Zdroj variability	SS	st.volnosti	MS	F	F krit
Mezi vzorky	13151	11	1196	1,26	2,22
Mezi analýzami	22734	24	947		
Celkem	35885	35			

S_{mv}	9,1
S_{opak}	30,8

kde s_{mv} je směrodatná odchylka mezi vzorky:

$$s_{mv} = \sqrt{\frac{|MS_{mezi\ vzorky} - MS_{mezi\ analýzami}|}{n_0}}$$

s_{opak} je hodnota směrodatné odchylky opakovatelnosti:

$$s_r = \sqrt{MS_{mezi\ analýzami}}$$

Tabulka č.5: Posouzení homogenity endrinu v $\mu\text{g/kg}$

lahvička	analýza 1	analýza 2	analýza 3
3	556	583	615
20	612	657	575
88	611	605	653
123	642	655	695
146	620	660	611
185	592	634	619
206	562	607	642
257	604	687	646
283	646	680	641
326	645	647	640
344	645	596	630
380	662	685	623

ANOVA

Zdroj variability	SS	Rozdíl	MS	F	F krit
Mezi vzorky	18795	11	1709	1,94	2,22
Mezi analýzami	21091	24	879		
Celkem	39887	35			

S _{mv}	16,6
S _{opak}	29,6

Tabulka č.6: Posouzení homogenity delta HCH v $\mu\text{g}/\text{kg}$

lahvička	analýza 1	analýza 2	analýza 3
3	765	810	840
20	826	905	781
88	843	826	890
123	869	876	950
146	856	902	835
185	811	882	847
206	775	844	881
257	835	942	898
283	886	950	884
326	888	889	905
344	877	839	898
380	911	953	865

ANOVA

Zdroj variability	SS	Rozdíl	MS	F	F krit
Mezi vzorky	36605	11	3328	1,90	2,22
Mezi analýzami	42064	24	1753		
Celkem	78669	35			

S _{mv}	22,9
S _{opak}	41,9

Tabulka č.7: Posouzení homogenity 4,4 DDD v $\mu\text{g}/\text{kg}$

lahvička	analýza 1	analýza 2	analýza 3
3	505	533	542
20	547	588	526
88	549	555	589
123	580	589	623
146	557	597	557
185	544	568	567
206	507	556	569
257	541	624	589
283	585	615	579
326	575	572	591
344	576	547	567
380	604	606	562

ANOVA

Zdroj variability	SS	Rozdíl	MS	F	F krit
Mezi vzorky	14986	11	1362	2,28	2,22
Mezi analýzami	14367	24	599		
Celkem	29353	35			

S _{mv}	16,0
S _{opak}	24,5

Tabulka č.8: Posouzení homogenity 2,4 DDT v $\mu\text{g/kg}$

lahvička	analýza 1	analýza 2	analýza 3
3	350	360	409
20	404	413	359
88	398	371	419
123	407	411	446
146	384	399	374
185	357	392	385
206	346	354	391
257	381	409	394
283	387	420	401
326	397	416	380
344	415	349	386
380	407	425	387

ANOVA

Zdroj variability	SS	Rozdíl	MS	F	F krit
Mezi vzorky	8106	11	737	1,43	2,22
Mezi analýzami	12403	24	517		
Celkem	20510	35			

S _{mv}	8,6
S _{opak}	22,7

Tabulka č.9: Posouzení homogenity 4,4 DDT v $\mu\text{g}/\text{kg}$

lahvička	analýza 1	analýza 2	analýza 3
3	515	528	613
20	600	611	526
88	585	538	619
123	600	599	648
146	552	567	534
185	508	565	546
206	488	494	558
257	551	567	552
283	549	596	573
326	559	596	526
344	595	481	536
380	567	598	538

ANOVA

Zdroj variability	SS	Rozdíl	MS	F	F krit
Mezi vzorky	22093	11	2008	1,50	2,22
Mezi analýzami	32078	24	1337		
Celkem	54171	35			

S_{mv}	15,0
S_{opak}	36,6

Tabulka č.10: Souhrn statistických dat pro vybrané organochlorované pesticidy

analyt	F	S_{mv}	S_{opak}	S_{mv} [%]	S_{opak} [%]
gama HCH	1,26	9,1	30,8	1,53	5,17
endrin	1,94	16,6	29,6	2,64	4,70
delta HCH	1,90	22,9	41,9	2,64	4,82
4,4 DDD	2,28	16,0	24,5	2,80	4,30
2,4 DDT	1,43	8,6	22,7	2,19	5,81
4,4 DDT	1,50	15,0	36,6	2,67	6,52

Hodnoty S_{mv} , S_{opak} jsou v $\mu\text{g}/\text{kg}$, hodnota F_{krit} je 2,22

U těchto organochlorovaných pesticidů jsou hodnoty F menší než F_{krit} (tabulka 10), nebo ji jen mírně přesahují (4,4 DDT). U všech analytů je S_{mv} menší než S_{opak} což svědčí o tom, že dominantním příspěvkem k "nehomogenitě" je opakovatelnost a ne mezilahvičková nehomogenita. Celkově tyto údaje svědčí o velmi dobré homogenitě materiálu v parametru organochlorovaných pesticidů.

3.2. Posouzení krátkodobé stability materiálů

3.2.1. Zvolený model posouzení stability

Cílem posuzování stability je odhalit jakékoliv změny přiřazených (certifikovaných) hodnot vlastností vyrobeného referenčního materiálu v závislosti na čase vyvolaných podmínkami, kterým je materiál v praxi vystaven, např. při dopravě a dlouhodobém skladování u uživatele. Posuzování stability referenčního materiálu musí vést k rozhodnutí, zda zjištěný stupeň stability je vhodný pro daný účel. Měl by se vzít v úvahu charakter a vlastnosti posuzovaného materiálu

Pro posouzení krátkodobé stability jsme zvolili isochronní model posouzení, který je popsán v ISO GUIDE 35 [3]. Isochronní model označuje skutečnost, že se všechna měření (na všech vybraných jednotkách balení) provádějí ve stejný čas za podmínek opakovatelnosti. Isochronní model se používá zejména při tzv. zrychleném testu krátkodobé stability, který umožňuje např. simulování extrémních podmínek při dopravě referenčního materiálu (např. sledování teplotní degradace). Výsledky takového testu umožňují zpětně definovat optimální podmínky pro jeho dopravu a skladování. Stabilita materiálů byla posuzována při teplotě -20°C, 5°C, 20°C a 40°C v čase t=0,2,4,8 týdnů. Při každé teplotě a čase byly změřeny 3 lahvičky se vzorkem.

Test krátkodobé stability probíhal následovně: bylo náhodně vybráno 30 lahviček, z nichž vždy tři byly na začátku experimentu vloženy do mrazničky při T=-20°C. Předpokládá se, že při této teplotě je většina referenčních materiálů stabilních. Poté bylo uloženo vždy 9 jednotek balení do prostředí s odpovídající teplotou (lednice T= 5°C, termostat T=20°C a 40°C). V čase t_i se vždy 3 jednotky balení uložené při všech zvolených teplotách (tj. 9 jednotek balení) přemístilo do mrazničky (T= -20°C). Po ukončení experimentu byly všechny lahvičky uloženy v mrazničce. Všech 30 lahviček bylo najednou převezeno do laboratoře ÚKZÚZ, kde byly analyzovány za podmínek opakovatelnosti následujícím, níže uvedeným, způsobem.

Extrakce pro stanovení pesticidů: Extrakce 5 g půdního vzorku byla provedena třepáním po dobu 15 min ve směsi 10 ml vody a 10 ml acetonitrilu při rychlosti 500 kmitů/min. Poté následovalo vysolení protřepáním (2 min) se směsí síranu hořečnatého, chloridu sodného a citrátů sodných pro úpravu pH extraktu. Po následném odstředění (5 min při 5000 otáčkách/min) byl acetonitrilový extrakt odebrán a do analýzy zamražen. Samotná analýza probíhala pomocí ultraúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí. Separace látek probíhala na koloně Zorbax RRHD Eclipse plus C18 Agilent (100 mm x 2,1 mm x 1,8 mm) gradientovou elucí vodou a methanolem modifikovaným 0,1% kyselinou octovou při průtoku 0,4 ml/min. Detekce probíhala po ionizaci elektrosprejem v MRM (multi-reaction monitoring) módu. Obsahy pesticidů byly kvantifikovány pomocí matriční kalibrační křivky.

Získaná data byla zpracována následujícím způsobem:

Spočítali se průměrné hodnoty \bar{X}_{T,t_i} a byla spočítána hodnota R pro každý analyt, teplotu a čas. V případě referenční teploty -20°C je vzorec následující $R_T = \frac{\bar{X}_T}{\bar{X}_{-20^\circ\text{C}}}$. Také byly spočítány

$$\text{hodnoty } U_{T,t} \text{ podle vzorce } U_{T,t} = \sqrt{\frac{RSD_{(t,T)}^2}{n_{t,T}} + \frac{RSD_{(t,-20^\circ\text{C})}^2}{n_{(t,-20^\circ\text{C})}}} \times \frac{R_{T,t}}{100}$$

kde $n \dots$ je počet měřených jednotek balení při každé teplotě ($n=3$).

Poměr R by měl být v ideálním případě roven jedné (v praxi se díky příslušným nejistotám jednotce pouze blíží). Hodnota „1“ by měla vždy ležet v intervalu $R \pm 2U$. Pokud tomu tak je, je možné považovat referenční materiál (s 95% pravděpodobností), při teplotě T a v čase t , za stabilní. Příspěvek nejistoty krátkodobé stability k celkové nejistotě hmotnostní koncentrace analytu je tudíž zanedbatelný.

3.2.2. Výsledky isochronního posouzení stability

V následující tabulce č. 11 jsou uvedeny všechny obdržené výsledky.

Tabulka č.11: Primární data pro posouzení krátkodobé stability

5 °C	t ₀ (-20 °C)			2 týdny			4 týdny			8 týdnů		
Lahvička č.	61	259	332	2	168	321	71	175	238	35	248	349
Jednotka	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg
Azoxystrobin	278	290	293	288	282	290	283	284	282	283	284	282
Carbendazim	287	293	290	297	276	286	271	271	271	268	271	275
Prochloraz	204	211	209	205	207	205	205	208	207	210	205	210
Epoxiconazol	216	212	224	215	215	222	215	216	220	221	220	221
Metconazol	276	280	280	277	270	285	274	273	273	278	275	275
Tebuconazol	799	808	817	785	795	828	786	806	799	823	802	811
Spiroxamin	470	472	483	472	481	473	447	471	478	468	449	443
Fenpropidin	116	115	119	115	119	114	111	114	114	112	109	107
Pendimethalin	176	178	181	180	179	181	179	176	180	184	177	177
Metazachlor	706	729	737	725	706	729	713	719	718	726	719	722
Dimethenamid	307	316	324	312	307	315	304	301	306	310	301	302
Linuron	462	467	468	449	457	462	450	454	449	459	444	454
Terbutylazin	467	481	485	471	474	476	459	470	477	465	459	471
Atrazin	434	456	471	460	438	464	447	448	460	441	446	451
Chlorotoluron	88,8	88,7	90,1	87,7	86,7	88,5	87,6	86,8	88,3	89,1	87,4	86,5
Metamitron	551	559	577	566	261	268	556	559	570	556	558	574
Diflufenican	694	689	706	709	688	711	698	692	707	699	701	710
Pethoxamid	274	282	292	282	281	295	280	276	286	287	278	280
Methoxyfenozid	824	807	843	821	808	855	795	835	833	839	777	802
Chlorpyrifos	413	414	416	398	393	389	371	380	380	371	352	355
Atrazin-2-hydroxy	44,6	44,5	43,3	43,9	43,3	43,1	41,3	41,5	40,0	40,0	41,4	41,5
Terbutylazin-2-h	40,7	41,4	40,1	40,8	41,2	40,0	38,8	39,4	37,1	37,9	39,3	40,4

20 °C	t ₀ (-20 °C)			2 týdny			4 týdny			8 týdnů		
Lahvička č.	61	259	332	52	138	351	16	102	293	213	339	382
Jednotka	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg
Azoxystrobin	278	290	293	284	281	278	272	282	294	276	299	290
Carbendazim	287	293	290	272	268	268	274	299	298	292	313	287
Prochloraz	204	211	209	203	198	196	204	202	206	192	203	198
Epoxiconazol	216	212	224	222	219	220	220	212	222	217	227	229
Metconazol	276	280	280	276	271	272	277	273	289	269	288	279
Tebuconazol	799	808	817	830	787	792	808	793	843	780	841	847

Spiroxamin	470	472	483	439	467	465	419	448	442	451	472	471
Fenpropidin	116	115	119	106	114	113	104	110	108	109	115	116
Pendimethalin	176	178	181	179	175	176	177	176	180	169	183	182
Metazachlor	706	729	737	734	701	700	727	715	742	700	752	723
Dimethenamid	307	316	324	312	293	300	307	298	315	295	317	305
Linuron	462	467	468	461	439	438	456	445	457	431	458	459
Terbutylazin	467	481	485	469	452	444	433	440	451	392	414	413
Atrazin	434	456	471	447	433	417	437	434	451	415	442	431
Chlorotoluron	88,8	88,7	90,1	88,2	83,8	85,9	89,5	86,1	89,3	85,4	89,6	87,9
Metamitron	551	559	577	562	565	543	566	562	565	543	568	559
Diflufenican	694	689	706	710	690	694	712	711	724	682	734	730
Pethoxamid	274	282	292	284	268	283	289	279	283	272	291	275
Methoxyfenozid	824	807	843	803	783	778	742	768	824	807	853	843
Chlorpyrifos	413	414	416	346	351	329	328	333	328	301	316	311
Atrazin-2-hydroxy	44,6	44,5	43,3	43,4	42,9	43,3	45,8	46,9	46,2	54,0	54,3	50,4
Terbutylazin-2-h	40,7	41,4	40,1	42,9	41,4	41,7	56,9	47,7	46,3	53,3	57,4	54,0
40 °C	t₀ (-20 °C)			2 týdny			4 týdny			8 týdnů		
Lahvička č.	61	259	332	87	121	303	154	226	285	45	203	374
Jednotka	µg/kg	µg/kg	µg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Azoxystrobin	278	290	293	289	284	284	278	284	288	287	274	271
Carbendazim	287	293	290	280	270	269	254	263	267	266	263	259
Prochloraz	204	211	209	188	186	184	174	176	172	161	154	159
Epoxiconazol	216	212	224	224	212	218	214	211	220	216	212	210
Metconazol	276	280	280	285	277	275	263	266	268	268	259	259
Tebuconazol	799	808	817	833	827	795	793	778	806	801	445	769
Spiroxamin	470	472	483	473	467	466	434	435	448	418	413	402
Fenpropidin	116	115	119	115	114	114	107	108	112	111	109	106
Pendimethalin	176	178	181	183	177	180	176	178	177	181	175	176
Metazachlor	706	729	737	706	695	698	663	662	679	654	639	620
Dimethenamid	307	316	324	300	290	292	276	276	280	265	259	248
Linuron	462	467	468	418	418	417	383	385	385	339	315	335
Terbutylazin	467	481	485	290	296	293	205	203	193	122	102	125
Atrazin	434	456	471	346	351	351	282	284	275	203	171	202
Chlorotoluron	88,8	88,7	90,1	87,0	86,0	86,2	82,6	81,9	82,6	82,5	77,8	77,4
Metamitron	551	559	577	530	524	527	480	477	485	449	418	440
Diflufenican	694	689	706	727	723	706	700	713	695	718	688	695
Pethoxamid	274	282	292	281	270	271	255	253	259	247	243	230
Methoxyfenozid	824	807	843	854	841	832	818	817	842	745	806	799
Chlorpyrifos	413	414	416	278	245	249	216	211	109	181	172	180
Atrazin-2-hydroxy	44,6	44,5	43,3	65,6	60,2	60,6	71,6	76,8	80,4	100,4	105,1	100,5
Terbutylazin-2-h	40,7	41,4	40,1	71,5	65,5	65,1	80,0	83,1	87,8	109,0	109,0	109,6

V tabulkách číslo 12-33 jsou vyhodnocené hodnoty $R \pm 2U$ pro jednotlivé analyty, teploty a časy.

Tabulka č. 12: Posouzení krátkodobé stability: Atrazin

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
$R_{(+5^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+5^{\circ}\text{C})}$	$1,001 \pm 0,048$	$0,996 \pm 0,041$	$0,983 \pm 0,039$
$R_{(+20^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+20^{\circ}\text{C})}$	$0,953 \pm 0,048$	$0,971 \pm 0,042$	$0,946 \pm 0,046$
$R_{(+40^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+40^{\circ}\text{C})}$	$0,770 \pm 0,030$	$0,618 \pm 0,026$	$0,423 \pm 0,041$

Tabulka č. 13: Posouzení krátkodobé stability: Atrazin-2-hydroxy

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
$R_{(+5^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+5^{\circ}\text{C})}$	$0,984 \pm 0,048$	$0,927 \pm 0,041$	$0,928 \pm 0,039$
$R_{(+20^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+20^{\circ}\text{C})}$	$0,979 \pm 0,048$	$1,049 \pm 0,042$	$1,176 \pm 0,046$
$R_{(+40^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+40^{\circ}\text{C})}$	$1,408 \pm 0,030$	$1,728 \pm 0,026$	$2,311 \pm 0,041$

Tabulka č. 14: Posouzení krátkodobé stability: Azoxystrobin

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
$R_{(+5^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+5^{\circ}\text{C})}$	$0,999 \pm 0,029$	$0,986 \pm 0,026$	$0,986 \pm 0,026$
$R_{(+20^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+20^{\circ}\text{C})}$	$0,979 \pm 0,027$	$0,985 \pm 0,044$	$1,005 \pm 0,046$
$R_{(+40^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+40^{\circ}\text{C})}$	$0,995 \pm 0,028$	$0,987 \pm 0,031$	$0,966 \pm 0,038$

Tabulka č. 15: Posouzení krátkodobé stability: Carbendazim

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
$R_{(+5^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+5^{\circ}\text{C})}$	$0,987 \pm 0,035$	$0,934 \pm 0,009$	$0,936 \pm 0,015$
$R_{(+20^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+20^{\circ}\text{C})}$	$0,929 \pm 0,012$	$1,001 \pm 0,047$	$1,025 \pm 0,046$
$R_{(+40^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+40^{\circ}\text{C})}$	$0,941 \pm 0,022$	$0,901 \pm 0,023$	$0,906 \pm 0,014$

Tabulka č. 16: Posouzení krátkodobé stability: Diflufenican

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
$R_{(+5^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+5^{\circ}\text{C})}$	$1,024 \pm 0,039$	$1,018 \pm 0,036$	$1,025 \pm 0,035$
$R_{(+20^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+20^{\circ}\text{C})}$	$1,017 \pm 0,037$	$1,043 \pm 0,036$	$1,044 \pm 0,054$
$R_{(+40^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+40^{\circ}\text{C})}$	$1,047 \pm 0,038$	$1,024 \pm 0,037$	$1,020 \pm 0,040$

Tabulka č. 17: Posouzení krátkodobé stability: Dimethenamid

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
$R_{(+5^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+5^{\circ}\text{C})}$	$0,986 \pm 0,028$	$0,962 \pm 0,026$	$0,964 \pm 0,029$
$R_{(+20^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+20^{\circ}\text{C})}$	$0,956 \pm 0,038$	$0,971 \pm 0,035$	$0,968 \pm 0,041$
$R_{(+40^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+40^{\circ}\text{C})}$	$0,933 \pm 0,031$	$0,879 \pm 0,023$	$0,815 \pm 0,033$

Tabulka č. 18: Posouzení krátkodobé stability: Epoxiconazol

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
$R_{(+5^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+5^{\circ}\text{C})}$	$1,000 \pm 0,032$	$1,000 \pm 0,029$	$1,018 \pm 0,027$
$R_{(+20^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+20^{\circ}\text{C})}$	$1,014 \pm 0,028$	$1,003 \pm 0,035$	$1,032 \pm 0,039$
$R_{(+40^{\circ}\text{C})} \pm 2U_{(+40^{\circ}\text{C})}$	$1,003 \pm 0,037$	$0,989 \pm 0,033$	$0,979 \pm 0,029$

Tabulka č. 19: Posouzení krátkodobé stability: Fenpropidin

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	0,994 ± 0,027	0,969 ± 0,021	0,937 ± 0,026
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,951 ± 0,039	0,920 ± 0,029	0,971 ± 0,035
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	0,980 ± 0,017	0,934 ± 0,027	0,931 ± 0,026

Tabulka č. 20: Posouzení krátkodobé stability: Chlorotoluron

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	0,984 ± 0,013	0,983 ± 0,012	0,984 ± 0,017
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,965 ± 0,025	0,991 ± 0,022	0,984 ± 0,024
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	0,970 ± 0,011	0,925 ± 0,010	0,889 ± 0,031

Tabulka č. 21: Posouzení krátkodobé stability: Chlorpyrifos

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	0,949 ± 0,011	0,910 ± 0,012	0,869 ± 0,026
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,825 ± 0,026	0,796 ± 0,007	0,747 ± 0,018
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	0,621 ± 0,041	0,512 ± 0,008	0,429 ± 0,011

Tabulka č. 22: Posouzení krátkodobé stability: Linuron

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	0,979 ± 0,015	0,969 ± 0,008	0,971 ± 0,017
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,958 ± 0,027	0,974 ± 0,013	0,966 ± 0,032
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	0,897 ± 0,006	0,825 ± 0,006	0,708 ± 0,026

Tabulka č. 23: Posouzení krátkodobé stability: Metamitron

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	1,005 ± 0,023	0,999 ± 0,025	1,001 ± 0,028
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,990 ± 0,030	1,004 ± 0,023	0,990 ± 0,031
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	0,937 ± 0,022	0,865 ± 0,026	0,775 ± 0,032

Tabulka č. 24: Posouzení krátkodobé stability: Metazachlor

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	0,994 ± 0,025	0,989 ± 0,020	0,997 ± 0,020
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,982 ± 0,032	1,005 ± 0,026	1,000 ± 0,039
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	0,966 ± 0,020	0,922 ± 0,022	0,880 ± 0,028

Tabulka č. 25: Posouzení krátkodobé stability: Metconazol

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	0,996 ± 0,025	0,981 ± 0,008	0,990 ± 0,010
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,980 ± 0,012	1,004 ± 0,029	1,001 ± 0,031
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	1,001 ± 0,020	0,953 ± 0,011	0,940 ± 0,019

Tabulka č. 26: Posouzení krátkodobé stability: Methoxyfenozid

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	1,004 ± 0,035	0,996 ± 0,033	0,977 ± 0,041
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,956 ± 0,025	0,943 ± 0,052	1,012 ± 0,035
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	1,021 ± 0,025	1,001 ± 0,026	0,990 ± 0,035

Tabulka č. 27: Posouzení krátkodobé stability: Pendimethalin

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	1,009 ± 0,014	1,000 ± 0,017	1,006 ± 0,025
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,991 ± 0,017	0,996 ± 0,017	0,998 ± 0,043
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	1,009 ± 0,021	0,993 ± 0,014	0,994 ± 0,022

Tabulka č. 28: Posouzení krátkodobé stability: Pethoxamid

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	1,012 ± 0,040	0,993 ± 0,034	0,996 ± 0,034
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,985 ± 0,042	1,004 ± 0,035	0,988 ± 0,045
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	0,969 ± 0,036	0,904 ± 0,029	0,849 ± 0,039

Tabulka č. 29: Posouzení krátkodobé stability: Prochloraz

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	0,989 ± 0,017	0,994 ± 0,018	1,002 ± 0,021
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,957 ± 0,023	0,981 ± 0,018	0,950 ± 0,029
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	0,894 ± 0,017	0,837 ± 0,016	0,760 ± 0,021

Tabulka č. 30: Posouzení krátkodobé stability: Spiroxamin

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	1,001 ± 0,017	0,980 ± 0,035	0,954 ± 0,029
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,941 ± 0,034	0,919 ± 0,033	0,978 ± 0,027
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	0,987 ± 0,016	0,924 ± 0,020	0,865 ± 0,020

Tabulka č. 31: Posouzení krátkodobé stability: Tebuconazol

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	0,993 ± 0,028	0,986 ± 0,016	1,005 ± 0,016
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,994 ± 0,029	1,008 ± 0,032	1,018 ± 0,045
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	1,013 ± 0,026	0,981 ± 0,019	0,967 ± 0,022

Tabulka č. 32: Posouzení krátkodobé stability: Terbutylazín

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	0,992 ± 0,019	0,981 ± 0,026	0,973 ± 0,022
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	0,953 ± 0,031	0,924 ± 0,025	0,851 ± 0,029
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	0,613 ± 0,013	0,419 ± 0,015	0,244 ± 0,025

Tabulka č. 33: Posouzení krátkodobé stability: Terbutylazín-2-h

	2 týdny	4 týdny	8 týdnů
R(+5°C) ± 2U(+5°C)	0,998 ± 0,021	0,944 ± 0,031	0,962 ± 0,032
R(+20°C) ± 2U(+20°C)	1,031 ± 0,024	1,153 ± 0,024	1,348 ± 0,055
R(+40°C) ± 2U(+40°C)	1,654 ± 0,087	2,053 ± 0,096	2,681 ± 0,041

Tabulka č.34: Souhrn statistických dat pro pesticidy ve spikované půdě

analyt	stabilita R5	stabilita R20	stabilita R40
Atrazin	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	NE (60%)
Azoxystrobin	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t
Carbendazim	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	NE (10%)
Diflufenican	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t
Dimethenamid	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	NE (20%)
Epoxiconazol	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t
Fenpropidin	ANO 2t	ANO 2t-8t	ANO 2t (7%)
Chlorotoluron	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	NE (10%)
Chlorpyrifos	NE (15%)	NE (20%)	NE (60%)
Linuron	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	NE (30%)
Metamitron	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	NE (20%)
Metazachlor	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	NE (10%)
Metconazol	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	ANO 2t (5%)
Methoxyfenozid	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t
Pendimethalin	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t
Pethoxamid	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	ANO 2t (15%)
Prochloraz	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	NE (20%)
Spiroxamin	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	ANO 2t (15%)
Tebuconazol	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t	ANO 2t-8t
Terbutylazin	ANO 2t-8t	NE (15%)	NE (75%)

3.2.3. Vyhodnocení krátkodobé stability sledovaných pesticidů

V tabulce č. 34 jsou abecedně seřazeny jednotlivé sledované analyty a jednoduchým způsobem (ANO/NE) označeny jejich zjištěné krátkodobé stability na základě kritéria $R \pm 2U$ při teplotách 5 °C, 20 °C, 40 °C a časech 2, 4, 8 týdnů. U nestabilních analytů je dále v závorce uveden přibližný maximální pokles z jejich nominální koncentrace v procentech. Vzhledem k relativně nízké preciznosti dat pro fenpropidin a linuron se může zdát posouzení jejich stability spekulativní.

Z prezentované tabulky je zřejmé, že při všech sledovaných teplotách a časech vykazují stabilitu ve spikované půdě pouze sedm následujících analytů: azoxystrobin, diflufenican, epoxyconazol, metconazol, methoxyfenozid, pendimethalin a tebuconazol, tj všechny tři deriváty conazolu a obě sloučeniny obsahující v molekule fluor. Při teplotách 5 °C a 20 °C a všech časech jsou stabilní všechny analyty s výjimkou chlorpyrifosu a terbutylazinu a začíná mírně degradovat atrazin. Při teplotě 5 °C a všech časech jsou stabilní všechny analyty s výjimkou chlorpyrifosu (jediný analyt obsahující v molekule síru a fosfor). Při teplotě 40 °C degraduje již více než polovina sledovaných pesticidů. Vysoký stupeň degradace atrazinu a terbutylazinu při vyšších teplotách je zřejmý z rychle rostoucí koncentrace jejich metabolitů (atrazin-2-hydroxy a terbutylazin-2-hydroxy), které byly rovněž součástí prováděných analýz.

Co znamenají výše uvedená data pro eventuální zařazení výše uvedených pesticidů jako analytů do referenčních materiálů zemědělských půd? S vysokou pravděpodobností lze předpokládat, že bude-li předepsáno důsledné uchovávání (a transport) případných referenčních materiálů v mrazícím boxu (-20 °C), a jejich krátkodobá manipulace při laboratorní teplotě 20 °C, jsou všechny sledované analyty použitelné s výjimkou chlorpyrifosu a terbutylazinu,

aniž by byla ohrožena jejich dlouhodobá stabilita. Tuto skutečnost bude nutné experimentálně prověřit po 6 a 12 měsících od data přípravy.

Zrychlené isochronní posouzení krátkodobé stability vybraných organochlorovaných pesticidů (deriváty DDT a HCH) nebylo prováděno, neboť krátkodobá i dlouhodobá stabilita těchto látek přítomných v referenčních materiálech zemědělských půd byla již v minulosti několikrát potvrzena, např. v publikaci BAM týkající se výroby ERM-CC007a [4].

3.3. Posouzení eventuálního vlivu spikování na obsah anorganických analytů přítomných ve spikovaném materiálu

Vzhledem k tomu, že většina materiálů uvádí jak organické tak anorganické komponenty ve sledovaných referenčních materiálech byl posuzován eventuální vliv procesu spikování na koncentraci anorganických analytů přítomných v daném materiálu. Proměření koncentrací As, Be, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn v daném materiálu před a po procesu spikování nebyl zjištěn v rámci experimentální chyby měření žádný statisticky významný vliv procesu spikování na nominální koncentraci těchto anorganických analytů.

4. Shrnutí výsledků celého projektu

Na základě získaných dat bylo prokázáno, že spikovaný materiál zemědělské půdy vykazuje na všech organických i anorganických analytech vysoký stupeň homogenity a dostatečný pro daný účel a velmi dobrou krátkodobou stabilitu pro většinu sledovaných pesticidů. Unikátní posouzení stability více než dvaceti běžně používaných moderních pesticidů otevírá nový pohled na možnost jejich použití při přípravě referenčních materiálů obsahující tyto organické látky

5. Čerpané náklady na úkol

Mzdové náklady:	75 600,- Kč
Náklady na externího poradce:	18 000,- Kč
Analýzy	155 268,- Kč
Odměna oponentům:	10 000,- Kč
Režijní náklady:	52 920,- Kč
Celkem:	311 788,- Kč
Celkové náklady:	
Za časové období březen – červenec 2019:	334 783,- Kč

Za časové období srpen – listopad 2019:	311 788,- Kč
Celkem:	646 571,- Kč
Z toho náklady čerpané z prostředků PRM 2019	392 000,- Kč

6. Závěr

Lze konstatovat, že všechny dílčí řešené úkoly (specifikované ve Zprávě pro úvodní oponenturu) byly splněny. Získané výsledky jsou cenným příspěvkem k problematice posouzení možnosti přípravy referenčních materiálů s organickými analyty metodou spikování. V problematice přípravy referenčních materiálů metodou spikování bychom rádi pokračovali na dalších typech matrice.

7. Literatura

1. Zpráva pro vstupní oponenturu úkolu PRM VIII/18/19, Analytika[®], spol. s r.o., Praha, (04) 2019
2. Zpráva pro průběžnou oponenturu úkolu PRM VIII/18/19, Analytika[®], spol. s r.o., Praha, (07) 2019
3. ISO Guide 35:2017, Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability
4. ERM-CC007a: Organochlorine pesticides in soil. Certification report, BAM, Berlin 2009

Příloha č.1 Plánovací list úkolu

PROGRAM ROZVOJE METROLOGIE 2019

Číslo úkolu *)	Název úkolu	Stručná charakteristika úkolu Výsledek řešení úkolu	Termíny řešení		Neinvestič. prostředky tis. Kč
			zahájení	ukončení	
VIII/18/19	Případová studie postupu přípravy matricového kandidátského RM půda metodou přidavku („spikování“) organických analytů a vliv tohoto postupu na koncentraci anorganických analytů v této matici. Ověření vhodnosti postupu přípravy touto metodou	<p>Jedná se o pokračování úkolu VIII/18/18 Programu rozvoje metrologie 2018 (Případová studie způsobu přípravy matricového kandidátského RM (půdy, kaly) metodou přidavku („spikování“) sledovaných ukazatelů. Ověření vhodnosti přípravy RM tímto způsobem).</p> <p>V tomto projektu byla úspěšně zkoumána možnost přípravy RM odpadního kalu metodou „spikování“. Vzhledem k rozdílným fyzikálně-chemickým vlastnostem kalu a půdy, nelze získané poznatky automaticky aplikovat na ostatní pevné matrice obdobného charakteru (půdy, zeminy, sedimenty) a tvrdit, že „uměle“ připravený materiál půdy bude homogenní a stabilní.</p> <p>Pokračováním experimentu s půdní maticí bude možné potvrdit či vyvrátit podobnost chování RM s rozdílnou maticí a dát jednoznačný návod na možnosti přípravy těchto materiálů výše zmíněnou metodou.</p> <p>Výsledkem řešení úkolu bude studie proveditelnosti, studie homogenity a stability matricového kandidátského referenčního materiálu (RM) půdy.</p>	02/2019	11/2019	392
Předkládá (adresa, razítko, podpis): ANALYTIKA, spol. s r.o. Sídlo: Khodlova 1297/47 193 00 PRAHA 9 Ing. Daniela Weisserová		Bank. spojení / č. účtu: CITIBANK Europe, PLC./č.ú.: 5005678008/2600			
		IČO / DIČ: 14891883/CZ14891883	Č.j.:		
		Odpovědný řešitel: Ing. Daniela Weisserová	Došlo:		
		Podpis:	Za odbor metrologie:		
		Tel. / fax: 286 589 616	Poznámka:		
		Datum: 4. 4. 2019	Přílohy:		

*) číslo úkolu přidělí ÚNMZ

1. Výchozí stav dané problematiky, návaznost na případná (obdobná) předchozí řešení, srovnání s konkurencí/světovou špičkou:

Využívání CRM při validaci a verifikaci analytických metod a kontrole správnosti měření je jedním z požadavků normy ISO/IEC 17025 pro posouzení kompetence zkušebních a kalibračních laboratoří. Matricové referenční materiály tvoří základní stavební prvky metrologické infrastruktury v oblasti chemických měření pro potřeby životního prostředí.

Vzhledem k tomu, že je často nesnadné nalézt přírodní homogenní materiál (půdy, kaly, sedimenty atd.), který obsahuje sledované analyty (PAU, PAH, pesticidy a anorganické prvky a sloučeniny) a to na požadované koncentrační úrovni, která by vyhovovala stanovením dle platné legislativy (například požadavky na složení kalů a sedimentů při jejich ukládce na zemědělskou půdu), jeví se příprava a využití „umělého“ kandidátského RM jako vhodná cesta, kterou je třeba v oblasti půd a kalů jako matricových RM prověřit zejména se zřetelem na požadavky stability a homogenity připravovaného materiálu.

Stále se zvyšující požadavky na kvalitu zemědělské produkce (kvalita potravin) znamenají i větší nároky na kvalitu zemědělské půdy a povrchové i spodní vody a její kontroly. Jak již bylo uvedeno, RM jsou jedním z nástrojů kontroly kompetence laboratoří a je důležité, abych jejich složení vyhovovalo požadavkům legislativy na obsahy sledovaných látek v půdách, kalech, sedimentech atd.

V projektu VIII/18/18 byla úspěšně zkoumána možnost přípravy RM odpadního kalu metodou spikování organickými analyty. Pokračování projektu může potvrdit či vyvrátit podobnost chování RM s rozdílnou maticí a dát jednoznačný návod na možnosti přípravy těchto materiálů výše zmíněnou metodou. Dále pomůže k vysvětlení jevu změny absolutní koncentrace anorganických analytů během procesu umělé přípravy RM metodou spikování organickými analyty.

- 1.1 Hlavní cíle úkolu (Podrobně a přesně specifikované zadání úkolu.):

Porovnání homogenity „uměle“ připraveného kandidátského RM přidáním požadované koncentrace analytu s přírodním kandidátským RM, a porovnání krátkodobé stability hodnoty koncentrace, a to včetně rozšířené kombinované nejistoty uměle přidaných (spikovaných) a „přírodních“ analytů.

- 1.2 Objektivně ověřitelné výsledky řešení úkolu (Přesně, jednoznačně a konkrétně definované výstupy řešení úkolu v návaznosti na jejich praktické využití.):

Připravený materiál určený k provedení charakterizace materiálu, hodnocení homogenity a krátkodobé stability, statistické zhodnocení.

- 1.3 Forma výstupu řešení (Závěrečná zpráva /vždy/ + např. dokumentace etalonu, návrh MPM – metodický pokyn pro metrologii, MP – metrologický předpis /ČMI/, výkresová dokumentace, výsledky MPZ – mezilaboratorní porovnání zkoušek, certifikace RM, kalibrační postup apod.):

Závěrečná zpráva, hodnocení krátkodobé stability a homogenity.

Související body Usnesení vlády ČR ze dne 14. 12. 2016 č. 1129 o Koncepci rozvoje národního metrologického systému České republiky pro období let 2017 – 2021. Uvést příslušné body Koncepce a jejich zaměření, pokud je zadání úkolu v intencích předmětného usnesení vlády:

6.2. odstavec 6; 6.6.1 odstavec 1 a 3, 6.62 odstavec 5.

- 1.4 Způsob ověření výsledků řešení úkolu
Závěrečná oponentura, účast oponentů a zástupců ÚNMZ.
- 1.5 Navrhování oponenti úkolu (minimálně 2, podléhají odsouhlasení zadavatelem úkolu /vhodné doplnit o nich základní profesní informace):

Ing. Eva Klokočnicková, - praxe v oboru posuzování kvality laboratoří

Ing. Jan Tichý – praxe v oboru RM

- 2.1 Dílčí cíle nezbytné k dosažení hlavních cílů úkolu – I. etapa řešení (Pregnantně definované části řešení úkolu. Se zbývajících částí /řešenou po průběžné oponentuře a oponovanou při závěrečné oponentuře/ může být úkol oponentní radou doporučen ÚNMZ k přijetí jako splněný.):

Výběr vhodných materiálů (matrice, koncentrace vybraných analytů) pro porovnání, a to i na základě požadavků uživatelů. Výběr vhodné laboratoře (ÚKZÚZ Brno, laboratoř reziduálních analýz) pro testování homogenity a krátkodobé stability, zpracování výsledků. Testování homogenity a stability musí provádět pouze jedna laboratoř, tak jak předepisuje TNI POKYN ISO 35, nelze provést toto testování ve více laboratořích.

- 2.2 Objektivně ověřitelné výsledky řešení dílčích cílů (obdobné jako v bodě 1.2):

Výsledky analýz z akreditované či jinak prověřené laboratoře budou vyhodnoceny a bude provedeno statistické zpracování dat pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu ANOVA. Testování homogenity a stability musí provádět pouze jedna laboratoř, tak jak předepisuje TNI POKYN ISO 35, nelze provést toto testování ve více laboratořích.

- 2.3 Způsob ověření dílčích cílů (např. průběžná /dílčí/ oponentura):

Průběžná oponentura.

3. Kalkulace úkolu (Podrobný rozpis nákladů /neinvestičních prostředků/ plánovaných na řešení úkolu. Zahrnuje přesně specifikované položky nákladů na řešení úkolu (např. hodinové náklady včetně režie a DPH nebo podrobnou hodinovou kalkulaci atd. Vhodné je konzultovat s ekonomickým útvarem organizace.):

Materiál

Certifikované referenční materiály používané jako reference. Čisté chemikálie pro spikování materiálů.	50 000,- Kč bez DPH	
--	---------------------	--

Provozní náklady, služby

Platby za analýzy subdodavatelům, které nelze řešit vlastními prostředky.	150 000,- Kč bez DPH	
Provozní/režijní náklady ICP-OES, laboratoř (plyny, voda, energie)	83 000,- Kč bez DPH	
Příprava, tisk závěrečné a dílčí zprávy úkolu; odměny oponentům a technickým/odborným poradcům, mzdové náklady zaměstnanců podílejících se na řešení úkolu (příprava materiálu, statistické zpracování dat atd.).	180 000,- Kč bez DPH	

Celkem plánované náklady:

463 000,- Kč bez 21% DPH	97 230,- Kč 21% DPH	560 230,-Kč vč. 21% DPH
--------------------------	---------------------	--------------------------------

4. Podíl státu na financování úkolu (v %):

70%, což odpovídá částce 392.000,- Kč

5. Praktické využití výsledků řešení (Jedná se o konkrétní využití výstupů řešení úkolu v praxi.):

Zjednodušení přípravy RM, větší výběr sledovaných analytů a jejich koncentračních rozmezí.

6. Předpokládané přínosy (technické, metrologické i ekonomické) výsledků řešení úkolu:

Zjednodušení přípravy RM, okamžitá reakce na změny legislativních požadavků v oblasti enviromentální analýzy. Využití při sledování kvality životního prostředí a splnění požadavků na metrologickou návaznost prováděných měření.

7. Spoluřešitelé úkolu (Uvést rozsah spolupráce-věcný a finanční. Je to přesně specifikovaná část řešení úkolu, kterou v rámci kooperace bude řešit spolupracující subjekt. Nutno stanovit rozsah prací, neinvestiční náklady na ně, kdo je bude provádět, jakou má odbornou způsobilost /čím ji je schopen doložit, reference apod.):

Nejsou.

8. Nároky na zahraniční cesty (uvést důvod, stát, organizaci, délku pobytu, finanční nároky, souvislost s úkolem atd.):

Bez nároku.

9. Prohlašujeme, že naše organizace současně nenárokovala, resp. nemá přislíbeny finanční prostředky na řešení úkolu ze státního rozpočtu prostřednictvím jiného orgánu státní správy, popř. nevyužila jiné, duplicitní cesty k financování navrhovaného úkolu.

10. Název, adresa, razítko a podpis statutárního zástupce:

ANALYTIKA, spol. s r.o.

Se sídlem Khodlova 1297/47

193 00 Praha p – Horní Počernice

Statutární zástupce: Ing. Robert Hlaváč, CSc.

V zastoupení: Ing. Daniela Weissarová (plná moc přiložena)