

Optimization of MSPD extraction technique in pesticide residue analysis in herbs

Optymalizacja ekstrakcyjnej techniki MSPD w analizie pozostałości pestycydów w ziołach

Bożena Łozowicka, Magdalena Jankowska, Piotr Kaczyński,
Ewa Rutkowska, Izabela Hrynko, Teresa Janowicz

Summary

The widespread use of pesticides to protect crops makes the control of residues has become a necessity. The aim of this work was optimization of matrix solid phase dispersion MSPD (matrix solid phase dispersion) extraction technique for qualitative and quantitative analysis of pesticide residues in herbs.

The study was carried out taking into account different parameters: sample weight, sorbent, extracting solvents and sorbents for clean-up step. The optimum parameters were 2 g of sample with 4 g of florisil as a sorbent. Extraction was carried out on column chromatography. The pesticides were extracted by acetone/methanol (9:1, v/v) mixture. For clean up SPE octadecyl columns (C₁₈ 500 mg/3 ml) were used. Optimized MSPD method was validated by fortification of lungwort (*Pulmonaria* L.) blank samples with 146 active substances. Under optimized conditions the obtained recoveries of fortified samples at three concentration levels (0.005; 0.1; 0.5 mg/kg) were in the range 75.3–107.5% with relative standard deviation RSD ≤ 19% for most of the analyzed compounds.

Key words: matrix solid phase dispersion, pesticide residue, gas chromatography, herbs

Streszczenie

Powszechne stosowanie środków ochrony roślin (ś.o.r.) w celu ochrony upraw zielarskich powoduje, iż kontrola ich pozostałości stała się koniecznością. Celem pracy była optymalizacja procesu przygotowania, ekstrakcji i oczyszczania z wykorzystaniem rozproszenia matrycy na fazie stałej MSPD (matrix solid phase dispersion) do jakościowego i ilościowego oznaczenia pozostałości pestycydów w ziołach.

Optymalizacji MSPD poddano różne parametry, tj. masę próbki, fazę rozpraszającą, eluenty i sorbent na etapie oczyszczania. Optymalne warunki otrzymano dzięki zastosowaniu 2 g próbki ziół z 4 g aktywowanego florisilu. Anality wyizolowano przy pomocy mieszaniny aceton/metanol (9:1, v/v). W dodatkowym etapie oczyszczania wykorzystano kolumny SPE wypełnione sorbentem oktaedecylowym C₁₈ (500 mg/3 ml). Walidację zoptymalizowanej metody wykonano poprzez wzbogacenie próbek miodunki (*Pulmonaria* L.) 146 substancjami aktywnymi. Średnie odzyski analizowanych związków na trzech poziomach stężeń (0,005; 0,1; 0,5 mg/kg) mieściły się w granicach 75,3–107,5% z względnymi odchyleniami standardowymi RSD ≤ 19%, poza kilkoma wyjątkami.

Słowa kluczowe: rozproszenie matrycy na fazie stałej, pozostałości pestycydów, chromatografia gazowa, zioła

Institut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Terenowa Stacja Doświadczalna
Laboratorium Badania Pozostałości Środków Ochrony Roślin
Chełmońskiego 22, 15-195 Białystok
B.Lozowicka@iorpib.poznan.pl; biuro@ior.bialystok.pl

Wstęp / Introduction

Powszechne stosowanie środków ochrony roślin (ś.o.r.) w celu ochrony upraw zielarskich powoduje, iż kontrola ich pozostałości stała się koniecznością. Zapewnienie bezpieczeństwa produktów ziołowych wymusza posiadanie certyfikatu badania zawartości pozostałości pestycydów.

Przygotowanie próbki jest kluczowym etapem w analizie pozostałości pestycydów w materiale roślinnym. W ostatnich latach badania są skoncentrowane na tych metodach, które pozwalają zredukować zużycie rozpuszczalnika organicznego, wyeliminować dodatkowy etap oczyszczania i zateżnienia przed końcową analizą chromatograficzną.

Szczególnie skomplikowane ze względu na obecność olejków eterycznych, lipidów i barwników są matryce ziołowe. W celu eliminacji interferentów i uniknięcia efektu matrycy niezbędne jest zastosowanie metody selektywnej.

Celem niniejszej pracy było zoptymalizowanie procesu przygotowania, ekstrakcji i oczyszczania próbek materiału zielarskiego z wykorzystaniem rozproszenia matrycy na fazie stałej MSPD (matrix solid phase dispersion). MSPD jest powszechnie stosowana do ekstrakcji licznych pestycydów z różnorodnych matryc, tj. owoców i warzyw (Morzycka 2002; Barker 2007; Łozowicka i wsp. 2012), soków (Hu i wsp. 2004; Łozowicka i wsp. 2010), produktów zbożowych (Michel i Buszewski 2003; Dorea i Sobrinho 2004), pszczoł (Fernandez i wsp. 2002), produktów olejnych (Ferrer i wsp. 2005; Lehotay i wsp. 2005; Łozowicka i wsp. 2009) czy gleby (Andreu i Pico 2004). Jednakże, niewiele jest doniesień literaturowych dotyczących aplikacji MSPD jako metody przygotowania próbek do analizy ziół.

Prezentowana praca omawia możliwości zastosowania zoptymalizowanej MSPD do jakościowego i ilościowego oznaczenia pozostałości pestycydów w ziołach, a także zastosowania jej do rutynowych badań.

Materiały i metody / Materials and methods

Materiał do badań stanowiły próbki miodunki (*Pulmonaria* L.) wolne od pozostałości ś.o.r., które zmielono w młynku w celu uzyskania jednorodnego proszku.

Przygotowanie próbki do badań – ekstrakcja i izolacja

2,0 g zmielonej próbki ziół z dodatkiem 4,0 g fazy rozpraszającej (florisilu) utarto w moździerzu tłuczkiem w celu uzyskania homogenicznej, sypkiej mieszanki. Mieszanke próbki i fazy rozpraszającej naniesiono na uprzednio przygotowaną kolumnę chromatograficzną zawierającą zwitek waty bawełniano-wiskozowej, bezwodny siarczan sodu (~5,0 g) i żel krzemionkowy (~2,5 g). Anality ze złożonej matrycy ziołowej wyizolowano przy pomocy 25 ml mieszaniny rozpuszczalników – aceton/metanol (9:1, v/v). Otrzymany eluat zateżniono na wyparce próżniowej, a suchą pozostałość rozpuszczono w 2 ml mieszaniny heksan/aceton (9:1, v/v). Tak uzyskany ekstrakt poddano dodatkowemu oczyszczaniu.

Oczyszczanie próbki

0,5 ml ekstraktu otrzymanego w wyniku ekstrakcji przepuszczono przez kolumnkę SPE wypełnioną niepolarnym sorbentem – żelem oktadecylosilanowym C₁₈ (500 mg/3 ml), anality eluowano 15 ml mieszaniny heksan/eter etylowy/aceton (1:2:2, v/v/v). Uzyskany eluat zateżniono i przeniesiono do fiolki, uzyskując stężenie końcowe: 0,5 g próbki w 2 ml ekstraktu.

Test odzysku

Rozdrobniony susz (2,0 g) wzbogacono mieszaninami wzorców 146 substancji aktywnych na trzech poziomach stężeń: 0,005; 0,1; 0,5 mg/kg. Po dodaniu wzorców próbkę pozostawiono na około 30 minut, po czym postępowano zgodnie z podanym opisem metody i wykonano analizę instrumentalną, stosując technikę chromatografii gazowej.

Odzysk obliczono według wzoru:

$$F = \frac{c_1}{c_2} \times 100\%$$

gdzie:

c₁ – stężenie badanej substancji w próbce wzbogaconej obliczone na podstawie wysokości piku [mg/kg],

c₂ – rzeczywiste stężenie wzorca w próbce [mg/kg],

F – odzysk badanej substancji [%].

Wynik uznano za poprawny, gdy odzysk zawierał się w granicach 70–120% (SANCO 2012). Akceptowano również wyniki dla związków z odzyskami 40–130% charakteryzujących się dobrymi parametrami walidacyjnymi (precyzja, względne odchylenie standardowe RSD).

Analiza chromatograficzna

Analizę pozostałości pestycydów przeprowadzono na chromatografii gazowej Agilent HP 7890 A wyposażonym w autosampler oraz dwa detektory: azotowo-fosforowy i wychwyty elektronów (GC-NPD/ECD). Rozdzielenie analitów przeprowadzono na kolumnie HP-5 (30 m × 0,32 mm × 0,50 μm film); program temperatur: temperatura początkowa 120°C → 16°C/min → 190°C → 230°C → 8°C/min → 285°C → 18°C/min → 13,57 min; łączny czas analizy – 26 minut.

Schemat przygotowania próbki ziół do badań na pozostałości ś.o.r. techniką MSPD przedstawia rysunek 1.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Optymalizacji MSPD poddano różne parametry, tj. masę próbki, rodzaj fazy rozpraszającej, rozpuszczalnik organiczny do elucji i sorbenty na etapie oczyszczania. Optymalne warunki ekstrakcji MSPD zestawiono w tabeli 1.

Badane pestycydy charakteryzowały się zróżnicowaną budową chemiczną i mechanizmem działania: fungicydy (F), insektycydy (I), akarycydy (A) i herbicydy (H) (tab. 2).

Przygotowanie próbki do badań – optymalizacja

a) masa próbki

Pierwszym badanym parametrem optymalizacyjnym była masa próbki. Eksperyment przeprowadzono wyko-

Tabela 1. Parametry optymalizacji metody MSPD

Table 1. Optimization factors of MSPD method

Parametr Factor	Ekstrakcja MSPD – MSPD extraction	
	eksperymentalne warunki experimental conditions	optymalne warunki optimum conditions
Masa próbki – Sample weight	2 g, 5 g, 10 g	2 g
Rozpuszczalnik (stosunek, objętość) Solvent (ratio, volume)	10–50 ml acetonitryl 10–50 ml acetonitrile 25 ml aceton/metanol (2:1, 9:1, v/v) 25 ml acetone/methanol (2:1, 9:1, v/v) 50–100 ml heksan/eter etylowy (1:1, 1:2, 2:1, v/v) 50–100 ml hexane/diethyl ether (1:1, 1:2, 2:1, v/v) 10–50 ml heksan/acetone (8:2, v/v) 10–50 ml hexane/acetone (8:2, v/v) 10–50 ml heksan/acetone/eter etylowy (1:1:1, 1:2:2, 2:2:1, v/v/v) 10–50 ml hexane/acetone/diethyl ether (1:1:1, 1:2:2, 2:2:1, v/v/v)	25 ml aceton/metanol (9:1, v/v) 25 ml acetone/methanol (9:1, v/v)
Faza rozpraszająca aktywowana (wysoka temperatura) dezaktywowana (dodatek odpowiedniej ilości wody) Disperse phase activated (high temperature) deactivated (addition of appropriate volume of water)	florisil, żel krzemionkowy (aktywowany w temperaturze 130–600°C, dezaktywowany 5–15% wody) florisil, silica gel (activated at 130–600°C, deactivated 5–15% of water)	florisil aktywowany w temperaturze 600°C florisil activated at 600°C
Oczyszczanie i adsorbent Clean-up and sorbent	adsorpcyjna chromatografia kolumnowa z bezwodnym siarczanem sodu, żelem krzemionkowym lub florisilem (aktywowane w temp. 600°C) column chromatography with anhydrous sulfate, silica gel or florisil (activated at 600°C) SPE kolumnienka C ₁₈ (500 mg/3 ml lub 1 g/6 ml) SPE column C ₁₈ (500 mg/3 ml lub 1 g/6 ml)	SPE kolumnienka C ₁₈ (500 mg/3 ml) SPE column C ₁₈ (500 mg/3 ml)

Tabela 2. Parametry walidacyjne

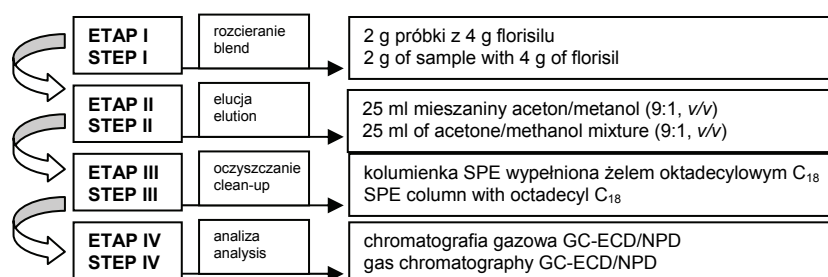
Table 2. Validation parameters

Mechanizm działania Mode of action	Substancja aktywna Active substance	Średni odzysk Mean recovery [%]	Względne odchylenie standardowe Relative standard deviation RSD [%]
1	2	3	4
A (4)	bromopropylate; <i>dicofol</i> ; hexythiazox; pyridaben	84,6–96,2	3,1–10,4
F (55)	azaconazole; azoxystrobin; benalaxyl; bitertanol; boscalid; bromuconazole; bupirimate; <i>captan</i> ; chlorothalonil; cyprodinil; dichlofluanid; dichloran; difenoconazole; <i>dimethomorph</i> ; dimoxystrobin; diphenylamine; epoxiconazole; fenamidon; <i>fenarimol</i> ; fenbuconazole; fenchlorphos; fenhexamid; <i>fenpropimorph</i> ; fludioxonil; <i>fluquinconazole</i> ; flusilazole; <i>folpet</i> ; hexaconazole; imazalil; iprodione; kresoxim-methyl; mepanipyrim; metacriphos; metconazole; metalaxyl; myclobutanyl; oksadixyl; penconazole; prochloraz; procymidone; propiconazole; pyraclostrobin; pyrimethanil; quinoxifen; quintozone; tebuconazole; tebufenpyrad; <i>tecnazene</i> ; tetraconazole; tolclofos-methyl; tolylfluanid; triadimefon; triadimenol; trifloxystrobin; vinclozolin	75,3–104,1	9,7–17,5

1	2	3	4
H (15)	atrazine; chlorpropham; <i>dichlobenil</i> ; fluzifop-p-butyl; <i>lenacil</i> ; metribuzin; napropamide; <i>nitrofen</i> ; pendimethalin; prometryne; propachlor; propham; propyzamide; simazine; trifluralin	80,0–99,5	5,7–13,4
I (72)	acetamiprid; acrinathrin; aldrine; alpha-cypermethrin; <i>alpha-endosulfan</i> ; alpha-HCH; azinphos-ethyl; azinphos-methyl; beta-cyfluthrin; <i>beta-endosulfan</i> ; beta-HCH; bifenthrin; buprofezin; carbaryl; carbofuran; chlorfenvinphos; chlorpyrifos; chlorpyrifos-methyl; coumaphos; cyfluthrin; cypermethrin; cyproconazole; deltamethrin; diazinon; <i>dichlorvos</i> ; dieldrin; dimethoate; <i>endosulfan-sulfate</i> ; endrin; esfenvalerate; ethion; ethoprophos; fenazaquin; fenitrothion; fenpropathrin; fenvalerate; fipronil; formothion; gamma-HCH (lindane); HCB; heptachlor; heptachlor-epoxide; heptenophos; <i>imibenconazole</i> ; <i>indoxacarb</i> ; isofenphos; lambda-cyhalothrin; malathion; mecarbam; methidathion; methoxychlor (DMDT); o,p'-DDT; p,p'-DDD; p,p'-DDE; p,p'-DDT; parathion-ethyl; parathion-methyl; permethrin; phosalone; phosmet; pirimicarb; pirimiphos; pirimiphos-methyl; profenofos; propoxur; pyrazofos; pyriproxyfen; quinalphos; tetradifon; tetrachlorvinfos; <i>triazophos</i> ; zeta-cypermethrin	77,4–107,5	8,6–19,0

A – akarycyd – acaricide; F – fungicyd – fungicide; H – herbicyd – herbicide; I – insektycyd – insecticide

kursywa: substancje aktywne z odzyskami < 70% i > 120% – *italics*: active substance with recoveries < 70% and > 120%



Rys. 1. Schemat przygotowania próbki ziół
Fig. 1. Scheme of herbal sample preparation

rzystując trzy naważki próbki ziół: 2, 5 i 10 g. Ocena poprawności metody wykazała, iż najmniejsza – 2 g naważka spełniła kryteria metody (tab. 1).

b) faza rozpraszająca

Do badań wykorzystano dwa rodzaje sorbentów: aktywowane w podwyższonej temperaturze i dezaktywowane poprzez dodatek wody, zróżnicowane pod względem granulacji: florisil 60–100 mesh i żel krzemionkowy 230–400 mesh. Zastosowanie dezaktywowanych sorbentów: 15, 10 i 5% dodatkiem wody, dało odzyski poniżej 40% dla większości analizowanych związków. Ponadto podwyższenie temperatury aktywacji sorbentów z 130 do 600°C pozwoliło na uzyskanie odzysków mieszczących się w akceptowalnych granicach 70–120%. Optymalne warunki ekstrakcji otrzymano dzięki zastosowaniu 4 g florisilu (aktywowanego w temperaturze 600°C), który zaadoptowano w pracy do izolacji pestycydów.

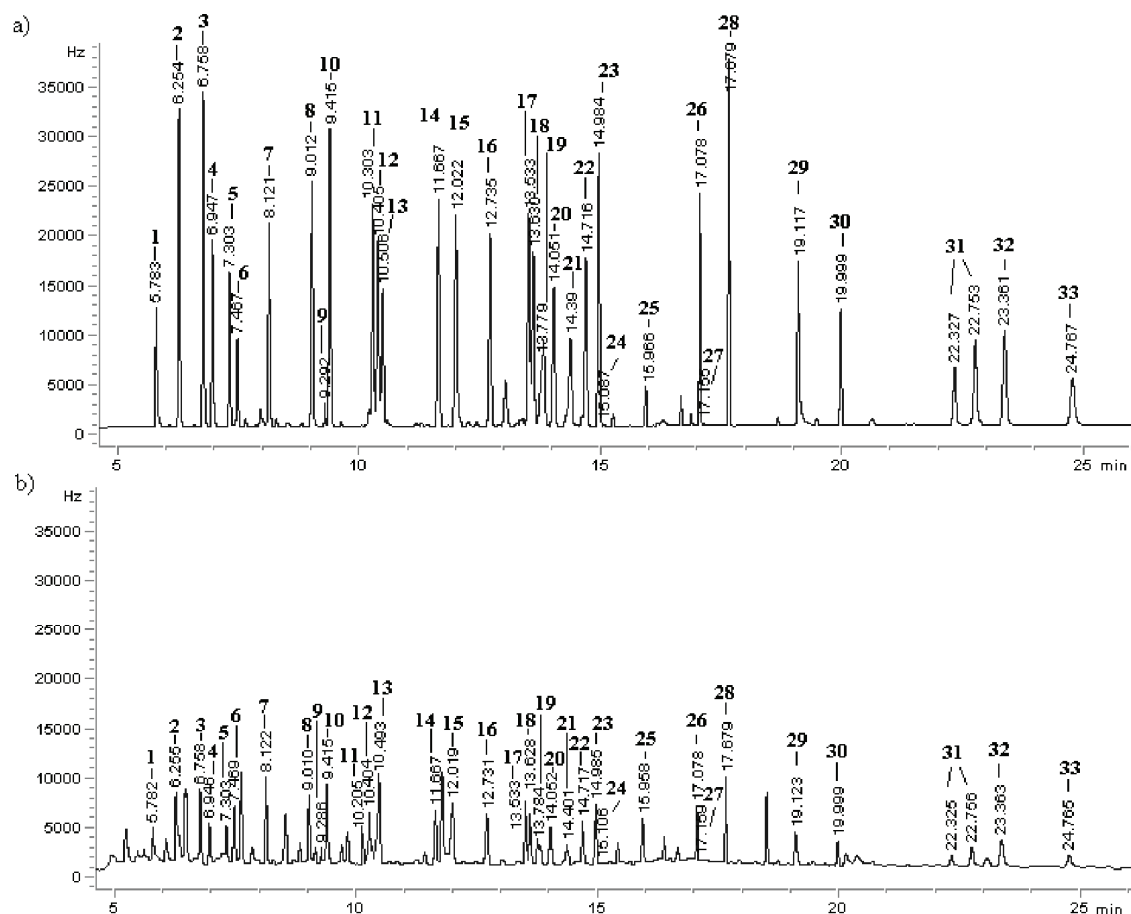
c) rozpuszczalnik do ekstrakcji

Ze względu na analizę szerokiego spektrum związków o zróżnicowanych właściwościach chemicznych, dobór rozpuszczalnika ekstrahującego był zadaniem trudnym. Przeprowadzono szereg eksperymentów, porównując efektywność wymywania badanych analitów i selektyw-

ność procesu ekstrakcji z zastosowaniem różnych objętości rozpuszczalników i ich mieszanin poprzez ocenę odzysku. Przetestowano wiele kombinacji układów eluujących bazujących na rozpuszczalnikach o zróżnicowanej polarności, tj. heksan, eter etylowy, aceton, acetonitryl i metanol (uszeregowane według wzrastającej polarności) (tab. 1). Optymalne wyniki ekstrakcji uzyskano poprzez zastosowanie mieszaniny aceton/metanol (9:1, v/v), która ograniczyła wyodrębnianie substancji interferujących z matrycy. Eksperyment wykazał, że 25 ml tej mieszaniny było wystarczające do wyekstrahowania badanych analitów.

d) oczyszczanie

Ze względu na niewystarczające usunięcie interferentów na etapie ekstrakcji konieczne było przeprowadzenie dodatkowego etapu oczyszczania. Do tego wykorzystano technikę adsorpcyjnej chromatografii kolumnowej i ekstrakcji do fazy stałej (SPE – solid-phase extraction). W tym celu testowano kilka adsorbentów (florisil, żel krzemionkowy, żel krzemionkowy modyfikowany grupami oktadecylowymi C₁₈). Korzystnej separacji analitów dokonano poprzez przepuszczenie ekstraktu próbki przez złożę sorbentu umieszczonego w kolumnie SPE wypełnionej niepolarnym sorbentem oktadecylowym (500 mg/3 ml).



Rys. 2. Chromatogram:

- a) wybranej mieszaniny wzorców (1. propachlor; 2. trifluralina; 3. alfa-HCH; 4. HCB; 5. beta-HCH; 6. gamma-HCH; 7. chlorotalonil; 8. chloropiryfos metylowy; 9. heptachlor; 10. fenclorfos; 11. aldryna; 12. chloropiryfos etylowy; 13. dikofol; 14. heptachlor epoksyd; 15. procymidon; 16. alfa-endosulfan; 17. pp'-DDE; 18. dieldryna; 19. mychlobutanil; 20. krezoksym metylowy; 21. endryna; 22. beta-endosulfan; 23. pp'-DDD; 24. op'-DDT; 25. pp'-DDT; 26. bifentryna; 27. DMDT; 28. foza-lon; 29. prochloraz; 30. boskalid; 31. deltametryna; 32. azoksyntrobina; 33. imibenkonazol)
- b) próbki miodunki wzbogaconej tą mieszaniną wzorców

Fig. 2. Chromatogram of:

- a) selected standard mixture (1. propachlor; 2. trifluralin; 3. alpha HCH; 4. HCB; 5. beta HCH; 6. gamma-HCH; 7. chloro-thalonil; 8. chlorpyrifos methyl; 9. heptachlor; 10. fenclorphos; 11. aldrine; 12. chlorpyrifos; 13. dicofol; 14. heptachlor epoxide; 15. procymidone; 16. alpha-endosulfan; 17. pp'-DDE; 18. dieldrin; 19. myclobutanyl; 20. krezoxim-methyl; 21. en-drin; 22. beta-endosulfan; 23. pp'-DDD; 24. op'-DDT; 25. pp'-DDT; 26. bifenthrin; 27. DMDT; 28. phosalone; 29. pro-chloraz; 30. boscalid; 31. deltamethrin; 32. azoxystrobin; 33. imibenconazole)
- b) lungwort sample fortified with this standard mixture

Walidacja metody

Walidację zoptymalizowanej metody przeprowadzono w oparciu o przewodnik SANCO (SANCO 2012). Dokładność i precyzję metody wyznaczono na podstawie analizy próbek wzbogaconych na trzech poziomach stężeń: 0,005; 0,10; 0,50 mg/kg. Wyniki uzyskane w procesie walidacji zestawiono w tabeli 2. Wykonane krzywe kalibracyjne dla analizowanych substancji aktywnych charakteryzowały się dobrą liniowością (współczynniki korelacji liniowej $R^2 \geq 0,996$) w analizowanym zakresie stężeń.

Prezentowana metoda oznaczania ś.o.r. w ziołach charakteryzuje się dobrymi parametrami walidacyjnymi (względne odchylenia standardowe RSD 3,1–19%). Średnie odzyski analizowanych związków (tab. 2) mieściły się w granicach 75,3–107,5% w badanym zakresie stężeń 0,005–0,50 mg/kg. Wyjątek stanowiło 18 związków:

z akarycydów – dikofol, fungicydów – dimetomorf, fenari-mol, fenpropimorf, fluchinkonazol, folpet, kaptan, tech-nazen, herbicydów – dichlobenil, lenacyl, nitrofen oraz insektycydów – alfa-endosulfan, beta-endosulfan, dichlor-fos, endosulfan-siarczan, imibenkonazol, indoksakarb, tria-zofos (tab. 2).

Analiza GC

Wyznaczenie szeregu parametrów pozwoliło na stwo-rzenie optymalnej metody wielopozostałościowej MRM (ang. multi residue method) oznaczania pestycydów w ziołach.

Przykładowy chromatogram wybranej mieszaniny wzorców 33 substancje aktywne oraz próbki miodunki wzbogaconej tą mieszaniną uzyskany przy pomocy detekcji EC przedstawia rysunek 2. Czas analizy chroma-

tograficznej wynosił 26 minut w wyniku, czego uzyskano odpowiednie rozdzielenie i intensywność pików.

Opracowana metoda jest szybka, prosta, tania i przyjazna zarówno analitykowi, jak i środowisku, ponieważ nie wymaga stosowania dużych ilości toksycznych rozpuszczalników organicznych.

Wnioski / Conclusion

1. Zastosowanie techniki MSPD z optymalnymi parametrami, tj. masą próbki, rodzajem sorbentu oraz polarnościami eluentów, umożliwiło opracowanie wielopozostałościowej metody oznaczania pozostałości pestycydów w materiale zielarskim.
2. Zoptymalizowana metoda oznaczania pestycydów w ziołach charakteryzuje się dobrymi parametrami walidacyjnymi, przez co spełnia wymagania stawiane analizie pozostałości ś.o.r.
3. Ważnym elementem opracowania metody w celu wyodrębnienia substancji aktywnych był dobór właściwych proporcji masy próbki, fazy rozpraszającej oraz rozpuszczalnika organicznego. W trakcie prowadzonych badań stwierdzono, iż najbardziej optymalna była dwukrotnie większa masa adsorbentu (4,0 g) w stosunku do próbki (2,0 g) przy ekstrakcji 25 ml mieszaniny aceton/metanol (9:1, v/v).
4. Metodę wdrożono do rutynowych badań pozostałości ś.o.r. w próbkach ziół.

Literatura / References

- Andreu V., Pico Y. 2004. Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *Trends Anal. Chem.* 23 (10–11): 772–789.
- Barker S.A. 2007. Matrix solid phase dispersion (MSPD). *J. Biochem. Biophys. Methods* 70 (2) 151–162.
- Dorea H.S., Sobrinho L.L. 2004. Analysis of pesticide residues in rice using matrix solid-phase dispersion (MSPD). *J. Braz. Chem. Soc.* 15 (5): 690–694.
- Fernandez M., Pico Y., Manes J. 2002. Rapid screening of organophosphorus pesticides in honey and bees by liquid chromatography–mass spectrometry. *Chromatographia* 56 (9–10): 577–583.
- Ferrer C., Gomez M.J., Garcia-Reyes J.F., Ferrer I., Thurman E.M., Fernandez-Alba A.R. 2005. Determination of pesticide residues in olives and olive oil by matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1069 (2): 183–194.
- Hu X.Z., Chu X.G., Yu J.X., Li J., Huang X., Lin Y.F., Wang P. 2004. Determination of 22 organochlorine and 15 pyrethroid pesticide residues in apple juice by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography–mass spectrometry. *Fenxi Ceshi Xuebao* 23 (47): 38–42.
- Lehotay S.J., Mastovska K., Yun S.J. 2005. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrices. *J. AOAC Int.* 88: 630–638.
- Łozowicka B., Kaczyński P., Rutkowska E., Masłowska M. 2009. Determination of pesticide residues in oilseed rape by gas chromatography. *Chem. Anal.* 54 (3): 367–389.
- Łozowicka B., Jankowska M., Rutkowska E., Kaczyński P. 2010. Pozostałości fungicydów i insektycydów w owocach jagodowych i sokach z owoców jagodowych. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 50 (3): 1445–1451.
- Łozowicka B., Jankowska M., Kaczyński P. 2012. Pesticide residues in *Brassica* vegetables and exposure assessment of consumers. *Food Control* 25 (2): 561–575.
- Michel M., Buszewski B. 2003. Isolation and determination of carbendazim residue from wheat grain by matrix solid-phase dispersion and HPLC. *J. Sep. Sci.* 26: 1269–1272.
- Morzycka B. 2002. Determination of organophosphorus pesticides in fruits and vegetables by matrix solid-phase dispersion method. *J. Plant. Prot. Res.* 42 (1): 17–22.
- SANCO/12495/2009. 2012. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed, 14 pp.