

استفاده از روش کچرز اصلاح شده برای استخراج حشره کش ایמידاکلوپراید از میوه خرما

آسیه مددی^۱، زیبا حسین پور^۱، زهرا طالب پور^{۱*}، غزاله عابدی^۲، وحیده مهدوی^۳

۱- گروه شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه الزهراء^(س)، تهران، ایران

* نویسنده مسئول (ztalebpour@alzahra.ac.ir)

۲- مرکز تحقیقات آنالیز و بیوانالیز، دانشگاه الزهراء^(س)، تهران، ایران

۳- بخش تحقیقات آفت کش ها، مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (تات)، تهران، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۵
تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۱/۰۸/۱۹

در این پژوهش، از روش آماده سازی کچرز برای استخراج باقی مانده حشره کش ایמידاکلوپراید از خرما و اندازه گیری آن با تکنیک کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شد. به این منظور ابتدا با مقایسه نتایج به دست آمده از روش کچرز مرسوم با روش های کچرز بافری سیترات و بافری استات، مشخص شد روش کچرز مرسوم برای حذف بافت خرما نسبت به دو روش دیگر مؤثرتر است. سپس اثر نوع و مقدار جاذب های استفاده شده در مرحله استخراج فاز جامد پختی در روش کچرز مرسوم، بر میزان پاک سازی بافت خرما و کارایی استخراج ترکیب ایמידاکلوپراید بررسی گردید. نتایج نشان دادند استفاده از نانولوله های کربنی تک دیواره به صورت ویژه باعث حذف مناسب بافت خرما شده و در عین حال کارایی استخراج ترکیب هدف را به طور قابل ملاحظه ای کاهش نمی دهد. به منظور اندازه گیری کمی حشره کش ایמידاکلوپراید در میوه خرما در شرایط اختصاصی به دست آمده، منحنی درجه بندی در محدوده ۳۶ تا ۹۰۰ میکروگرم بر لیتر با ضریب اندازه گیری ۰/۹۹۸۵ و حد تشخیص ۱۱ میکروگرم بر لیتر به دست آمد. صحت و دقت روش با محاسبه بازیابی و انحراف استاندارد نسبی در ۱ روز و بین ۵ روز محاسبه شد. نتایج، بازیابی ۹۳ تا ۱۰۲ درصد و انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۵ درصد را نشان دادند.

واژه های کلیدی

اثر بافت
آماده سازی نمونه
آنالیز باقی مانده آفت کش
کچرز اصلاح شده
نانولوله های کربنی تک دیواره



مقدمه

و ذخیره انباری می توانند کیفیت غذایی، بهداشتی و بازارپسندی خرما را کاهش دهند. مهم ترین آفات باغی مانند کنه، زنجربک، کرم میوه خوار (Saadati, 2020) و انباری همچون شپشه دنداندار (Ahmed et al., 2022) و شب پره هندی (Latifian & Rad, 2022)، می توانند باعث تغییر رنگ طبیعی میوه به زرد کمرنگ یا خاکستری، ترک خوردگی پوست خرما و خروج آب از آن شده، کیفیت ترک خوردگی پوست خرما و خروج آب از آن شده، کیفیت میوه خرما را از بین برده و منجر به زیان اقتصادی شوند. زنجره یا حشره دوباس یکی از مخرب ترین آفات درخت خرماست که پراکنده گی آن از قاره آسیا تا آفریقا بوده و در ایران نیز به مهم ترین آفت این درخت تبدیل شده است.

خرما^۱ یکی از مهم ترین و قدیمی ترین محصولات کشاورزی در مناطق خشک دنیاست و بیشترین تولید را در کشورهای خاورمیانه دارد (Hilary et al., 2020). در این میان، ایران در بین ۱۰ کشور برتر تولیدکننده خرما معرفی شده است (Allami et al., 2020). در حال حاضر میوه خرما به عنوان یک محصول تجاری با ارزش در بازار بین المللی مطرح است (Maqsood et al., 2020). عوامل زیادی همچون هجوم آفات در دو مرحله زمانی تولید باغی

¹ *Phoenix dactylifera* L.

کروماتوگرافی مایع-طیف‌سنجی جرمی متوالی (LC-^{۱۰}) MS/MS)، (Abdallah *et al.*, 2018) و کروماتوگرافی مایع با کارایی فوق بالا-طیف‌سنجی جرمی متوالی (UHPLC-^{۱۱}) MS/MS)، (Eslami *et al.*, 2021) برای آنالیز باقی‌مانده حشره‌کش IMID به‌کاربرده شده است.

به‌منظور توسعه روش‌های آنالیز مقادیر بسیار کم باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در بافت‌های پیچیده و به‌دست‌آوردن نتایج آنالیزی قابل اعتماد، فرایند آماده‌سازی نمونه مرحله حیاتی است (Watanabe, 2021). در مورد میوه خرما نیز به‌دلیل پیچیدگی بافت آن از یکسو و غلظت پایین حشره‌کش IMID در آن ازسوی دیگر، استفاده از یک روش آماده‌سازی نمونه اجتناب‌ناپذیر است. تاکنون برای آنالیز آفت‌کش‌ها در خرما روش استخراج با سیال فوق بحرانی (SFE^{۱۲}) و استخراج با حلال میکروویو (MSE^{۱۳}) گزارش شده است (El-Saeid & Al-Dosari, 2010). به‌کارگیری روش SFE محدودیت‌هایی را به‌همراه دارد، همچون امکان استخراج آنالیت‌های غیرقطبی و یا با قطبیت بسیار پایین و لزوم وجود دستگاه مربوطه، درحالی‌که روش MSE برای آنالیت‌های غیرقطبی و بسیار فرار گزینش‌پذیر نیست و منجر به استخراج سایر ترکیبات مزاحم می‌شود (Leong *et al.*, 2020). به‌تازگی از روش کچرز^{۱۴} برای استخراج آفت‌کش‌ها از خرما استفاده شده است (Abbassy *et al.*, 2017; Abdallah *et al.*, 2018; Abdel Ghani *et al.*, 2018; Eslami *et al.*, 2021; Khezri *et al.*, 2022; Mahdavi *et al.*, 2021; Qayyum *et al.*, 2021). کچرز که ترکیبی از روش استخراج مایع-مایع (LLE^{۱۵}) و پاک‌سازی با فاز جامد پخشی (d-SPE^{۱۶}) است، نسبت به سایر روش‌ها، ویژگی‌های قدرتمندی از جمله انعطاف‌پذیری، سادگی و کارایی بالا دارد (Hakami *et al.*, 2021). برای اولین بار Anastassiades و همکاران (۲۰۰۳) این روش را برای آنالیز بقایای آفت‌کش‌ها در میوه‌وسبزی‌ها مطرح کردند و تاکنون گزارش‌های متعددی منتشر شده است که در آنها علاوه بر روش کچرز مرسوم، از دو نسخه دیگر آن با نام‌های کچرز بافری سیترات و استات نیز استفاده شده است (Barbieri *et al.*, 2019; Lawal *et al.*, 2018).

پوره‌ها و بالغین حشره با مکیدن شیره برگ‌ها و دفع عسلک به‌طور مستقیم و غیرمستقیم به سلامت درختان، انسان، اقتصاد و محیط‌زیست آسیب می‌رسانند (Al Kindi *et al.*, 2021; Dehghan *et al.*, 2019). برای جلوگیری از این گونه ضررها، استفاده از آفت‌کش‌ها امری متداول است. گروهی از پرمصرف‌ترین و البته سمی‌ترین آفت‌کش‌ها در جهان، نئونیکوتینوئیدها^۱ هستند که کاربرد زیادی در کشاورزی دارند (Webb *et al.*, 2020). ایمیداکلوپراید (IMID^۲)، رایج‌ترین حشره‌کش متعلق به این خانواده است که بر طیف وسیعی از آفات تأثیر می‌گذارد (Paramasivam *et al.*, 2014). استفاده گسترده از این حشره‌کش از یکسو و حلالیت و پایداری به نسبت زیاد آن در آب ازسوی دیگر، سبب افزایش تماس عموم مردم با آن می‌شود. در اثر نفوذ این حشره‌کش به پوست انسان، سمیت سلولی و آسیب دئوکسی‌ریبونوکلیک اسید (DNA^۳) و نوروزنز^۴ ایجاد می‌گردد (Lu *et al.*, 2022; Patil *et al.*, 2014).

از آنجاکه در تولید و صادرات خرما لازم است استانداردهای بین‌المللی گیاه‌پزشکی در زمینه آلودگی به آفت‌کش‌ها رعایت شود، تعیین باقی‌مانده این مواد سمی در خرما برای ورود آن به چرخه جهانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Taghizadeh *et al.*, 2021). برای آفت‌کش‌ها، پارامتر بیشینه مقدار باقی‌مانده (MRL^۵) به‌عنوان شاخص سلامتی مطابق سیاست هر کشوری تعریف می‌شود. طبق گزارش سازمان ایمنی مواد غذایی اروپا (EFSA^۶) مقدار ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای حشره‌کش IMID اعلام شده است. در کشورهای با سرانه بالای مصرف خرما بهتر است این مقادیر سخت‌گیرانه‌تر انتخاب شود (Abdallah *et al.*, 2018). اغلب تکنیک‌های کروماتوگرافی مانند کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC^۷)، کروماتوگرافی گازی (GC^۸) و الکتروفورز موئینه (CE^۹) برای آنالیز IMID در میوه‌ها، سبزی‌ها، موم زنبورعسل و چای استفاده شده است (Li *et al.*, 2019; Lu *et al.*, 2014; Sánchez-Hernández *et al.*, 2022). در خرما نیز، روش‌های HPLC (Abbassy *et al.*, 2017)

¹⁰ Liquid chromatography tandem mass spectrometry

¹¹ Ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

¹² Supercritical fluid extraction

¹³ Microwave solvent extraction

¹⁴ Quechers

¹⁵ Liquid liquid extraction

¹⁶ Dispersive- solid phase extraction

¹ Neonicotinoid

² Imidacloprid

³ Deoxyribonucleic acid

⁴ Neurogenesis

⁵ Maximum residue limits

⁶ European food safety authority

⁷ High performance liquid chromatography

⁸ Gas chromatography

⁹ Capillary electrophoresis

ساخت آلمان) تهیه شدند. سدیم کلراید و سدیم استات (شرکت RFCL limited، ساخت هند)، دی سدیم سترات (شرکت Merck، ساخت آلمان)، تری سدیم سولفات و منیزیم سولفات بدون آب (شرکت Scharlau، ساخت اسپانیا) و اسید استیک گلاسیال (شرکت آرمان سینا، ساخت ایران) همگی با درجه خلوص تجزیه ای خریداری شدند. همچنین PSA (شرکت Agilent، ساخت آمریکا)، C₁₈ (شرکت Allentown، ساخت آمریکا) و متانول و استونیتریل با درجه خلوص HPLC (شرکت Chem-Lab NV، ساخت بلژیک)، خریداری شدند. آب مورد استفاده در طول کار توسط سیستم تصفیه آب (شرکت Milli-Q، ساخت فرانسه) تهیه شد.

نمونه های خرما

نمونه های خرمایی که با هماهنگی های صورت گرفته حشره کش IMID برای آن استفاده نشده بود، از نخلستان های شهرستان بم تهیه شد. همچنین چندین بسته خرما مضافتی خریداری شده از سوپرمارکت های محلی برای بررسی انتخاب پذیری روش مورد آنالیز قرار گرفتند. از هر بسته، ۸ تا ۱۰ عدد خرما برداشته و بدون شسته شدن، هسته گیری و سپس گوشت و پوست خرما در مخلوط کن (شرکت Moulinex، ساخت فرانسه) با مقدار مناسبی از آب به مدت ۲ دقیقه همگن شدند. ۵ گرم از مخلوط همگن به دست آمده به فالكون های پلی پروپیلن منتقل گردید و پس از بستن درب آنها، تا زمان آنالیز در فریزر (شرکت ژال تجهیز، ساخت ایران) و در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد (حداکثر به مدت ۶ ماه) نگهداری شدند.

دستگاه وری

در این پژوهش از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، (شرکت Kontron، ساخت سوئیس) به همراه پمپ مدل ۴۲۰، تزریق کننده دستی با حجم تزریق ۲۰ میکرولیتری، آشکارساز UV/VIS مدل ۴۳۲ تنظیم شده در طول موج ۲۷۰ نانومتر و نرم افزار ChromGate نسخه ۳.۳.۲ برای ثبت کروماتوگرام ها و جمع آوری اطلاعات استفاده شد. جداسازی روی یک ستون C₁₈ (شرکت Phenomenex، ساخت آمریکا) به طول ۲۵ سانتی متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی متر و ضخامت فیلم فاز ساکن ۵ میکرومتر انجام شد. در نهایت IMID به همراه استامی پراید به عنوان استاندارد داخلی، با استفاده از فاز متحرک حاوی

در تعدادی از گزارش های ارائه شده بخصوص نمونه هایی با بافت بسیار پیچیده، روش های مبتنی بر کچرز با جاذب های مورد استفاده در نسخه های اولیه، نتایج ایده آل و قابل قبولی نشان ندادند (Wang, Duan, Fan, Lin, et al., 2021; Wang, Duan, Fan, Zhang, et al., 2021). در نتیجه جاذب های جدیدی معرفی شدند که کارایی بیشتری در حذف مزاحمت های بافت داشته باشند. نانولوله های کربنی چنددیواره (MWCNT^۱)، به دلیل داشتن مساحت سطح ویژه بالا، الکترون های پای فراوان و ساختارهای لایه ای و توخالی، گزینه بسیار مناسبی برای این منظور هستند (Ma et al., 2019). MWCNT به تنهایی و یا در ترکیب با جاذب های مرسوم مانند آمین نوع اول و دوم (PSA^۲)، C₁₈ و کربن سیاه گرافیتی، برای آنالیز IMID در محصولات مختلف کشاورزی از جمله سیب زمینی، گندم و بادام زمینی (Qin et al., 2015; Zhao et al., 2013) استفاده شده است. اما با توجه به بررسی های انجام شده تاکنون گزارشی در خصوص استفاده از نانولوله های کربنی تک دیواره (SWCNT^۳) در آنالیز آفت کش ها در محصولات غذایی مختلف از جمله خرما به چاپ نرسیده است. در این تحقیق برای آنالیز حشره کش IMID در خرما از روش کچرز جفت شده با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با آشکارساز فرابنفش (UV^۴) استفاده شد. به منظور دستیابی به بیشترین کارایی پاک سازی و استخراج، پس از مقایسه کارایی سه نسخه کچرز مرسوم، برای اولین بار جاذب SWCNT در مرحله d-SPE به کار گرفته شد. اعتبارسنجی روش با رسم منحنی های درجه بندی مختلف در حضور استاندارد داخلی، ارزیابی اثر بافت موجود در عصاره استخراجی بر نتایج کمی، ارزیابی محدوده خطی روش، تعیین حد تشخیص (LOD^۵) و حد کمی (LOQ^۶) و محاسبه صحت و دقت درون روز و بین روز انجام شد.

مواد و روش ها

مواد شیمیایی و معرف ها

ایمیداکلوپراید (IMID)، استامی پراید^۷ و SWCNT با درجه خلوص بیش از ۹۵ درصد (شرکت Sigma-Aldrich،

¹ Multi-walled carbon nanotubes

² Primary secondary amine

³ Single-walled carbon nanotubes

⁴ Ultraviolet

⁵ Limit of detection

⁶ Limit of quantification

⁷ Acetamiprid

دست و سپس به مدت ۲ دقیقه با دستگاه ورتکس (شرکت Heidolph، ساخت آلمان) با سرعت ۱۰۰۰ دور بر دقیقه هم‌زده شد. آنگاه به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۸۰۰ دور بر دقیقه، سانتریفیوژ گردید. در نهایت ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل برداشته‌شده و پس از تبخیر کامل حلال آن با استفاده از جریان نیتروژن، در ۲۵۰ میکرولیتر از فاز متحرک حل شد و ۲۰ میکرولیتر از آن به دستگاه HPLC تزریق گردید. تنها تفاوت روش کچرز بافری سیترات با روش کچرز مرسوم در مرحله استخراج است. در این مرحله علاوه بر ۲ گرم منیزیم سولفات و ۰/۵ گرم سدیم کلراید؛ ۰/۵ گرم نمک سیترات تری سدیم و ۰/۲۵ گرم نمک سیترات دی‌سدیم نیز به مخلوط اضافه شد. در روش کچرز بافری استات در مرحله استخراج، استونیتریل اضافه‌شده با ۱ درصد اسید استیک گلاسیال، اسیدی گردید.

پس از انتخاب روش کچرز مناسب، به‌منظور بهبود کارایی پاک‌سازی مزاحمت‌های قطبی و بهینه‌سازی اختصاصی روش انتخابی برای بافت خرما (با هدف حفظ کارایی استخراج IMID)، مقدار جاذب PSA (۰، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ میلی‌گرم) تغییر داده شد. همچنین تأثیر حضور و یا عدم حضور جاذب‌هایی مثل C₈، C₁₈ (۴۸ میلی‌گرم) و SWCNT (۳۸، ۴۸ و ۵۸ میلی‌گرم) بر کارایی پاک‌سازی مرحله d-SPE بررسی شد. به‌علاوه بهینه‌سازی نسبت آب به خرما در مرحله همگن‌سازی (۱:۱/۶، ۱:۱ و ۱:۱/۶) و وزن/وزنی نیز انجام گرفت. درصد بازیابی استخراج (ER^۳) از طریق رابطه (۱) به‌دست‌آمد و برای ارزیابی عملکرد استخراج نیز استفاده شد.

درصد بازیابی استخراج

سطح زیر پیک IMID در نمونه اسپایک‌شده

سطح زیر پیک IMID در نمونه همسان‌سازی شده بافت

اعتبارسنجی روش

ابتدا انتخاب‌پذیری روش با ثبت کروماتوگرام حاصل از چند نمونه خرمایی که به‌صورت مستقیم از کشاورز و یا از بازار تهیه‌شده بود و افزودن آنالیت و نشان‌دادن جدایی پیک این ترکیب از سایر اجزا در بافت نمونه، تأیید شد. سپس، سه مجموعه از منحنی‌های درجه‌بندی توسط

ترکیب درصدهای مختلف مخلوط استونیتریل و آب، با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، جداسازی شد. حالت شویش ایزوکراتیک و درصد بهینه، ۲۵:۷۵ حجمی:حجمی آب:استونیتریل به‌دست‌آمد.

محلول‌های استاندارد و نمونه‌های تهیه‌شده

محلول مادر استاندارد ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IMID، در استونیتریل با درجه خلوص HPLC تهیه شد. سایر محلول‌های مورد استفاده در آزمایش‌های بهینه‌سازی شرایط کروماتوگرافی و استخراج از این محلول استاندارد و با رقیق‌سازی مناسب تهیه گردید.

برای تهیه نمونه‌های میوه خرمای اسپایک‌شده^۱ میوه خرمای با حشره‌کش IMID، مقدار مشخص از محلول استاندارد این ترکیب به نمونه‌های ۵ گرمی خرمای در دمای محیط اضافه‌شده و پس از گذشت ۲۰ دقیقه، مراحل آماده‌سازی روی نمونه انجام شد. به‌منظور تهیه نمونه‌های همسان‌سازی‌شده بافت^۲، ابتدا روی نمونه ۵ گرمی خرمای مراحل آماده‌سازی به‌صورت کامل انجام گرفت و قبل از تزریق مقدار مشخصی از محلول استاندارد IMID به آن افزوده شد.

استخراج حشره‌کش ایمیداکلوپراید از نمونه‌های خرما با روش کچرز

در این مطالعه ابتدا از هر سه روش کچرز مرسوم، بافری سیترات (CE15662) و بافری استات (AOAC official 2007.01) استفاده شد. در مرحله استخراج روش کچرز مرسوم، ابتدا ۵ گرم نمونه همگن‌شده خرما با ۵ میلی‌لیتر استونیتریل مخلوط‌شده و به مدت ۱ دقیقه به شدت با دست هم‌زده شد. دوباره پس از اضافه‌کردن ۲ گرم منیزیم سولفات و ۰/۵ گرم سدیم کلراید به مخلوط، به مدت ۱ دقیقه هم‌زدن با دست تکرار شد. سپس با سرعت ۳۸۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ (شرکت پل ایده‌آل تجهیز، ساخت ایران) انجام گرفت. در ادامه ۴ میلی‌لیتر از فاز بالایی محلول استخراجی برداشته و به فالکون دیگری حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم منیزیم سولفات، ۴۸ میلی‌گرم PSA و ۴۸ میلی‌گرم C₁₈ منتقل گردید. در این مرحله، مخلوط ابتدا به مدت ۳۰ ثانیه با

^۱ Spike

^۲ Matrix-matched samples

^۳ Extraction recovery

و حذف مزاحمت‌های بافت خرما از سوی دیگر، ابتدا عصاره استخراجی حاصل از یک نمونه خرما ثابت که از طریق اجرای دستورالعمل کچرز مرسوم، بافری سیترات و بافری استات به دست آمده است، با روش HPLC مورد آنالیز قرار گرفت. کروماتوگرام‌های حاصل در شکل (۱) نشان داده شده است. لازم به ذکر است به منظور بررسی انتخاب‌پذیری روش در تمامی موارد، ابتدا کروماتوگرام نمونه خرما عاری از حشره‌کش IMID مورد آنالیز قرار گرفت. همچنین کارایی استخراج روش‌های استفاده شده، با مقایسه نتایج حاصل از نمونه‌های غنی شده با IMID در سطح غلظتی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر (سطح اسپایک با توجه به وزن نمونه بر اساس واحد وزنی-وزنی بوده اما با توجه به مراحل آماده‌سازی نمونه به واحد وزنی-حجمی تبدیل شده است) و نمونه‌های همسان‌سازی بافت در همان سطح غلظتی (نحوه تهیه این نمونه‌ها در بخش محلول‌های استاندارد و نمونه‌های تهیه شده توضیح داده شده است) مشخص شد. همان‌طور که در شکل (۱) مشاهده می‌شود در کروماتوگرام مربوط به نمونه خرما عاری از حشره‌کش که با روش کچرز بافری استات (شکل ۱-ج) به دست آمده است، پیک‌های پرشدتی که مربوط به بافت نمونه است در زمان بازداري IMID دیده شد که در صورت حضور این حشره‌کش، مزاحمت جدی برای پیک آن ایجاد می‌کند. این مزاحمت در مورد روش بافری سیترات (شکل ۱-ب) نیز مشاهده شد اما در مورد روش کچرز مرسوم، حذف شده است. همچنین با مقایسه شدت پیک IMID در نمونه غنی شده با شدت آن در نمونه همسان‌سازی بافت، مشخص گردید که روش به کار برده شده با کارایی بالایی می‌تواند این حشره‌کش را از بافت خرما استخراج کند. در ادامه آزمایش روی محلول آبی IMID (بدون بافت خرما) با روش کچرز مرسوم انجام شد. کارایی روش با تعیین مقدار حشره‌کش استخراج شده و مقایسه آن با مقدار افزوده شده، 103 ± 6 درصد به دست آمد. نتیجه حاصل استخراج مناسب IMID در مرحله LLE و عدم حذف آن در مرحله d-SPE را تأیید می‌کند.

محلول‌های نمونه بدون بافت، همسان‌سازی شده بافت و اسپایک شده در محدوده غلظتی ۲۰ تا ۹۰۰ میکروگرم بر لیتر رسم شدند. مقدار ضریب اندازه‌گیری^۱ (R^2)، عرض از مبدأ و شیب خط مربوط به هر یک از منحنی‌های درجه‌بندی با استفاده از آنالیز رگرسیون حداقل مربعات خطی محاسبه شد. همچنین تأثیر مزاحمت‌ها بر نتایج کمی با محاسبه اثر بافت (ME^2 ٪) طبق رابطه (۲) محاسبه شد.

رابطه (۲)

$$100 - \left(\frac{\text{شیب منحنی همسان‌شده بافت}}{\text{شیب منحنی بدون بافت}} \right) = \text{درصد اثر بافت}$$

LOD و LOQ با در نظر گرفتن انحراف استاندارد^۳

پاسخ محلول شاهد (SD_b با ۶ بار تکرار) و شیب منحنی درجه‌بندی اسپایک شده (m) بر اساس رابطه‌های (۳) و (۴) به دست آمد.

رابطه (۳)

$$LOD = \frac{3.3 SDb}{m}$$

رابطه (۴)

$$LOQ = \frac{10 SDb}{m}$$

به منظور ارزیابی صحت و دقت روش پیشنهادی، نمونه‌های کنترل کیفیت (QC^4) با استفاده از نمونه خرما اسپایک شده با IMID در سه سطح غلظتی (کم، متوسط و زیاد) تهیه شدند. سپس بازیابی‌های نسبی (RR^5) درون روز و بین روز از طریق تقسیم غلظت متوسطی که به ترتیب از ۵ تکرار هر نمونه QC در ۱ و ۵ روز متوالی به دست آمد بر غلظت افزوده شده، محاسبه شد. همچنین دقت درون روز و بین روز به ترتیب بر اساس درصد انحراف استاندارد نسبی نتایج به دست آمده در ۱ و ۵ روز متوالی محاسبه گردید.

نتایج و بحث

پتانسیل روش‌های کچرز موجود برای استخراج حشره‌کش ایمیداکلوپراید از خرما

به منظور بررسی کارایی روش‌های مرسوم کچرز در استخراج حشره‌کش IMID از خرما از یک سو و پاک‌سازی

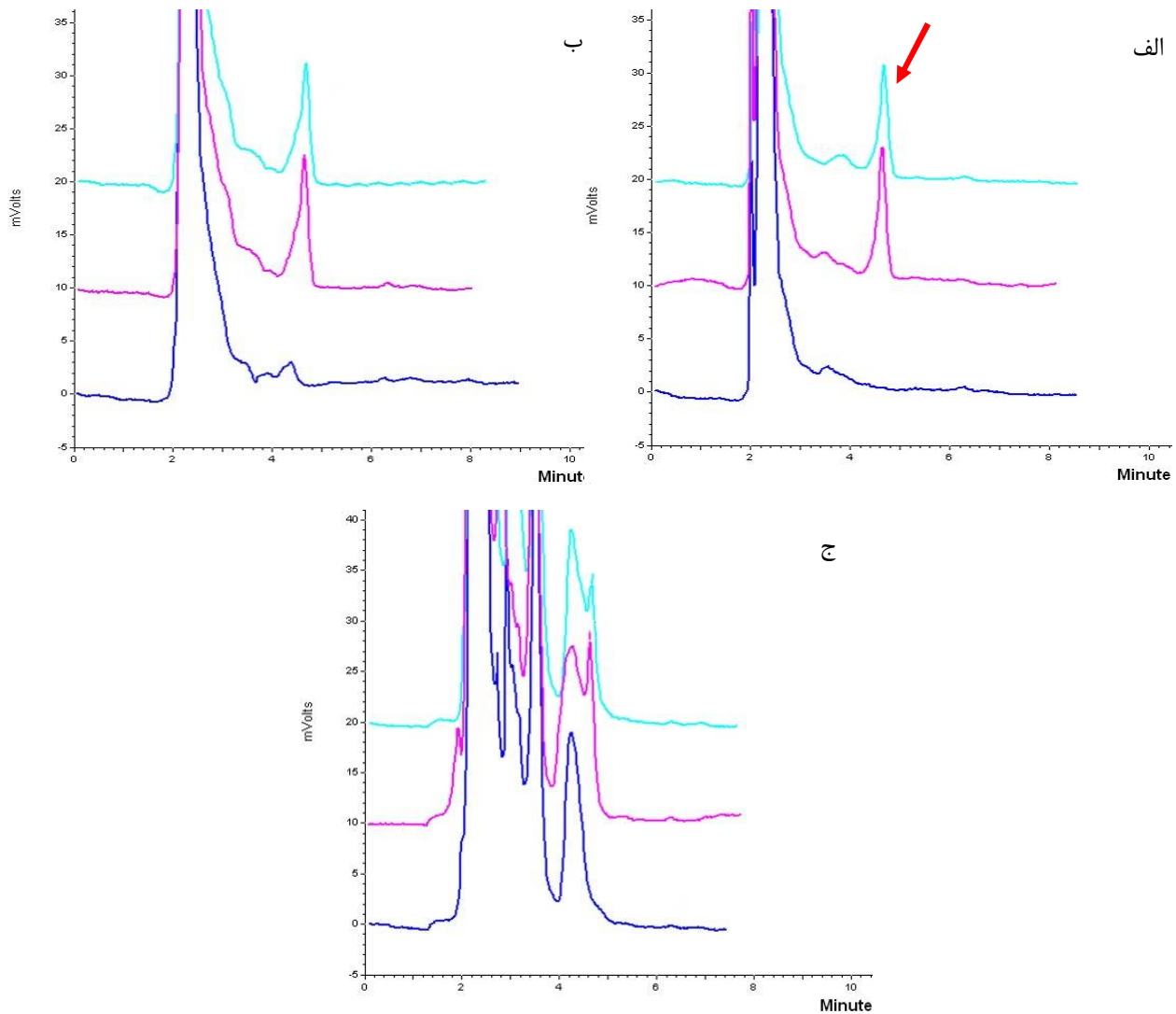
¹ Regression coefficient

² Matrix effect

³ Standard deviation

⁴ Quality control

⁵ Relative recoveries



شکل ۱- کروماتوگرام عصاره استخراج شده با روش کچرز (الف) مرسوم، (ب) بافری سترات و (ج) بافری استات. از پایین به بالا مربوط به نمونه میوه خرما، میوه خرما اسپایک شده با ایمیداکلوپراید (IMID) در سطح غلظتی ۰/۵ میلی گرم بر لیتر و نمونه همسان سازی بافتی حاوی ۰/۵ میلی گرم بر لیتر IMID است. فاز متحرک ۴۰:۶۰ حجمی/حجمی آب:استونیتریل می باشد.

در ادامه، کارایی روش کچرز مرسوم در پاک سازی بافت انواع مختلفی از نمونه های خرما بررسی شد. نتایج نشان دادند پیچیدگی بافت در نمونه های خرما مختلف با هم متفاوت بوده و در مواردی مزاحمت های جدی با روش کچرز مرسوم نیز مشاهده گردید. از این رو، به منظور بهبود تفکیک پیک ترکیب IMID از مزاحمت های باقی مانده در عصاره استخراجی که بلافاصله از ستون خارج می شوند، با افزایش میزان آب در فاز متحرک از ترکیب درصد ۴۰:۶۰ به ۲۵:۷۵ حجمی:حجمی آب:استونیتریل، زمان بازداری IMID از ۴/۷ به ۹/۲ دقیقه افزایش یافت. سپس به منظور افزایش کارایی پاک سازی، پارامترهای مؤثر در این مرحله از کچرز مرسوم

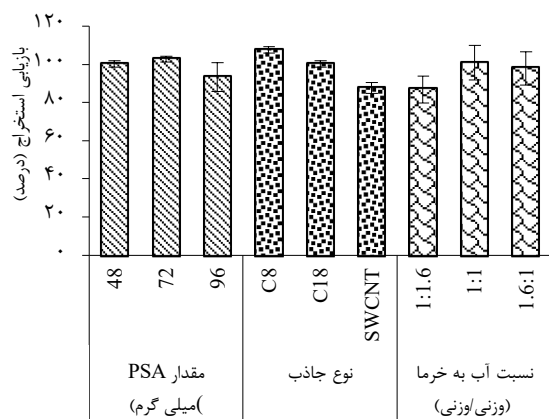
بهینه شد و شرایط اختصاصی برای به کارگیری این روش برای بافت خرما به دست آمد.

اصلاح روش کچرز مرسوم

ابتدا تأثیر مقدار PSA بر میزان پاک سازی در مرحله d-SPE مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور آزمایش های متعددی در غیاب و حضور PSA در مقادیر مختلف انجام شد. کروماتوگرام های حاصل، در شکل (۲-الف) نشان داده شده است و درصد بازیابی در هر مورد در شکل (۳) مشاهده می شود. همان طور که مشخص است امکان حذف PSA در مرحله پاک سازی وجود ندارد. به عبارت دیگر در غیاب این ترکیب، پیک تعداد زیادی از مزاحمت ها در ابتدای

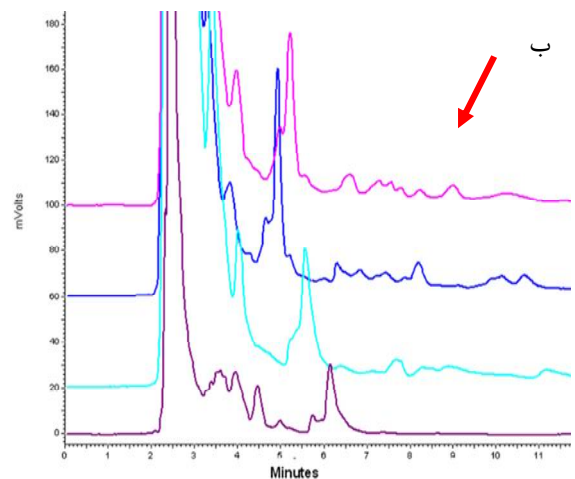
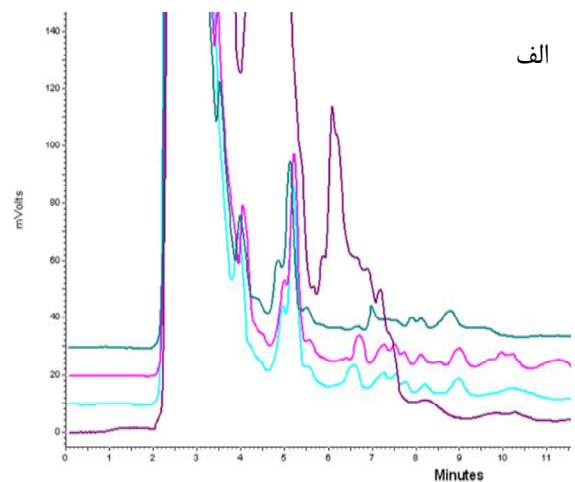
همان‌طور که در **شکل ۲** (ب) دیده می‌شود، افزودن ۳۸ میلی‌گرم SWCNT، باعث بهبود کارایی مرحله پاک‌سازی و کاهش شدت پیک‌های ابتدایی در کروماتوگرام شده است که می‌توان آن را به نسبت سطح به حجم زیاد این نانوماده مرتبط دانست. البته، افزودن این ترکیب با کاهش معنی‌داری (براساس آزمون آماری t در سطح اطمینان ۹۵ درصد) در کارایی استخراج حشره‌کش IMID نیز همراه بود (**شکل ۳**). اما با توجه به بهبود چشم‌گیر در حذف مزاحمت‌ها که منجر به افزایش طول عمر ستون و امکان آنالیز مقادیر بسیار کم IMID در بافت‌های مختلف و پیچیده خرما می‌شود، می‌توان از این کاهش چشم‌پوشی نمود. در انتها مقدار آب اضافه‌شده به نمونه خرما پیش از انجام مراحل آماده‌سازی، بهینه شد.

لازم به ذکر است برای محصول‌هایی با ویسکوزیته بالا که کمتر از ۸۰ درصد آب دارند (نظیر عسل و کشمش)، قبل از شروع استخراج، همگن‌سازی با آب الزامی است. براساس نتایج نشان‌داده‌شده در **شکل ۳**، بهترین کارایی استخراج زمانی حاصل می‌شود که نسبت ۱:۱ وزنی/وزنی از آب و خرما در مرحله اول با هم مخلوط شده و فرایند همگن‌سازی انجام گیرد. به‌منظور جمع‌بندی روش پیشنهاد شده برای آماده‌سازی نمونه خرما، طرح‌واره مراحل روش کچرز و شرایط بهینه به‌دست‌آمده در **شکل ۴** نشان داده شده است.

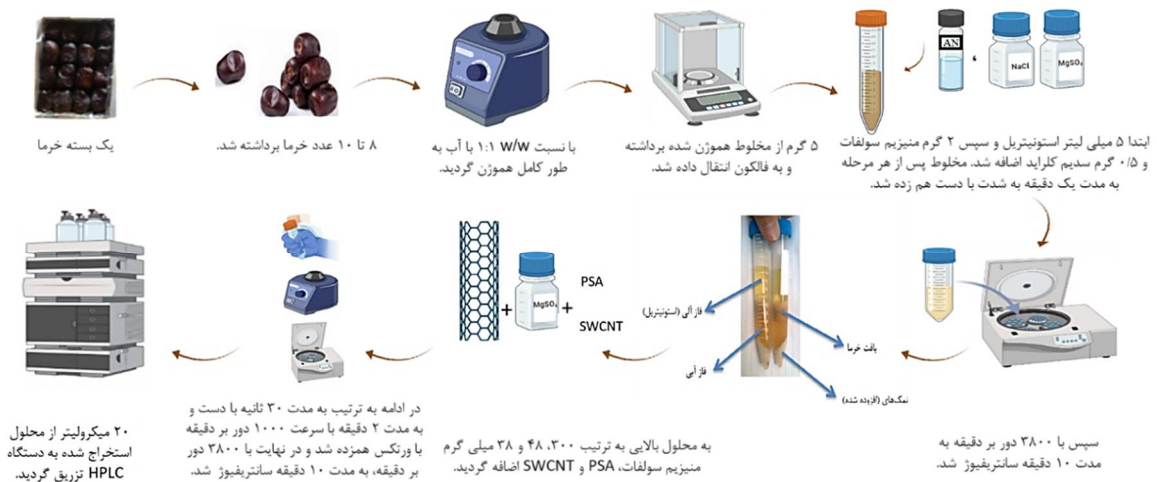


شکل ۳ - درصد بازیابی استخراج به‌دست‌آمده از عصاره استخراج‌شده با روش کچرز مرسوم از نمونه خرما اسپایک‌شده با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر حشره‌کش ایمیداکلوپراید (IMID) با تغییر مقدار و نوع جاذب در مرحله پاک‌سازی و نسبت آب به خرما. مقادیر P کوچک‌تر از ۰/۵ (α) تغییرات معنی‌دار را نشان می‌دهد.

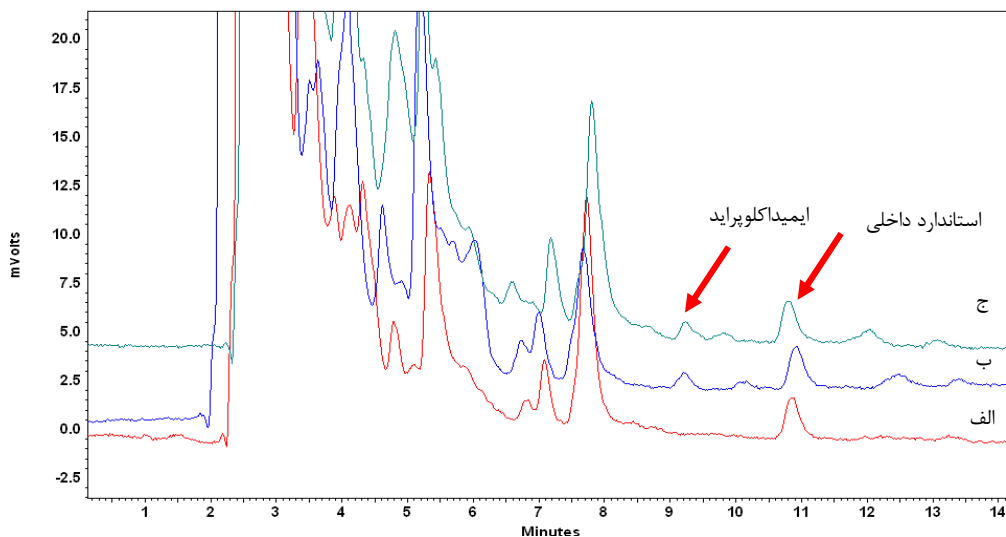
کروماتوگرام دیده می‌شود. نتایج نشان داد با استفاده از ۴۸ میلی‌گرم PSA می‌توان به درصد بازیابی قابل‌قبول رسید و براساس آزمون آماری t بین نتایج حاصل از به‌کارگیری کمترین و بیشترین مقدار PSA، در سطح اطمینان ۹۵ درصد، مقدار بیشتر این ترکیب تفاوت معنی‌داری در نتایج مشاهده نشد و نیز مقرون‌به‌صرفه نمی‌باشد (**شکل ۳**). در ادامه امکان حذف C₁₈ از مرحله پاک‌سازی نیز بررسی شد. نتایج (**شکل ۲** (ب)) تأیید کردند که درمورد بافت خرما، C₁₈ نقش جدی در حذف مزاحمت‌ها ندارد. از این‌رو، در آزمایش‌های بعدی از این جاذب در مرحله d-SPE استفاده نشد. همچنین تأثیر جاذب‌های C₈ و SWCNT بر پاک‌سازی مورد بررسی قرار گرفت.



شکل ۲ - کروماتوگرام عصاره استخراج‌شده با روش کچرز مرسوم از نمونه خرما در مرحله پاک‌سازی، الف) منیزیم سولفات، C₁₈ و به ترتیب از پایین به بالا صفر، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ میلی‌گرم PSA و ب) منیزیم سولفات، ۴۸ میلی‌گرم PSA و به ترتیب از پایین به بالا SWCNT، هیچ، C₈ و C₁₈. فاز متحرک ۲۵:۷۵ حجمی/حجمی آب:استونیتریل است. فلش، زمان بازداری ترکیب هدف را نشان می‌دهد.



شکل ۴- طرحواره مراحل روش کچرز و شرایط بهینه اختصاصی به دست آمده برای استخراج باقی مانده حشره کش ایمیداکلوپراید از بافت خرما



شکل ۵- کروماتوگرام عصاره استخراج شده با روش کچرز اصلاح شده از نمونه الف) میوه خرما، ب) میوه خرما اسپایک شده با IMID در سطح غلظتی ۴۰ میکروگرم بر لیتر و ج) نمونه همسان سازی بافتی حاوی ۴۰ میکروگرم بر لیتر IMID

اعتبارسنجی روش

در این مرحله منحنی‌های درجه بندی بدون بافت، همسان سازی بافت و غنی شده با IMID در حضور غلظت ثابت از استامی پراید به عنوان استاندارد داخلی (با زمان بازداری ۱۰/۸ دقیقه) در محدوده ۲۰ تا ۹۰۰ میکروگرم بر لیتر رسم شد و محدوده خطی در هریک از منحنی‌ها مشخص شدند. در شکل (۵)، کروماتوگرام‌های مربوط به غلظت ۴۰ میکروگرم بر لیتر در عصاره نهایی (حاوی استاندارد داخلی) نشان داده شده است. در ادامه اثر بافت (ME) با توجه به شیب منحنی درجه بندی بدون بافت و همسان سازی بافت $3 \pm 22\%$ درصد به دست آمد (رابطه ۲). عدد محاسبه شده نشان داد اثر بافت خرما منجر به کاهش سیگنال IMID شده است و روش پیشنهادی توانست تا حد

قابل قبولی (نزدیک به ۲۰ درصد) این اثر را حذف نماید. با این وجود، در این تحقیق به منظور اندازه گیری‌های کمی، از منحنی درجه بندی غنی شده استفاده شد که شیب، عرض از مبدأ و ضریب اندازه گیری (R^2) آن در جدول (۱) نشان داده شده است. با توجه به رابطه‌های (۳) و (۴)، LOD و LOQ روش پیشنهادی به ترتیب ۱۱ و ۳۶ میکروگرم بر لیتر بود. صحت و دقت درون روز و بین روز روش در سه سطح غلظتی بررسی شد و به ترتیب بازیابی در محدوده ۹۳ تا ۱۰۲ درصد و انحراف استاندارد نسبی در دامنه ۳ تا ۵ درصد به دست آمد. در نهایت اندازه گیری حشره کش IMID در یک نمونه خرما تهیه شده از بازار با استفاده از روش پیشنهادی انجام شد. نتایج نشان دادند در این نمونه مقدار این حشره کش زیر LOD است. مقادیر بازیابی و انحراف

استاندارد نسبی برای سه غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۵۰ میکروگرم بر لیتر ایمیداکلوپراید افزوده شده به نمونه به ترتیب در محدوده ۹۱ تا ۱۰۴ و ۲ تا ۴ درصد به دست آمد. همان طور که از نتایج مشخص است شاخص های روش کمی پیشنهاد شده در محدوده های قابل قبولی است. همچنین مقایسه ای بین شاخص های کمی روش های به کار برده شده برای اندازه گیری حشره کش IMID در محیط عسل و خرما که در آنها از تکنیک کچرز استفاده شده بود، صورت گرفت. نتایج جدول (۲) نشان داد مواردی که از آشکارساز UV استفاده شده است؛ به دلیل حذف مناسب اثر بافت، LOD روش پیشنهادی بهتر به دست آمده است (Bonerba et al., 2014). در مورد روش های تشخیصی قدرتمندتر مانند LC-MS/MS (Eslami et al., 2021)، کمترین LOD روش پیشنهادی قابل انتظار است. همچنین تکرار پذیری روش پیشنهادی نسبت به موارد نشان داده شده بهتر است و محدوده خطی وسیع تری را پوشش می دهد. به علاوه روش پیشنهاد شده کچرز، از لحاظ مصرف ترکیباتی که در مرحله d-SPE برای پاک سازی استفاده می شوند مقرون به صرفه بوده و به صورت انحصاری برای بافت خرما بهینه شده است. در نتیجه می توان انتظار داشت این روش برای اندازه گیری باقی مانده سایر آفت کش های به کار برده شده برای خرما نیز کارایی مناسبی داشته باشد.

جدول ۱- نتایج حاصل از اعتبار سنجی روش کچرز جفت شده با HPLC برای آنالیز آفت کش ایمیداکلوپراید در خرما

ترکیب	محدوده خطی (میکروگرم بر لیتر)	شیب خط منحنی درجه بندی اسپایک شده*	عرض از مبدأ منحنی درجه بندی اسپایک شده*	حد تشخیص (میکروگرم بر لیتر)	ضریب اندازه گیری (R ²)
ایمیداکلوپراید	۳۶-۹۰۰	۱۰/۳۰±۰/۲	-۰/۱۳۲	۱۱	۰/۹۹۸۵

صحت و دقت

مقدار اضافه شده (میکروگرم بر لیتر)	درون روز		بین روز	
	بازایی متوسط (%RR, n=۵)**	انحراف استاندارد نسبی (%RSD, n=۵)	بازایی متوسط (%RR, n=۵***)	انحراف استاندارد نسبی (%RSD, n=۵)
۱۰۰	۱۰۲	۳	۱۰۲	۳
۲۰۰	۹۴	۳	۹۵	۳
۳۵۰	۹۴	۳	۹۳	۵

* اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده است. ** تعداد تکرار در ۱ روز است. *** تعداد روزهای متوالی که آزمایش انجام شده است.

جدول ۲- مقایسه شاخص های کمی روش های به کار برده شده برای اندازه گیری حشره کش ایمیداکلوپراید با استفاده از تکنیک آماده سازی کچرز

بافت	روش آنالیز	روش آماده سازی نمونه	محدوده خطی (میکروگرم بر لیتر)	بازایی (درصد)	انحراف استاندارد نسبی (درصد)	حد تشخیص (میکروگرم بر کیلوگرم)	منبع
	LC-MS/MS	کچرز بافری استات	-	۹۷/۱-۱۱۱	۶/۶-۱۶/۶	۳۳	Tomasini et al., (2012)
عسل	LC-MS/MS	کچرز مرسوم با جاذب گرافن و CNT	۰/۵-۱۰۰	۹۴/۴-۱۱۱/۲	۵/۰-۱۶/۳	۳	(Pang et al., 2022)
	HPLC-UV	کچرز اصلاح شده	۱۰-۱۰۰۰	۸۶/۴-۸۹/۲	۱/۶۲-۲/۱۳	۲۰ میکروگرم بر لیتر	Bonerba et al., (2014)
	LC-MS/MS	کچرز بافری استات	-	۷۳/۹-۹۷/۶	۲/۵-۷/۸	۱۸/۸	Qayyum et al., (2021)
	LC-MS/MS	کچرز بافری استات	۱۰-۱۰۰۰	-۸۵/۰۹ ۸۳/۷۸	۷/۰۱-۱۲/۲۵	۳/۰ میکروگرم بر لیتر	Eslami et al., (2021)
خرما	LC-MS/MS	کچرز بافری استات	۱-۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم	۸۳-۱۱۳	۴/۸-۱۴/۴	۰/۶۳	Abdallah et al., (2018)
	HPLC-UV	کچرز با جاذب SWCNT	۳۶-۹۰۰	۹۲-۱۰۲	۶≤	۱۱ میکروگرم بر لیتر	پژوهش حاضر

نتیجه‌گیری

در این بررسی با استفاده از روش آماده‌سازی کچرز، حشره‌کش IMID از بافت خرما استخراج شد. نتایج حاصل از نسخه‌های مرسوم و بافری کچرز نشان داد که نسخه مرسوم، برای بافت خرما نیاز به اصلاح دارد تا بتواند مزاحمت‌های موجود در بافت پیچیده خرما را به‌گونه‌ای مؤثرتر حذف و همچنین کارایی استخراج ترکیب هدف را حفظ کند. نوآوری ارائه‌شده در این تحقیق، تعیین شرایط اختصاصی کچرز برای بافت خرما و به‌کارگیری SWCNT در مرحله d-SPE است که بهبود قابل‌توجهی را در کارایی پاک‌سازی بافت میوه خرما نشان داد. همچنین براساس نتایج، استفاده از C₁₈ که جاذب مرسوم روش‌های کچرز است در مورد بافت میوه خرما الزامی ندارد اما نمی‌توان جاذب PSA را در مرحله پاک‌سازی حذف نمود. در نهایت روش کچرز اصلاح‌شده برای استخراج ایمیداکلوپراید از بافت خرما و اندازه‌گیری آن با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا اعتبارسنجی شد. محدوده خطی، ضریب اندازه‌گیری، حد تشخیص، دقت و صحت روش به‌دست‌آمد و نتایج، به‌خوبی کارایی روش پیشنهادی را برای

اندازه‌گیری ترکیب هدف نشان دادند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله لازم است از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه الزهراء^(س) جهت حمایت از پژوهش انجام‌شده تشکر و قدردانی به‌عمل‌آید.

مشارکت نویسندگان

آسیه مددی: جمع‌آوری داده، تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها؛ زیبا حسین‌پور: نوشتن پیش‌نویس مقاله؛ زهرا طالب‌پور: ارائه ایده پژوهشی و طراحی مطالعه، بازبینی و اصلاح مقاله، نظارت بر مطالعه، تأیید نسخه نهایی؛ غزاله عابدی: تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها، بازبینی و اصلاح مقاله، نظارت بر مطالعه؛ وحیده مهدوی: ارائه ایده پژوهشی، بازبینی و اصلاح مقاله.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

منابع

- Abbassy, M. A., Salim, Y. M. M., Shawir, M. S., & Nassar, A. M. K. (2017). Disappearance and hazard quotient of chlorpyrifos-methyl, fipronil, and imidacloprid insecticides from dates. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 12(3), 223-230. <https://doi.org/10.1007/s00003-017-1111-3>
- Abdallah, O. I., Alamer, S. S., & Alrasheed, A. M. (2018). Monitoring pesticide residues in dates marketed in Al-Qassim, Saudi Arabia using a QuEChERS methodology and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*, 32(6), e4199. <https://doi.org/10.1002/bmc.4199>
- Abdel Ghani, S. B., Alhewairini, S. S., & Hrouzková, S. (2018). A Fast and Easy QuEChERS-DLLME Method Combined with GC-MS for Ethion and Bifenthrin Residues Determination and Study of Their Dissipation Dynamics in Palm Dates. *Food Analytical Methods*, 11(12), 3542-3550. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1333-8>
- Ahmed, S. S., Naroz, M. H., & El-Mohandes, M. A. (2022). Use of modified atmospheres combined with phosphine in controlling stored date fruit pests, *Oryzaephilus surinamensis* and *Tribolium confusum*, and effect on the fruit chemical properties. *International Journal of Tropical Insect Science*, 42(2), 1933-1941. <https://doi.org/10.1007/s42690-021-00723-0>
- Al Kindi, K. M., Kwan, P., Andrew, N. R., & Welch, M. (2019). Modelling the potential effects of climate factors on Dubas bug (*Ommatissus lybicus*) presence/absence and its infestation rate: A case study from Oman. *Pest Management Science*, 75(11), 3039-3049. <https://doi.org/10.1002/ps.5420>
- Allami, H. A., Tabasizadeh, M., Rohani, A., Nayebyzadeh, H., & Farzad, A. (2020). Effect of ultrasonic irradiation on the properties and performance of biodiesel produced from date seed oil used in the diesel engine. *Ultrasonics Sonochemistry*, 60, 104672. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104672>

- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J AOAC Int*, 86(2), 412-431.
- Barbieri, M. V., Postigo, C., Guillem-Argiles, N., Monllor-Alcaraz, L. S., Simionato, J. I., Stella, E., . . . López de Alda, M. (2019). Analysis of 52 pesticides in fresh fish muscle by QuEChERS extraction followed by LC-MS/MS determination. *Science of The Total Environment*, 653, 958-967. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.289>
- Bonerba, E., Ceci, E., Montemurro, N., Tantillo, G., Di Pinto, A., Celano, G. V., & Bozzo, G. (2014). [Not Available]. *Ital J Food Saf*, 3(2), 1647. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2014.1647> (Rapid Modified QuEChERS Method for Pesticides Detection in Honey by High-Performance Liquid Chromatography UV-visible.)
- Dehghan, A., Payandeh, A., & Imani, S. (2021). Lethal and sublethal effects of Eforia on the reproduction, development and feeding behavior of *Ommatissus lybicus* (Hemiptera: Tropicuchidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 41(1), 123-130. <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00183-y>
- El-Saeid, M. H., & Al-Dosari, S. A. (2010). Monitoring of pesticide residues in Riyadh dates by SFE, MSE, SFC, and GC techniques. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(3), 179-186. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.04.007>
- Eslami, Z., Mahdavi, V., & Tajdar-oranj, B. (2021). Probabilistic health risk assessment based on Monte Carlo simulation for pesticide residues in date fruits of Iran. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(31), 42037-42050. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13542-0>
- Hakami, R. A., Aqel, A., Ghfar, A. A., Alothman, Z. A., & Badjah-Hadj-Ahmed, A.-Y. (2021). Development of QuEChERS extraction method for the determination of pesticide residues in cereals using DART-ToF-MS and GC-MS techniques. Correlation and quantification study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 98, 103822. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103822>
- Hilary, S., Tomás-Barberán, F. A., Martínez-Blázquez, J. A., Kizhakkayil, J., Souka, U., Al-Hammadi, S., . . . Platat, C. (2020). Polyphenol characterisation of Phoenix dactylifera L. (date) seeds using HPLC-mass spectrometry and its bioaccessibility using simulated in-vitro digestion/Caco-2 culture model. *Food Chemistry*, 311, 125969. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125969>
- Khezri, A., Ansari, M., Amirahmadi, M., Shahidi, M., Mohamadi, N., & Kazemipour, M. (2022). Pesticide residues in dates using a modified QuEChERS method and GC-MS/MS. *Food Addit Contam Part B Surveill*, 15(3), 168-176. <https://doi.org/10.1080/19393210.2022.2062798>
- Latifian, M., & Rad, B. (2022). Population assessment of common storage pests in deiri date palm cultivar using spectrophotometric method. *International Journal of Tropical Insect Science*, 42(1), 345-354. <https://doi.org/10.1007/s42690-021-00552-1>
- Lawal, A., Wong, R. C. S., Tan, G. H., Abdulra'uf, L. B., & Alsharif, A. M. A. (2018). Recent Modifications and Validation of QuEChERS-dSPE Coupled to LC-MS and GC-MS Instruments for Determination of Pesticide/Agrochemical Residues in Fruits and Vegetables: Review. *J Chromatogr Sci*, 56(7), 656-669. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmy032>
- Leong, W.-H., Teh, S.-Y., Hossain, M. M., Nadarajaw, T., Zabidi-Hussin, Z., Chin, S.-Y., . . . Lim, S.-H. E. (2020). Application, monitoring and adverse effects in pesticide use: The importance of reinforcement of Good Agricultural Practices (GAPs). *Journal of Environmental Management*, 260, 109987. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109987>
- Li, J., Jiang, Y., & Li, D. (2019). Determination of imidacloprid and its relevant metabolites in tomato using modified QuEChERS combined with ultrahigh-pressure liquid chromatography/Orbitrap tandem mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(11), 5211-5218. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9769>
- Lu, J., Zhang, Z., Lin, X., Chen, Z., Li, B., & Zhang, Y. (2022). Removal of imidacloprid and acetamiprid in tea (*Camellia sinensis*) infusion by activated carbon and determination by HPLC. *Food Control*, 131, 108395. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108395>
- Ma, S., Wang, M., You, T., & Wang, K. (2019). Using Magnetic Multiwalled Carbon Nanotubes as Modified QuEChERS Adsorbent for Simultaneous Determination of Multiple Mycotoxins in Grains by UPLC-

- MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(28), 8035-8044. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00090>
- Mahdavi, V., Behbahan, A. K., Moradi, F., & Aboul-Enein, H. Y. (2021). Analysis of Alternative New Pesticide (Fluopyram, Flupyradifurone, and Indaziflam) Residues in Pistachio, Date, and Soil by Liquid Chromatography Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 30(4), 373-383. <https://doi.org/10.1080/15320383.2020.1854173>
- Maqsood, S., Adiamo, O., Ahmad, M., & Mudgil, P. (2020). Bioactive compounds from date fruit and seed as potential nutraceutical and functional food ingredients. *Food Chem*, 308, 125522. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125522>
- Pang, X., Li, C., Zang, C., Guan, L., Zhang, P., Di, C., . . . Lin, J. (2022). Simultaneous detection of ten kinds of insecticide residues in honey and pollen using UPLC-MS/MS with graphene and carbon nanotubes as adsorption and purification materials. *Environ Sci Pollut Res Int*, 29(15), 21826-21838. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17196-w>
- Paramasivam, M., Chandrasekaran, S., Naik, R. H., Karthik, P., Thangachamy, P., & Mahalingam, C. A. (2014). Determination of imidacloprid residues in mulberry leaves by quechers and liquid chromatography with diode array detection. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 37(1), 122-129. <https://doi.org/10.1080/10826076.2012.738616>
- Patil, A. L., Patil, P. N., & Gogate, P. R. (2014). Degradation of imidacloprid containing wastewaters using ultrasound based treatment strategies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(5), 1778-1786. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.02.029>
- Qayyum, S., Taj, T., Tauseef, M., Ishtiaq, M., Rafique, N., Ahad, K., . . . Mehboob, F. (2021). Determination of pesticide residues in dates using UHPLC-QqQ-MS/MS: method development and validation. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193(9), 613. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09361-y>
- Qin, Y., Zhao, P., Fan, S., Han, Y., Li, Y., Zou, N., . . . Pan, C. (2015). The comparison of dispersive solid phase extraction and multi-plug filtration cleanup method based on multi-walled carbon nanotubes for pesticides multi-residue analysis by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1385, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.01.066>
- Saadati, M. (2020, December). *Investigation of the effect of heat treatment (alternative to chemical control) on two important date storage pests: Indian moth and toothed weevil* National Conference on Health and Food industry, Ahwaz, Iran. <https://civilica.com/doc/1155967> (in Persian)
- Sánchez-Hernández, L., Hernández-Domínguez, D., Bernal, J., Neusüß, C., Martín, M. T., & Bernal, J. L. (2014). Capillary electrophoresis-mass spectrometry as a new approach to analyze neonicotinoid insecticides. *J Chromatogr A*, 1359, 317-324. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.07.028>
- Taghizadeh, S. F., Rezaee, R., Azizi, M., Hayes, A. W., Giesy, J. P., & Karimi, G. (2021). Pesticides, metals, and polycyclic aromatic hydrocarbons in date fruits: A probabilistic assessment of risk to health of Iranian consumers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 98, 103815. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103815>
- Tomasini, D., Sampaio, M. R. F., Caldas, S. S., Buffon, J. G., Duarte, F. A., & Primel, E. G. (2012). Simultaneous determination of pesticides and 5-hydroxymethylfurfural in honey by the modified QuEChERS method and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta*, 99, 380-386. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.05.068>
- Wang, J., Duan, H.-L., Fan, L., Lin, Y.-M., Sun, J.-N., & Zhang, Z.-Q. (2021). Magnetic tetraethylenepentamine modified multi-walled carbon nanotubes as matrix clean-up materials for organophosphorus pesticide residues analysis in cucumber. *Food Control*, 124, 107904. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107904>
- Wang, J., Duan, H.-L., Fan, L., Zhang, J., & Zhang, Z.-Q. (2021). A magnetic fluorinated multi-walled carbon nanotubes-based QuEChERS method for organophosphorus pesticide residues analysis in Lycium ruthenicum Murr. *Food Chemistry*, 338, 127805. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127805>
- Watanabe, E. (2021). Review of sample preparation methods for chromatographic analysis of neonicotinoids in agricultural and environmental matrices: From classical to state-of-the-art methods. *Journal of Chromatography A*, 1643, 462042. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462042>

- Webb, D. T., Nagorzanski, M. R., Powers, M. M., Cwiertny, D. M., Hladik, M. L., & LeFevre, G. H. (2020). Differences in Neonicotinoid and Metabolite Sorption to Activated Carbon Are Driven by Alterations to the Insecticidal Pharmacophore. *Environmental Science & Technology*, 54(22), 14694-14705. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04187>
- Zhao, P., Fan, S., Yu, C., Zhang, J., & Pan, C. (2013). Multiplug filtration clean-up with multiwalled carbon nanotubes in the analysis of pesticide residues using LC-ESI-MS/MS. *J Sep Sci*, 36(20), 3379-3386. <https://doi.org/10.1002/jssc.201300411>

A Modified QuEChERS Method for the Extraction of Imidacloprid Insecticide from Date Fruit

Asiyeh Madadi¹, Ziba Hosseinpour¹, Zahra Talebpour^{1, 2*},
Ghazaleh Abedi², Vahideh Mahdavi³

1- Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Alzahra University, Tehran, Iran

* Corresponding author (ztalebpou@alzahra.ac.ir)

2- Analytical and Bioanalytical Research Centre (ABRC), Alzahra University, Tehran, Iran

3- Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Abstract

In this study, QuEChERS as a sample preparation method followed by high-performance liquid chromatography was applied to the determination of imidacloprid insecticide in date fruit. According to the comparison of obtained results, the original QuEChERS method was more effective for clean-up than the modified buffered QuEChERS versions. To improve the clean-up efficiency of the date matrix and extraction recovery of imidacloprid, effective parameters of the dispersive solid phase extraction step of QuEChERS including sorbent type and amount were optimized. The obtained results showed that using single-walled carbon nanotubes led to a much cleaner chromatogram without a significant decrease in the extraction recovery of imidacloprid. Under optimum conditions, the concentration range of the calibration curve was 36-900 $\mu\text{g L}^{-1}$ with a coefficient of determination of 0.9985 and a limit of detection of 11 $\mu\text{g L}^{-1}$. The intra- and inter-day accuracy and precision of the proposed method yielded relative recoveries of 93-102% and a relative standard deviation of less than 5%, respectively.

Keywords: Matrix effect, Modified QuEChERS, Pesticide residue analysis, Sample preparation, Single-walled carbon nanotube

