

食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯及其代谢物残留和膳食摄入风险评估

宋彦¹, 肖涛², 汪红¹, 马婧玮¹, 吴绪金¹, 王铁良¹, 李萌¹, 李通¹, 马欢¹,
周娟¹, 许海康¹, 安莉^{1*}

(1. 河南省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所/河南省粮食质量安全与检测重点实验室, 郑州 450002;

2. 商丘市植保植检站, 商丘 476000)

摘要: **目的** 研究食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯主要代谢物的转化情况, 施药措施与残留量的相关性, 残留量膳食摄入评估。**方法** 样品中螺虫乙酯及其代谢物加乙腈提取, N-丙基乙二胺和石墨化碳黑净化, 离心, 上清液过滤膜后高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法检测, 对施用过螺虫乙酯的食荚豌豆和豌豆样品进行检测分析及膳食摄入评估。**结果** 食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯及其4个主要代谢物的平均回收率分别为82%~113%和84%~108%, 相对标准偏差分别为1.0%~11.3%和1.7%~19%, 最低检测浓度均为0.01 mg/kg。食荚豌豆中螺虫乙酯风险评估定义残留量为0.05~0.58 mg/kg, 监测定义残留量为0.02~0.55 mg/kg; 豌豆中螺虫乙酯风险评估定义残留量为0.05~0.11 mg/kg, 监测定义残留量为0.02~0.090 mg/kg。食荚豌豆中主要代谢物是酮基-羟基和烯醇, 豌豆中是烯醇。螺虫乙酯及其代谢物在食荚豌豆中的残留量与施药次数和施药剂量呈正相关, 与采收间隔期呈负相关。螺虫乙酯普通人群的国家估计每日摄入量是0.191 mg, 占日允许摄入量的6.07%左右。**结论** 按本研究的施药剂量、施药次数和采收间隔期进行施药, 对一般人群健康不会产生不可接受的风险。

关键词: 螺虫乙酯; 主要代谢产物; 膳食摄入评估; 食荚豌豆; 豌豆; 高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法

Risk assessment of spiromethyl and its metabolites residues and dietary intake in edible podded and peas

SONG Yan¹, XIAO Tao², WANG Hong¹, MA Jing-Wei¹, WU Xu-Jin¹, WANG Tie-Liang¹, LI Meng¹,
LI Tong¹, MA Huan¹, ZHOU Juan¹, XU Hai-Kang¹, AN Li^{1*}

(1. Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-products, Henan Academy of Agricultural Sciences/Henan Key Laboratory of Grain Quality and Safety and Testing, Zhengzhou 450002, China; 2. Shangqiu Plant Protection and Inspection Station, Shangqiu 476000, China)

ABSTRACT: Objective To study the transformation of spirotetramat main metabolites in edible podded and peas, relation between application measures and residues, risk assessment for dietary residue intake. **Methods** The residue of spirotetramat and its main metabolites were extracted with acetonitrile, primary secondary amine and

基金项目: 河南省科技创新杰出青年(184100510015)

Fund: Supported by the Excellent Youth Foundation of Henan Scientific Committee (184100510015)

*通信作者: 安莉, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: cpulian@126.com

*Corresponding author: AN Li, Ph.D, Associate Professor, Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-products, Henan Academy of Agricultural Sciences, No.116, Huayuan Road, Jinshui District, Zhengzhou 450002, China. E-mail: cpulian@126.com

graphitized carbon black purification, centrifugated, the supernatant was filtered through the membranes, and analyzed by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The dietary residue intake of spirotetramat and its metabolites in edible podded and peas were analyzed and evaluated. **Results** The average recoveries of spirotetramat and its metabolites in edible podded and peas were 82%–113%, and 84%–108%, with a relative standard deviation (RSD) of 1.0%–11.3%, and 1.7%–19%, respectively. The limits of quantification (LOQ) were 0.01 mg/kg for spirotetramat and its metabolites in edible podded and peas. Residue for dietary intake and enforcement in edible podded of spirotetramat were 0.05–0.58 mg/kg and 0.02–0.55 mg/kg, respectively. Residue for dietary intake and enforcement in peas of spirotetramat were 0.05–0.11 mg/kg and 0.02–0.090 mg/kg, respectively. The main metabolites in edible podded were ketohydroxy and enol, in peas were enol. The residues of spirotetramat and its metabolites in edible podded were positively correlated with the number of times sprayed and dosages, but negatively correlated with the days after spraying. The national estimated daily intake of spironolactone for the general population was 0.191 mg, and accounted for about 6.07% of the daily allowable intake. **Conclusion** According to the dose, frequency and harvest interval of this study, there will be no unacceptable risk to the health of the general population.

KEY WORDS: spirotetramat; main metabolites; risk assessment for dietary residue intake; edible podded; peas; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

0 引言

螺虫乙酯化学名称为 4-(乙氧基羰基氧基)-8-甲氧基-3-(2,5-二甲苯基)-1-氮杂螺[4.5]癸-3-烯-2-酮, 英文通用名为 spirotetramat, 分子式为 $C_{21}H_{27}NO_5$ 。螺虫乙酯为脂质生物合成抑制剂, 抑制乙酰辅酶A羧化酶。主要通过摄入, 但也可通过接触药剂干扰昆虫的脂肪生物合成, 导致卵和幼虫死亡, 可降低成虫的繁殖能力。渗透进叶片后, 螺虫乙酯被脱脂化, 可在木质部和韧皮部双向传导。用于棉花和大豆等大田作物, 蔬菜, 果树上的粉虱、蚜虫、蚧科、粉蚧、木虱和选定的蓟马品系等刺吸式口器害虫^[1]。

国内外文献关于螺虫乙酯的研究主要包括检测方法研究、残留和消解试验及膳食摄入评估研究、加工或烹饪方式对残留量的影响研究。已报道的检测方法主要有螺虫乙酯及其4种代谢物在豌豆^[2]、苋菜^[3]、番茄^[4]、猕猴桃^[5]、柑橘^[6-7]、番茄和土壤^[8]、紫茄子和土壤^[9]、柑橘和土壤^[10]、梨和土壤^[11]、蔬菜和水果^[12-13]、动物源食品^[14]中的 QuEChERS 前处理, 超高效液相色谱三重四极杆串联质谱法。张燕等^[15]报道了 QuEChERS 前处理, 超高效液相色谱三重四极杆串联质谱法检测大米、茶叶、番茄、核桃、柑橘、葡萄中螺虫乙酯、烯醇-葡萄糖苷、酮基-羟基和烯醇残留量。螺虫乙酯在葡萄和土壤^[16]、芒果和土壤^[17]、辣椒^[18]中液相色谱二极管阵列检测器法; 螺虫乙酯及其烯醇代谢物在棉籽、棉绒、棉籽油和土壤中的液相色谱紫外检测器^[19]和二极管阵列检测器检测法^[20]; 螺虫乙酯及其烯醇代谢物在多种蔬菜和土壤^[21]、4种热带土壤^[22]中的液相色谱法。螺虫乙酯在茶叶、木耳、芹菜、韭葱、柑橘、大

豆和核桃中的固相萃取和 QuEChERS 相结合的前处理方法, 液相色谱紫外检测器法^[23]。残留和消解试验及膳食摄入评估研究主要有螺虫乙酯及其4种代谢物在番茄上的最终残留量和消解规律试验及慢性和急性风险评估^[8]; 在柑橘和土壤中的最终残留量和消解规律试验及膳食风险评估^[10]; 在菠菜叶、茎、根和土壤中的消解规律试验^[3]。螺虫乙酯及其烯醇代谢物在棉花植株中的消解规律试验^[19]; 螺虫乙酯在青辣椒^[24]、辣椒^[18]、大豆和土壤^[25]中的消解规律试验。螺虫乙酯及其代谢物在热带土壤沙壤土、壤土、砂质粘土、粘质砂土中的消解规律试验^[22-26]。螺虫乙酯及其烯醇代谢物在紫茄子中的半衰期是 1.71 d^[9]、和 1.09~1.36 d^[27]。螺虫乙酯及其4种代谢物在柑橘中的半衰期为 1.74~5.83 d^[6]; 柑橘和土壤中半衰期分别为 8.9~14.7 d 和 1.1~5.0 d^[7]。刘炎^[8]报道了螺虫乙酯及其代谢物在番茄上的储藏稳定性试验。CHEN 等^[3,28]报道了菠菜叶、茎、根和土壤中螺虫乙酯代谢物的转化情况, 苋菜不同部位中螺虫乙酯代谢物的转化情况; 柑橘中主要代谢生成烯醇、酮基-羟基和烯醇-葡萄糖苷, 土壤中则主要生成酮基-羟基和烯醇-葡萄糖苷^[7]。HAN 等^[29]报道了螺虫乙酯及其烯醇代谢物在苹果及苹果加工成苹果醋的过程中, 洗涤、去皮取芯、榨汁、初次过滤、酶解、第二次过滤、杀菌、发酵的每个步骤中残留量的变化。LIU 等^[30]报道了清洗、去皮和煮沸等5种家庭常用加工方式对柑橘中螺虫乙酯及其代谢物残留降解的影响, 发现螺虫乙酯、烯醇、烯醇-葡萄糖苷和酮基-羟基的加工因子分别为 < 0.041、< 0.125、< 0.294 和 0.313。国内外关于食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯的主要代谢转化, 施药措施与最终残留量的相关性, 食荚豌豆和豌豆中残留量和代谢物的差异, 残留安全性评价

及残留膳食摄入评估均未见报道。本研究建立了超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)检测食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯及其代谢物的残留检测方法;通过建立的检测方法对食荚豌豆和豌豆中的螺虫乙酯主要代谢转化进行了研究,探讨了主要转化的代谢物,证明了食荚豌豆和豌豆中代谢物转化存在差别;对螺虫乙酯及其代谢物进行了检测,对其残留量进行了膳食摄入风险评估;同时对不同施药剂量、施药次数和采样间隔与螺虫乙酯残留量相关性进行了研究;对食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯残留量是否存在差异进行了探讨。为评价螺虫乙酯在食荚豌豆和豌豆上的残留安全提供基础数据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

22.4%螺虫乙酯悬浮剂[拜耳作物科学(中国)有限公司]。

供试作物品种:吉林为大荚荷兰豆、河南为中豌 6 号、浙江为浙豌 1 号、福建为中豌 6 号、广西为长寿仁甜豌豆、湖南为中豌 4 号。

1.2 试剂与仪器

甲酸(色谱纯,德国 CNW Technologies 公司);甲醇、乙腈(色谱纯,德国默克股份两合公司);氯化钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);PSA 吸附剂、GCB 吸附剂(天津博纳艾杰尔科技有限公司);螺虫乙酯标准品(99.0%)、烯醇-葡萄糖苷标准品(94.8%)、酮基-羟基标准品(94%)、烯醇标准品(99.1%)、单-羟基标准品(99.7%)(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)。

LC-30AD 高效液相色谱仪、LCMS-8050 质谱仪(日本岛津仪器公司);SQP 系列电子天平、BS 2202 S 电子天平

[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];Milli-Q Synthesis 超纯水系统(美国 Millipore 公司);KQ-5200 超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);TARGIN® VX-III 多管涡旋振荡器(北京踏锦科技有限公司);L-550 台式低速离心机(湖南湘仪试验室仪器开发有限公司);R10V.V 食品切碎搅拌机(法国 Robot Coupe 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 田间试验方案

田间试验时间为 2019 年,地点分别为吉林省四平市双辽市那木乡建设村、河南省新乡市平原新区王村、浙江省绍兴市袍江新区马山镇车一村、福建省福安市溪尾镇坂中村、广西省南宁市西乡塘区广西大学农场和湖南省长沙市春华镇。施药剂量均按有效成分(g a.i./hm²)进行计算。豌豆中螺虫乙酯施药剂量、施药次数和采收间隔期按农业行业标准 NY/T 788—2018《农作物中农药残留试验准则》^[31]规定进行设置,具体见表 1。食荚豌豆试验,最后 1 次施药后 7 d、14 d 和 21 d 随机采样,在试验小区内豌豆植株不同方向及上、中、下不同部位采集生长正常的带荚青豌豆 2 kg 以上;豌豆试验,最后 1 次施药后 7 d、14 d 和 21 d 随机采样,在试验小区内豌豆植株不同方向及上、中、下不同部位采集生长正常的成熟豌豆 2 kg 以上。在对照小区内采集食荚豌豆和豌豆的对照样品。田间采集的食荚豌豆样本切块后加干冰粉碎,豌豆样本脱壳后加干冰粉碎,−20℃保存待测。

1.3.2 提取及净化

准确称取 10.00 g 样品(精确至 0.01 g)于 100 mL 离心管中,加入 10 mL 水,20 mL 乙腈,5 g 氯化钠,涡旋 10 min,4000 r/min 离心 5 min,移取 2 mL 上清液至含有 0.05 g PSA 和 0.02 g GCB 的 2 mL 离心管中,涡旋 1 min,4000 r/min 离心 5 min,经 0.22 μm 针孔滤膜过滤于进样小瓶中,待 HPLC-MS/MS 分析。

表 1 田间试验设计
Table 1 Field experiment design

小区面积/m ²	小区重复	施药剂量/(g a.i./ha)	施药次数	施药间隔/d	试验项目	采样距末次施药间隔/d
45	3	108	2	10	青豌豆	7、14、21
45	3	108	3	10	青豌豆	7、14、21
45	3	162	2	10	青豌豆	7、14、21
45	3	162	3	10	青豌豆	7、14、21
45	3	108	2	10	豌豆	7、14、21
45	3	108	3	10	豌豆	7、14、21
45	3	162	2	10	豌豆	7、14、21
45	3	162	3	10	豌豆	7、14、21
45	3	清水对照			青豌豆、豌豆	施药、收获各 1 次

1.3.3 仪器条件

液相色谱柱: Shim-pack GISS(2.1 mm×50 mm, 1.9 μm); 柱温: 40 °C; 电离方式: ESI⁺; CID 气: 270 kpa; 雾化气流量: 3.0 L/min; 加热气流量: 10 L/min; 接口温度: 300 °C; DL 温度: 250 °C; 加热块温度: 400 °C。流动相梯度洗脱条件见表 2, MRM 模式下螺虫乙酯及其代谢物的监测离子和碰撞电压见表 3。

表 2 液相色谱流动相梯度洗脱条件
Table 2 Gradient elution conditions of mobile phase in liquid chromatography

时间/min	流速/(mL/min)	乙腈/%	0.1%甲酸溶液/%
0	0.3	30	70
3.00	0.3	90	10
4.00	0.3	90	10
4.10	0.3	30	70
6.00	0.3	30	70

表 3 MRM 模式下螺虫乙酯及其代谢物的监测离子和碰撞电压
Table 3 MRM transition and MS parameters selected for spirotetramat and its metabolites

化合物	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	碰撞能 /eV
螺虫乙酯	374.30/302.35	374.30/302.35	17
	374.30/330.40		16
烯醇-葡萄糖苷	464.20/302.35	464.20/302.35	19
	464.20/216.25		45
酮基-羟基	318.15/300.35	318.15/300.35	13
	318.15/268.15		19
烯醇	302.25/216.30	302.25/216.30	27
	302.25/270.25		21
单-羟基	304.10/254.35	304.10/254.35	20
	304.10/131.25		27

1.4 数据计算

依据卫生部 2002 年发布的《中国不同人群消费膳食分组食谱》中的膳食结构数据, 结合螺虫乙酯残留化学评估推荐的规范残留试验中值和已制定的螺虫乙酯最大残留限量(maximum residue limits, MRLs), 计算螺虫乙酯的国家估算每日摄入量(national estimated daily intake, NEDI), 计算公式见参考文献^[32]。

螺虫乙酯用于风险评估的残留量=螺虫乙酯残留量+烯醇葡萄糖苷残留量×0.806+酮基羟基残留量×1.177+烯醇残留量×1.239+单羟基残留量×1.231; 螺虫乙酯用于监测的残留量=螺虫乙酯+烯醇×1.239。

2 结果与分析

2.1 检测方法

2.1.1 标准曲线

将螺虫乙酯、烯醇-葡萄糖苷、酮基-羟基、烯醇、单-羟基标准品用乙腈溶解定容制成 1000 mg/L 的混合母液, 用食荚豌豆和豌豆空白基质溶液分别逐级稀释为 0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L 系列标准溶液, 在 1.3.3 条件下进行检测, 横坐标为浓度(X, mg/L), 纵坐标为峰面积(Y), 标准曲线见表 4, r^2 均大于 0.99, 线性关系良好。

表 4 螺虫乙酯及其主要代谢物标准曲线
Table 4 Linear equation of spirotetramat and its main metabolites

基质	标准品	标准曲线	r^2
豌豆	螺虫乙酯	$Y=201127276.9X+1350400.3$	0.9986
	烯醇-葡萄糖苷	$Y=64926448.9X+488094.8$	0.9973
	酮基-羟基	$Y=35312962.7X+199554.6$	0.9990
	烯醇	$Y=298861345.5X+4011215.0$	0.9913
	单-羟基	$Y=66515216.8X+699993.9$	0.9966
食荚豌豆	螺虫乙酯	$Y=210453092.4X+1365312.2$	0.9985
	烯醇-葡萄糖苷	$Y=71171586.5X+520390.8$	0.9970
	酮基-羟基	$Y=38571978.7X+222368.7$	0.9989
	烯醇	$Y=308909391.5X+4057142.9$	0.9916
	单-羟基	$Y=71171978.3X+688519.2$	0.9974

2.1.2 添加回收率

将不同浓度的螺虫乙酯、烯醇-葡萄糖苷、酮基-羟基、烯醇、单-羟基标准液分别加入食荚豌豆和豌豆空白对照样品中, 混合均匀, 静置 2 h, 按 1.3.2 进行样品的提取和净化, 添加回收率结果见表 5。当添加水平是 0.01、0.1 和 1 mg/kg 时, 食荚豌豆中螺虫乙酯的平均回收率为 90%~93%, 相对标准偏差为 1.0%~5.2%; 烯醇-葡萄糖苷的平均回收率为 89%~111%, 相对标准偏差为 3.8%~10.1%; 酮基-羟基的平均回收率为 98%~113%, 相对标准偏差为 3.1%~11.3%; 烯醇的平均回收率为 82%~92%, 相对标准偏差为 2.7%~6.6%; 单-羟基的平均回收率为 83%~92%, 相对标准偏差为 3.0%~4.9%。当添加水平是 0.01、0.1 和 1 mg/kg 时, 豌豆中螺虫乙酯的平均回收率为 90%~99%, 相对标准偏差为 2.4%~8.9%; 烯醇-葡萄糖苷的平均回收率为 89%~108%, 相对标准偏差为 2.7%~19.0%; 酮基-羟基的平均回收率为 92%~106%, 相对标准偏差为 3.2%~13.9%; 烯醇的平均回

收率为 84%~94%，相对标准偏差为 1.7%~9.1%；单-羟基的平均回收率为 90%~93%，相对标准偏差为 3.1%~10.0%。

农业行业标准《农作物中农药残留试验准则》^[31]规定添加浓度大于 0.1 mg/kg 而小于等于 1 mg/kg 时，回收率应在 70%~110%，相对标准偏差应≤15%；添加浓度大于 0.01 mg/kg 而小于等于 0.1 mg/kg 时，回收率应在 70%~120%，相对标准偏差应≤20%；添加浓度大于 0.001 mg/kg 而小于等于 0.01 mg/kg 时，回收率应在 60%~120%，相对标准偏差应≤30%。该方法螺虫乙酯及其 4 个代谢物在食荚豌豆中的平均添加回收率为 82%~113%，相对标准偏差为 1.0%~11.3%；豌豆中的平均添加回收率为 84%~108%，相对标准偏差为 1.7%~19%，添加回收率结果符合上述要求。该方法螺虫乙酯及其 4 个代谢物在食荚豌豆和豌豆中的最低检测浓度均为 0.01 mg/kg；最小检出量螺虫乙酯和烯醇均为

5×10^{-13} g，烯醇-葡萄糖苷和单-羟基均为 2×10^{-12} g，酮基-羟基为 1×10^{-12} g。

2.2 食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯最终残留量

2019 年吉林省、河南省、浙江省、福建省、广西自治区、湖南省 6 地，不同施药剂量、施药次数和采收间隔期食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯、烯醇-葡萄糖苷、酮基-羟基、烯醇、单-羟基、风险评估定义(螺虫乙酯+烯醇葡萄糖苷 $\times 0.806$ +酮基羟基 $\times 1.177$ +烯醇 $\times 1.239$ +单羟基 $\times 1.231$)和监测定义(螺虫乙酯+烯醇 $\times 1.239$)最终残留量检测结果见表 6 和表 7。

2.3 不同施药措施与最终残留量相关性

2019 年 6 地不同施药剂量、施药次数和采收间隔期与螺虫乙酯风险评估定义和监测定义最终残留量分析结果见表 8。

表 5 食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯及其代谢物的添加回收率试验结果
Table 5 Fortified recoveries of spirotetramat and its metabolites in edible podded and peas

标准品	食荚豌豆			豌豆		
	添加浓度/(mg/kg)	平均回收率/%	相对标准偏差/%	添加浓度/(mg/kg)	平均回收率/%	相对标准偏差/%
螺虫乙酯	0.01	93	1	0.01	99	9
	0.1	90	5	0.1	94	8
	1	91	4	1	90	2
烯醇-葡萄糖苷	0.01	106	10	0.01	108	3
	0.1	111	7	0.1	101	19
	1	89	4	1	89	3
酮基-羟基	0.01	113	3	0.01	106	14
	0.1	108	11	0.1	92	7
	1	98	4	1	97	3
烯醇	0.01	86	3	0.01	94	9
	0.1	82	7	0.1	84	8
	1	92	3	1	92	2
单-羟基	0.01	83	3	0.01	90	6
	0.1	88	5	0.1	93	10
	1	92	4	1	90	3

表 6 食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯转化成主要代谢物的残留量 ($n=3$)
Table 6 Main metabolites residues of spirotetramat in edible podded and peas ($n=3$)

表 7 食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯风险评估定义和监测定义残留量(n=3)
Table 7 Residues for dietary intake and enforcement of spirotetramat in edible podded and peas (n=3)

试验地点	施药剂量/ (g a.i./hm ²)	施药次数	风险评估定义残留量/(mg/kg)						监测定义残留量/(mg/kg)					
			食荚豌豆			豌豆			食荚豌豆			豌豆		
			7	14	21	7	14	21	7	14	21	7	14	21
吉林	108	2	0.27	0.057	0.050	0.050	0.050	0.050	0.24	0.027	0.020	0.020	0.020	0.020
		3	0.17	0.052	0.062	0.050	0.050	0.050	0.14	0.022	0.032	0.020	0.020	0.020
	162	2	0.45	0.075	0.059	0.050	0.050	0.050	0.42	0.045	0.029	0.020	0.020	0.020
		3	0.58	0.087	0.066	0.050	0.050	0.050	0.55	0.057	0.036	0.020	0.020	0.020
河南	108	2	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020
		3	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020
	162	2	0.054	0.050	0.050	0.050	0.050	0.064	0.024	0.020	0.020	0.020	0.020	0.034
		3	0.051	0.050	0.050	0.050	0.050	0.057	0.021	0.020	0.020	0.020	0.020	0.027
浙江	108	2	0.065	0.066	0.050	0.050	0.050	0.050	0.035	0.026	0.020	0.020	0.020	0.020
		3	0.082	0.086	0.050	0.050	0.050	0.050	0.052	0.048	0.020	0.020	0.020	0.020
	162	2	0.092	0.21	0.050	0.050	0.050	0.050	0.062	0.14	0.020	0.020	0.020	0.020
		3	0.14	0.30	0.050	0.050	0.050	0.050	0.10	0.23	0.020	0.020	0.020	0.020
福建	108	2	0.12	0.092	0.050	0.050	0.050	0.050	0.091	0.062	0.020	0.020	0.020	0.020
		3	0.12	0.14	0.050	0.050	0.050	0.050	0.088	0.11	0.020	0.020	0.020	0.020
	162	2	0.16	0.25	0.050	0.050	0.050	0.050	0.13	0.22	0.020	0.020	0.020	0.020
		3	0.19	0.34	0.050	0.050	0.050	0.050	0.16	0.31	0.020	0.020	0.020	0.020
广西	108	2	0.050	0.050	0.050	0.050	0.060	0.050	0.020	0.020	0.020	0.020	0.030	0.020
		3	0.050	0.050	0.050	0.077	0.060	0.050	0.020	0.020	0.020	0.047	0.030	0.020
	162	2	0.050	0.050	0.050	0.084	0.069	0.050	0.020	0.020	0.020	0.054	0.039	0.020
		3	0.050	0.050	0.050	0.091	0.057	0.050	0.020	0.020	0.020	0.061	0.027	0.020
湖南	108	2	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020
		3	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020
	162	2	0.050	0.050	0.050	0.059	0.050	0.050	0.020	0.020	0.020	0.029	0.020	0.020
		3	0.050	0.050	0.050	0.11	0.050	0.050	0.020	0.020	0.020	0.090	0.020	0.020

表 8 不同施药剂量、施药次数和采样间隔螺虫乙酯残留量对比
Table 8 Comparison of spirotetramat residues in different dosage, frequency and interval to harvest

采收间隔期/d	施药剂量/(g a.i./hm ²)	施药次数	风险评估定义残留量/(mg/kg)		监测定义残留量/(mg/kg)	
			食荚豌豆	豌豆	食荚豌豆	豌豆
7	108	2	0.101	0.0500	0.0710	0.0200
		3	0.0870	0.0545	0.0567	0.0245
	162	2	0.143	0.0572	0.113	0.0272
		3	0.177	0.0668	0.145	0.0385
14	108	2	0.0608	0.0517	0.0292	0.0217
		3	0.0713	0.0517	0.0400	0.0217
	162	2	0.114	0.0532	0.0775	0.0232
		3	0.146	0.0512	0.110	0.0212
21	108	2	0.0500	0.0500	0.0200	0.0200
		3	0.0520	0.0500	0.0220	0.0200
	162	2	0.0515	0.0523	0.0215	0.0223
		3	0.0527	0.0512	0.0227	0.0212

2.4 长期膳食摄入评估

本研究在豌豆、西葫芦、柿子等不同作物上已有规范的残留试验数据, 残留中值及食物归类见表 9。参考卫生部 2002 年发布的中国不同人群消费膳食分組食谱, 我国城乡居民的干豆类及其制品、深色蔬菜、浅色蔬菜和水果的每日食物摄入量分别为 0.016、0.0915、0.1837 和 0.0457 kg。本研究在深色蔬菜(甜椒)和水果(山楂)上已有规范的残留试验报告, 残留中值分别为 0.12 mg/kg、3.7 mg/kg。本研究中浅色蔬菜(食荚豌豆)和干豆类及其制品(豌豆)中螺虫乙酯残留中值分别是 0.057 mg/kg 和 0.05 mg/kg, 我国规定螺虫乙酯的 ADI 值为 0.05 mg/(kg bw), 我国居民的平均体重为 63 kg。螺虫乙酯普通人群的长期膳食摄入评估结果见表 10。

3 结论与讨论

本研究建立了乙腈提取, PSA 和 GCB 净化, 高效液相色谱串联四极杆质谱检测的前处理方法和仪器方法。本研究前处理方法有机提取溶剂为市场上易购买的乙腈, 且用量较少, 有利于节省试验成本, 减少试剂对环境的污染。前处理方法提取 10 min, 离心 5 min, 涡旋 1min, 再次离心 5 min, 用时较短, 有利于提高试验效率, 节省

试验时间。

螺虫乙酯在不同基质中可能转化成不同的代谢物, 螺虫乙酯在菠菜叶中主要代谢生成酮基-羟基、烯醇-葡萄糖苷、烯醇; 菠菜茎中主要代谢生成烯醇-葡萄糖苷和烯醇; 菠菜根中主要代谢生成烯醇; 种植菠菜的土壤中主要代谢生成酮基-羟基和单-羟基^[3]。螺虫乙酯在柑橘全果中主要代谢生成烯醇、酮基-羟基和烯醇-葡萄糖苷, 种植柑橘的土壤中则主要生成酮基-羟基和烯醇-葡萄糖苷^[7]。本研究发现螺虫乙酯主要代谢物在食荚豌豆中酮基-羟基和烯醇有检出, 烯醇-葡萄糖苷和单-羟基均低于最低检测浓度。在豌豆中其主要代谢物仅烯醇有检出, 烯醇-葡萄糖苷、酮基-羟基和单-羟基均未检出, 原因可能是螺虫乙酯在豌豆中主要转化的代谢物是烯醇, 或是在该施药剂量下螺虫乙酯转化烯醇-葡萄糖苷、酮基-羟基和单-羟基的量低于最低检测浓度。当施药次数和施药剂量相同时, 食荚豌豆中螺虫乙酯风险评估定义残留量和监测定义残留量均随着采收间隔期的增加在减少, 说明采收间隔期与最终残留量存在负相关。可能是因为随着采收时间的延长, 螺虫乙酯及其代谢物在消解; 同时食荚豌豆没有停止生长, 其生长的稀释作用进一步降低螺虫乙酯及其代谢物最终残留量。当采收间隔期和施药次数相同时, 螺虫乙酯及其代谢物的残留量随着施药剂量的增加而增加, 表明螺虫乙酯及其代谢物在食

表 9 不同作物食物归类及螺虫乙酯风险评估定义残留中值
Table 9 Supervised trials median residue in different food groups of spirotetramat residue for dietary intake

作物	食物归类	残留中值 /(mg/kg)	作物	食物归类	残留中值 /(mg/kg)	作物	食物归类	残留中值 /(mg/kg)
甜椒	深色蔬菜	0.12	茄子	浅色蔬菜	0.11	黄秋葵	浅色蔬菜	0.14
西葫芦	浅色蔬菜	0.070	冬瓜	浅色蔬菜	0.10	豇豆	浅色蔬菜	0.10
食荚豌豆	浅色蔬菜	0.057	金橘	水果	0.12	山楂(果肉)	水果	3.70
桃(果肉)	水果	0.050	枣(果肉)	水果	0.23	樱桃(果肉)	水果	0.12
柿子	水果	0.32	杨梅	水果	0.17	莲雾	水果	0.050
龙眼	水果	0.05	菠萝(果肉)	水果	0.05	杏(果肉)	水果	0.070
豌豆	干豆类及其制品	0.050						

表 10 螺虫乙酯风险评估计算表
Table 10 Risk assessment for dietary residue intake of spirotetramat

食物种类	膳食量/kg	参考限量	限量来源	国家估计每日摄入量/mg	日允许摄入量/mg	风险概率/%
干豆类及其制品	0.016	0.05	残留中值	0.0008		
深色蔬菜	0.0915	0.12	残留中值	0.01098		
浅色蔬菜	0.1837	0.057	残留中值	0.0104709		
水果	0.0457	3.7	残留中值	0.16909		
合计				0.1913409	3.15	6.07%

荚豌豆中的残留量和施药剂量呈正相关。当施药剂量和采收间隔期相同时,螺虫乙酯及其代谢物的残留量随着施药次数的增加而增加,表明螺虫乙酯及其代谢物在食荚豌豆中的残留量和施药次数呈正相关。不同施药次数、施药剂量和采收间隔期,豌豆中螺虫乙酯风险评估定义残留量和监测定义残留量随着采收间隔期的增加变化不明显。可能是因为豌豆荚直接着药,而检测部位是豌豆,豌豆中大部分样品均低于最低检测浓度。一年6地食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯及其代谢物残留量检测结果表明,当施药剂量、施药次数和采样间隔相同时,螺虫乙酯及其代谢物在食荚豌豆中的残留量大于豌豆中的残留量。原因可能是在施药时主要着药部位是豌豆荚,食荚豌豆样品检测部位是豌豆荚和豌豆粒一起检测,而豌豆样品检测部位是豌豆粒。

我国和国际食品法典委员会均未制定食荚豌豆和豌豆中螺虫乙酯的最大残留限量^[33],无法通过检测结果直接判定按本研究的施药方法施药后的食荚豌豆和豌豆残留是否合格,因此需要对按照本研究的施药次数、施药剂量和采收间隔期使用后的食荚豌豆和豌豆进行膳食摄入评估。根据1.4中公式进行计算,螺虫乙酯普通人群的国家估计每日摄入量是0.191 mg,占日允许摄入量的6.07%左右,认为螺虫乙酯在食荚豌豆和豌豆中的残留对一般人群健康的影响是在一个可接受的风险水平。

不同作物部位螺虫乙酯代谢物的转化不同,食荚豌豆中主要代谢物是酮基-羟基和烯醇,豌豆中是烯醇。螺虫乙酯及其代谢物在食荚豌豆中的残留量与施药次数和施药剂量呈正相关,与采收间隔期呈负相关。施药措施相同时,食荚豌豆中螺虫乙酯及其代谢物的残留量比豌豆中高。按本研究的施药剂量、施药次数和采收间隔期进行施药,认为对一般人群健康不会产生不可接受的风险。

参考文献

- [1] 胡笑彤. 农药手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015.
- [2] HU XX. Pesticide handbook [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015.
- [3] LI SS, LIU XG, DONG FS, *et al.* Chemometric-assisted QuEChERS extraction method for the residual analysis of thiacloprid, spirotetramat and spirotetramat's four metabolites in pepper: Application of their dissipation patterns [J]. Food Chem, 2016, 192: 893–899.
- [4] CHEN XJ, MENG ZY, ZHANG YY, *et al.* Degradation kinetics and pathways of spirotetramat in different parts of spinach plant and in the soil [J]. Environ Sci Poll Res, 2016, 23(15): 15053–15062.
- [5] 刘炎, 欧阳迪庆, 叶玉凤, 等. QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法同时测定番茄中噻虫嗪、噻虫胺、螺虫乙酯及其代谢物残留[J]. 分析测试学报, 2017, 36(12): 1431–1438.
- [6] LIU Y, OUYANG DQ, YE YF, *et al.* Analysis of thiamethoxam, clothianidin and spirotetramat and their metabolites residues in tomato using QuEChERS method with ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2017, 36(12): 1431–1438.
- [7] 黄玉南, 乔成奎, 庞涛, 等. 螺虫乙酯及其代谢产物在猕猴桃中的残留消解动态[J]. 现代食品科技, 2018, 34(12): 1–7.
- [8] HUANG YN, QIAO CK, PANG T, *et al.* Residue and dissipation of spirotetramat and its metabolites in kiwifruits and soil [J]. Mod Food Sci Technol, 2018, 34(12): 1–7.
- [9] 丁丹, 杨仁斌, 雷鸣, 等. 螺虫乙酯及其四种代谢产物在柑桔中的消解残留规律研究[J]. 中国南方果树, 2018, 47(3): 41–45.
- [10] DING D, YANG RB, LEI M, *et al.* Study of degradation and residual regulation of spirotetramat and its 4 metabolites in citrus [J]. South Chin Fruit, 2018, 47(3): 41–45.
- [11] 叶玉凤. 螺虫乙酯在柑橘和土壤中的残留规律和降解动态研究[D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- [12] YE YF. Study on residues rule and degradation dynamics of spirotetramat in citrus and soil [D]. Chongqing: Southwest University, 2018.
- [13] 刘炎. 30%螺虫乙酯·噻虫嗪悬浮剂在番茄和土壤中的残留及其对品质的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- [14] LIU Y. Residue dynamics of 30% spirotetramat-thiamethoxam SC in tomatoes and soil and its effect on quality [D]. Chongqing: Southwest University, 2018.
- [15] SHUKLA VR, PATEL AR, PARMAR KD, *et al.* Persistence of spirotetramat residues in/on brinjal and soil [J]. Pesti Res J, 2016, 28(2): 243–247.
- [16] ZHANG QT, CHEN YL, WANG SY, *et al.* Dissipation, residues and risk assessment of spirotetramat and its four metabolites in citrus and soil under field conditions by LC-MS/MS [J]. Biomed Chromatogr, 2018, 32: e4153.
- [17] 熊永, 万亚美, 郭聪聪, 等. 螺虫乙酯·伊维菌素在梨和土壤中的残留分析方法[J]. 河北农业大学学报, 2018, 41(4): 82–86.
- [18] XIONG Y, WAN YM, GUO CC, *et al.* A method to detect residues of spirotetramat-ivermectin in pear and soil [J]. J Hebei Agric Univ, 2018, 41(4): 82–86.
- [19] ZHU YL, LIU XG, XU J, *et al.* Simultaneous determination of spirotetramat and its four metabolites in fruits and vegetables using a modified quick easy cheap effective rugged and safe method and liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2013, 1299: 71–77.
- [20] 郭庆龙, 管旭芳, 赵勇, 等. 气相色谱-质谱法测定蔬菜和水果中螺虫乙酯的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2017, 53(8): 885–889.
- [21] GUO QL, GUAN XF, ZHAO Y, *et al.* GC-MS determination of residual amount of spirotetramat in vegetables and fruits [J]. Phy Test Chem Anal (Part B: Chem Anal), 2017, 53(8): 885–889.
- [22] 韩丙军, 林冰, 黄海珠, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中螺虫乙酯及其代谢物残留[J]. 食品科技, 2017, 42(12): 297–302.
- [23] HAN BJ, LIN B, HUANG HZ, *et al.* Determination of spirotetramat and its major metabolites in food products of animal origin using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Sci Technol, 2017, 42(12): 297–302.
- [24] 张燕, 舒平, 赵浩军, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定农产品中螺虫乙酯及其3种代谢产物残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(13): 3245–3250.
- [25] ZHANG Y, SHU P, ZHAO HJ, *et al.* Determination of spirotetramat and its 3 metabolites in agriculture products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry combined with dispersive solid phase extraction [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(13): 3245–3250.

- [16] MOHAPATRA S, KUMAR S, PRAKASH GS. Residue evaluation of imidacloprid, spirotetramat, and spirotetramat-enol in/on grapes (*Vitis vinifera* L.) and soil [J]. Environ Monit Assess, 2015, 187: 632.
- [17] MOHAPATRA S, DEEPA M, LEKHA S, et al. Residue dynamics of spirotetramat and imidacloprid in/on mango and soil [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2012, 89(4): 862–867.
- [18] MATHEW TB, BEEVI SN, GEORGE T, et al. Persistence and dissipation of combination-mix (spirotetramat+imidacloprid) on chilli (*Capsicum annum* L.) [J]. Pesti Res J, 2012, 24(2): 151–154.
- [19] PANDISELVI S, SATHIYANARAYANAN S, RAMESH A. Determination of spirotetramat and imidacloprid residues in cotton seed, lint, oil and soil by HPLC UV method and their dissipation in cotton plant [J]. Pesti Res J, 2010, 22(2): 168–173.
- [20] KUMAR BV, KUTTALAM S. Harvest time residues of spirotetramat in cotton [J]. Madras Agric J, 2012, 99(7-9): 580–582.
- [21] SINGH B, MANDAL K, SAHOO SK, et al. Development and validation of an HPLC method for determination of spirotetramat and spirotetramat cis enol in various vegetables and soil [J]. J AOAC Int, 2013, 96(3): 670–675.
- [22] PANDISELVI V, SATHIYANARAYANAN S, RAMESH A. Dissipation of spirotetramat and imidacloprid in four different tropical soils-confirmation of residues by electrospray tandem mass spectrometry [J]. Pesti Res J, 2011, 23(1): 45–51.
- [23] WU JX, WANG CJ, WANG K, et al. Determination of spirotetramat in complex matrices combining QuEChERS and solid phase extraction followed by high performance liquid chromatography [J]. Asian J Chem, 2015, 27(8): 2779–2782.
- [24] VINOTHKUMAR B, KUTTALAM S, CHANDRASEKARAN S. Dissipation pattern of spirotetramat in/on green chillies [J]. Pesti Res J, 2012, 24(1): 96–100.
- [25] 田宏哲, 张明浩, 周鑫杰, 等. 螺虫乙酯在大豆和土壤中的残留及消解动态[J]. 河北农业大学学报, 2018, 41(4): 73–81.
- TIAN HZ, ZHANG MH, ZHOU XJ, et al. Residues and decline study of spirotetramat in soybean and soil [J]. J Hebei Agric Univ, 2018, 41(4): 73–81.
- [26] MASTAN J, SRINIVAS BN, NAGESWARA RT, et al. Dissipation kinetics of spirotetramat and its metabolite in four different soils [J]. Anal Chem, 2016, 16(10): 433–440.
- [27] BHARDWAJ U, JYOT G, MANDAL K, et al. Residues of spirotetramat and imidacloprid in brinjal (*Solanum melongena* L.) and their risk assessment [J]. Pesti Res J, 2016, 28(1): 35–41.
- [28] CHEN XJ, MENG ZY, REN L, et al. Determination and safety assessment of residual spirotetramat and its metabolites in amaranth (*amaranthus tricolor*) and soil by liquid chromatography triple-quadrupole tandem mass spectrometry [J]. J AOAC Int, 2018, 101(3): 848–857.
- [29] HAN YT, XU J, DONG FS, et al. The fate of spirotetramat and its metabolite spirotetramat-enol in apple samples during apple cider processing [J]. Food Control, 2013, 34(2): 283–290.
- [30] LIU YY, SU XS, JIAN Q, et al. Behaviour of spirotetramat residues and its four metabolites in citrus marmalade during home processing [J]. Food Addit Contams: Part A, 2016, 33(3): 452–459.
- [31] NY/T 788—2018 农作物中农药残留试验准则[S].
NY/T 788—2018 Guideline for the testing of pesticide residues in crops [S].
- [32] 张志恒, 汤涛, 徐浩, 等. 果蔬中氯吡啶残留的膳食摄入风险评估[J]. 中国农业科学, 2012, 45(10): 1982–1991.
- ZHANG ZH, TANG T, XU H, et al. Dietary intake risk assessment of forchlorfenuron residue in fruits and vegetables [J]. Sci Agric Sin, 2012, 45(10): 1982–1991.
- [33] GB 2763—2019 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763—2019 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



宋彦, 硕士, 主要研究方向为农产品质量安全工作。

E-mail: songyan020@163.com



安莉, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。

E-mail: cpulian@126.com