

高效氯氟菊酯和吡丙醚在芥蓝中的残留消解及膳食暴露风险评估

唐红霞^{1#}, 李玉博^{1#}, 张颂函², 吴 竞¹, 董茂锋^{1*}, 王伟民¹, 赵 莉²

(1. 上海市农业科学院农药安全评价研究中心, 农业农村部转基因生物安全评价(环境)重点实验室, 上海 201106;

2. 上海市农业技术推广服务中心, 上海 201103)

摘要 为明确高效氯氟菊酯和吡丙醚在芥蓝上施用后的残留行为和膳食暴露风险, 研究基于规范田间残留试验、目标农药在芥蓝上残留分析方法, 得到芥蓝中2种农药的残留水平, 结合我国膳食结构不同性别/年龄组食物消费量及体重数据评估了高效氯氟菊酯和吡丙醚对各类消费人群的长期和短期膳食摄入风险。结果表明: 高效氯氟菊酯和吡丙醚分别在0.01~1.0 mg/L和0.005~1.0 mg/L范围内线性关系良好, 决定系数(R^2) ≥ 0.9967 。在3个添加水平下, 芥蓝中2种农药的平均回收率为70.6%~113.4%, 相对标准偏差(RSD)为0.5%~8.5%, 定量限均为0.01 mg/kg。10%高氯·吡丙醚微乳剂以推荐高剂量施药, 高效氯氟菊酯和吡丙醚在芥蓝中的消解符合一级动力学, 半衰期分别为3.9~10.1 d和4.8~6.3 d。最终残留试验结果表明, 最后一次施药3、5、7、10 d后, 芥蓝中高效氯氟菊酯的最终残留量 ≤ 0.904 mg/kg, 吡丙醚的最终残留量 ≤ 0.202 mg/kg。膳食风险评估表明, 我国不同人群的长期慢性暴露风险最大值为27.26%; 短期急性暴露风险最大值为67.17%, 表明对不同年龄段、不同性别人群健康不会产生不可接受的风险。

关键词 芥蓝; 高效氯氟菊酯; 吡丙醚; 膳食摄入评估

中图分类号: S 481.8 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2023002

Dissipation, residue and dietary risk assessment of *beta*-cypermethrin-pyriproxyfen in Chinese kale

TANG Hongxia^{1#}, LI Yubo^{1#}, ZHANG Songhan², WU Jing¹, DONG Maofeng^{1*},

WANG Weimin¹, ZHAO Li²

(1. Pesticide Safety Evaluation Research Center, Key Laboratory for Safety Assessment (Environment) of Agricultural Genetically Modified Organisms, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China; 2. Shanghai Agricultural Technical Extension Service Center, Shanghai 201103, China)

Abstract The study aimed to confirm the residue dissipation and the dietary risk of *beta*-cypermethrin and pyriproxyfen in Chinese kale. Based on good agricultural practices and analytical methods, residue levels of *beta*-cypermethrin and pyriproxyfen were determined in Chinese kale. Long-term and short-term dietary intake risk assessment of *beta*-cypermethrin and pyriproxyfen were evaluated based on the date of food consumption and weight data of different gender/age groups in dietary structure studies. Good linear relationships were presented in the range of 0.01–1.0 mg/L and 0.005–1.0 mg/L, respectively, and the coefficient of determination (R^2) were above 0.9967. The average recoveries of the pesticides in the Chinese kale with three spiked levels varied from 70.6% to 113.4%, with relative standard deviations (RSDs) of 0.5%–8.5%. The limit of qualification (LOQ) was 0.01 mg/kg. Residue experiments of *beta*-cypermethrin • pyriproxyfen 10% microemulsion (ME) in Chinese kale were carried out with each high recommended dosage. The dissipations of *beta*-cypermethrin and pyriproxyfen were followed first-order kinetic equations. The degradation half-lives were 3.9–10.1 days and 4.8–6.3 days, respectively. The final residues of *beta*-cypermethrin and pyriproxyfen in Chinese kale were lower

收稿日期: 2023-01-03

修订日期: 2023-01-16

基金项目: 上海市科技兴农技术推广项目(沪农科推字(2022)第2-4号)

* 通信作者 E-mail: dm1385@163.com

为并列第一作者

than 0.094 mg/kg and 0.202 mg/kg, respectively, after 3, 5, 7, 10 days of the last application. For dietary exposure risk assessments, the maximum value of the risk of chronic exposure under different Chinese ages was 27.26% and the maximum value of the risk of acute exposure was 67.17%, and both below 100%. It indicated that the agents of *beta*-cypermethrin · pyriproxyfen 10% ME sprayed on Chinese kale at the recommended dosages had no unacceptable potential risks for Chinese consumers.

Key words Chinese kale; *beta*-cypermethrin; pyriproxyfen; risk assessment of dietary residue intake

芥蓝 *Brassica oleracea* var. *albiflora*, 为十字花科芸薹属 *Brassica* 一年生草本植物, 在中国有 900 多年的栽培历史, 由于其柔嫩、清甜、鲜脆的口感广受人们喜爱^[1-2]。近几年, 上海形成了芥蓝全年栽培的高效种植模式, 显著提升了芥蓝的生产效益。然而, 由于芥蓝一年多茬的种植模式, 病虫害成为影响其品质的主要不利因素, 小菜蛾 *Plutella xylostella*、蚜虫、黄条跳甲 *Phyllotreta* spp.、霜霉病、灰霉病等严重影响了芥蓝生产。相比其广泛种植和病虫害发生现状, 芥蓝上有限的登记农药数量成为了制约其规范合理生产和化学防治的短板。通过查阅中国农药信息网可知, 截至 2022 年 10 月 17 日, 芥蓝上农药总共登记 19 个, 其中 14 个为吡啉醚菌酯-代森联复配剂用于防治霜霉病, 5 个杀虫剂产品(阿维·虫螨腈、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐、杀虫·啉虫脒、高氟氯·虱螨脲和甲维·虫螨腈)主要防治小菜蛾、黄条跳甲和菜青虫 *Pieris rapae*^[3]。因此, 不断更新和扩充芥蓝上的登记用药不仅有利于降低病虫害抗性, 也有利于丰富栽培过程中的防治技术手段, 促进芥蓝种植技术的发展。

高效氯氰菊酯是一种高效、广谱、触杀性强的杀虫剂, 在植物体内无内吸和传导作用, 对鳞翅目、鞘翅目等多种害虫有良好的防治效果, 且持效期较长, 作用迅速; 吡丙醚是保幼激素类似物, 为扰乱昆虫生长的昆虫生长调节剂, 对同翅目、缨翅目、双翅目、鳞翅目等多种害虫有良好的防治效果, 具有高效、持效期长、对生态环境影响小的特点^[4-8]。高效氯氰菊酯-吡丙醚复配剂可有效防治芥蓝中的小菜蛾、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura*、斑潜蝇和蚜虫, 保障芥蓝在生产过程中的优质高产, 但在实际应用中还需要对其残留情况和膳食风险进行评估, 确保其使用安全性。

本试验根据《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》(GB 2763-2021)^[9]和农药残留联席会议(JMPR)评估报告^[10-11], 即高效氯氰菊酯的风险评估定义是氯氰菊酯(异构体之和), 吡丙醚的风险

评估定义是吡丙醚, 建立了采用乙腈提取、固相萃取柱或分散固相萃取净化, 气相色谱法和液相色谱串联质谱法分别检测高效氯氰菊酯和吡丙醚的残留分析方法。按照《农药登记试验质量管理规范》(农业农村部 2570 号公告)^[12]和《农作物中农药残留试验准则》^[13]要求开展田间试验探究高效氯氰菊酯和吡丙醚在芥蓝上的消解动态和最终残留, 结合毒理学指标和不同人群食物消费量进行了长期慢性和短期急性膳食风险评估, 旨在确保高效氯氰菊酯和吡丙醚在芥蓝上的安全使用, 为其安全合理使用提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

10%高氯·吡丙醚微乳剂(ME)购自上海生农生化制品股份有限公司; 高效氯氰菊酯(99.9 mg/L)、吡丙醚(999.8 mg/L)标准品购自北京振翔科技有限公司; 乙腈(色谱纯)和甲醇(色谱纯)购自美国 Merck 公司; 正己烷(色谱纯)、丙酮(色谱纯)、甲酸(色谱纯)和乙酸铵(色谱纯)购自上海安谱实验科技股份有限公司; 氯化钠和无水硫酸镁(分析纯)购自上海化学试剂公司; 弗罗里硅土 SPE 小柱(500 mg/3 mL)购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司; WondaPak QuEChERS 分散固相萃取管(50 mg PSA, 150 mg MgSO₄, 2 mL)购自上海润葱珀商贸有限公司。

LCMS-8045 液相色谱-串联质谱仪, GC-2014 气相色谱仪(配备双 ECD 检测器)(日本 Shimadzu 公司); MX-F 涡动混合器(中国 Dragonlab 公司); ST16 离心机[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; 其他实验室常用仪器设备。

1.2 田间试验方法

参照《农作物中农药残留试验准则》(NY/T 788-2018)^[13]和《农药登记残留试验区域指南》(农药检(残留)[2018]18 号)^[14]的规定, 选取 6 地在露地模式下开展最终残留试验, 其中 3 地同时开展残留

消解试验。于2020年在上海市、贵州省、广东省、河北省、山东省和湖南省6地进行了10%高氯·吡丙醚微乳剂残留试验,其中上海市、贵州省、广东省进行了消解动态试验。试验设置处理和对照2个试验小区,每小区50 m²,各小区栽培条件一致。施药有效剂量为60 g/hm²;施药1次;兑水量为450 L/hm²,推荐安全间隔期为5 d。试验信息见表1。每次采

样在小区中以随机方式采集2个独立样品,每个样品剪取土表以上的茎叶至少约2 kg,不少于12点。小区边行和每行距离两端0.5 m内不采样。田间样品在采集后,8 h内运回实验室,用不锈钢刀切成1~2 cm大小的碎块,并于不锈钢盆中充分混匀,(−20±2)℃保存。样品检测分析前,将样品用粉碎机粉碎混匀。

表1 试验施药信息表(2020年)
Table 1 Experimental information of field trials on Chinese kale (2020)

试验地点 Experimental site	品种名称 Variety name	试验时间 Test time	试验期间温度及降雨 Temperature and rainfall in test time	采收间隔/d Sampling interval
上海市松江区新浜镇 Xinbang town, Songjiang district, Shanghai	香菇芥蓝	06-26-07-10	气温25~32℃,降水量237 mm	末次施药后0.083、3、5、7、10、14
贵州省罗甸县逢亨镇 Fengting town, Luodian county, Guizhou	顺宝芥蓝	11-29-12-13	气温2~19℃,降水量19 mm	末次施药后0.083、3、5、7、10、14
广东省佛山市南海区西樵镇 Xiqiao town, Nanhai district, Foshan city, Guangdong	金沙脆肉芥蓝	11-23-12-07	气温10~27℃,降雨量0 mm	末次施药后0.083、3、5、7、10、14
河北省石家庄市栾城区窦姬镇 Douyu town, Luancheng district, Shijiazhuang city, Hebei	香港中华芥蓝	05-20-05-30	气温15~30℃;降水量38 mm	末次施药后3、5、7、10
山东省青岛市莱西市店埠镇 Dianbu town, Laixi city, Qingdao city, Shandong	四季白花芥蓝	07-18-07-28	气温21~31℃;降水量192 mm	末次施药后3、5、7、10
湖南省长沙市春华镇 Chunhua town, Changsha city, Hunan	香菇芥蓝	10-27-11-06	气温15~23℃;降水量5 mm	末次施药后3、5、7、10

1.3 分析方法

1.3.1 样品提取和净化

准确称取混合均匀的芥蓝样品(5±0.05) g至50 mL聚乙烯塑料离心管中,加入10 mL乙腈,以2 000 r/min涡旋提取15 min,加入5 g氯化钠,涡旋30 s,以4 500 r/min离心5 min。移取1.5 mL上清液于装有50 mg PSA和150 mg MgSO₄的分散固相萃取管中,涡旋30 s,以10 000 r/min离心1 min,过0.22 μm有机滤膜至进样小瓶中,待LC-MS/MS检测。另移取4 mL上清液于烧杯中,40℃浓缩吹干后,加2 mL正己烷溶解,将弗罗里硅土固相萃取柱依次用2.5 mL丙酮:正己烷(1:9,V:V)、2.5 mL正己烷预淋洗,当溶剂液面到柱吸附层表面时,立即将复溶液转入柱中,用2.5 mL丙酮:正己烷(1:9,V:V)混合液洗脱2次,收集复溶液和两次洗脱液,于40℃浓缩吹干后,用2 mL正己烷定容,待GC检测。

1.3.2 LC-MS/MS检测条件

液相色谱条件:Agilent EC-C18色谱柱(100 mm×3.0 mm,2.7 μm);柱温40℃;流速0.5 mL/min;进样量5 μL。流动相A相为体积分数0.1%的甲酸水溶液,B相为纯甲醇,梯度洗脱程序:0 min(90%

A),0.5 min(90% A),1.0 min(10% A),4.7 min(10% A),5.0 min(90% A),6.5 min(90% A)。

质谱条件:电喷雾电离(electron spray ionization,ESI)离子源,吡丙醚正离子模式;雾化器气体流量:3 L/min(N₂,99.9%);干燥气流流量:10 L/min(N₂,99.9%);脱除溶剂管(DL管)温度:250℃;加热模块温度:400℃。检测模式:多反应监测(MRM)模式,前体离子322.00(*m/z*);定量离子为185.00(*m/z*),定性离子为185.00(*m/z*)和96.06(*m/z*);碰撞能量均为−10 eV。

1.3.3 GC检测条件

Rtx-5色谱柱(0.25 mm×30 m,0.25 μm);检测器温度:280℃;柱温:初始温度80℃保持1.0 min,再以30℃/min的速率升温至280℃,保持8 min;载气:高纯氮气(纯度99.999%),载气流速:1.84 mL/min;压力:137.5 kPa;进样方式:不分流进样;进样量:1 μL;高效氯氟菊酯保留时间10.85 min。

1.3.4 标准曲线

取999.8 mg/L吡丙醚标准溶液,乙腈稀释至10 mg/L的标准工作溶液,样品测定前使用空白芥蓝基质溶液稀释,配制成0.005、0.01、0.05、0.1、

0.5、1.0 mg/L 的系列基质匹配标准溶液,按上述液相色谱串联质谱条件进行测定,以离子峰面积和质量浓度做标准曲线。

取 99.9 mg/L 高效氯氰菊酯标准溶液,用正己烷稀释,配制成 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0 mg/L 的系列标准溶液,按上述气相色谱条件进行测定,以色谱峰面积和质量浓度做标准曲线。

1.3.5 添加回收试验

按照《农作物中农药残留试验准则》(NY/T 788-2018)^[13]要求进行添加回收试验,分别在空白芥蓝样品中添加 3 个水平的高效氯氰菊酯(0.01、0.1、2 mg/kg)和吡丙醚(0.01、0.7、2 mg/kg)标准溶液,每个水平重复 5 次。按照 1.3.1 提取和净化,1.3.2 和 1.3.3 的检测条件进行分析,外标法定量,计算添加回收率(正确度)和相对标准偏差(精密度)。

1.4 长期慢性膳食摄入风险评估

根据中国政府发布的不同人群膳食消费分布数据进行膳食摄入风险评估^[15]。长期慢性膳食摄入风险计算公式见(1)和(2)。

$$NEDI = (\sum STMR_i \times F_i) / bw \tag{1}$$

$$RQ = NEDI / ADI \times 100\% \tag{2}$$

式(1)中:NEDI 为国家估算每日摄入量(mg/kg bw);STMR_i 为规范残留试验农产品中农药残留中值或者是已经建立的 MRLs(mg/kg);F_i 为第 i 种食物在不同人群的每日平均消费量(kg/d);bw 为人群平均体重(kg)。

式(2)中:RQ 为长期膳食摄入风险,用长期暴露风险商表示;ADI 为每日允许摄入量(mg/kg bw)。

当 NEDI 小于 ADI,即 RQ≤100%时,可认为对特定人群健康产生的风险是可接受的;当 NEDI 大于 ADI,即 RQ>100%时,可认为对特定人群健康产生的风险是不可接受的。

1.5 短期急性膳食摄入风险评估

根据联合国粮食及农业组织/世界卫生组织(FAO/WHO)农药残留专家联席会议(JMPR),农药急性膳食风险评估^[16]计算公式见(3)和(4)。

$$IESTI = LP \times HR \times v / bw \tag{3}$$

$$HQ = IESTI / ARfD \times 100\% \tag{4}$$

式(3)中:IESTI 为每日急性膳食摄入量(mg/kg bw);LP 为大部分膳食者每日消耗量(覆盖 97.5%的消费者)(kg),按照中国总膳食研究不同性别/年龄组各类食物消费量计;HR 为检测中获得最大残留量(mg/kg);v 为差异系数,按照 JMPR 急性膳食摄入量计算中采用的差异因子,差异因子选 3;bw 为人群平均体重(kg)。

式(4)中:HQ 为短期膳食摄入风险,用短期暴露风险商表示;ARfD 为每日急性参考剂量(mg/kg bw)。

当 HQ>100%时,表示不可接受的急性风险,反之,当 HQ≤100%时,表示无风险或者风险很小,可忽略。

2 结果与分析

2.1 方法的准确性、精密度和灵敏度

在 1.3.4 线性范围内,高效氯氰菊酯和吡丙醚的质量浓度与对应的响应值呈良好线性关系,R²在 0.996 7~0.999 6 之间,按照 3 倍信噪比估算,方法检出限(limit of detection, LOD)在 0.000 2~0.003 mg/kg,以最小添加水平为方法定量限(limit of quantitation, LOQ),高效氯氰菊酯和吡丙醚 LOQ 均为 0.01 mg/kg(表 2)。在 3 个不同添加水平和 5 个重复试验下,高效氯氰菊酯和吡丙醚在芥蓝中的回收率为 70.6%~113.4%,相对标准偏差为 0.5%~8.5%,结果均符合我国《农作物中农药残留试验准则》(NY/T 788-2018)^[13]。

表 2 芥蓝中 2 种分析物的添加回收、检出限(LOD)及定量限(LOQ)(n=5)

Table 2 Average recoveries and RSDs spiked at three levels, linearity ranges, calibration equations and calibration curve coefficients (R ²), LODs, and LOQs for two pesticides in Chinese kale samples (n=5)							
分析物 Analyte	线性范围/ (mg/L) Linear range	线性方程 Calibration equation	R ²	添加水平/ (mg/kg) Spiked level	回收率/% Recovery rate	检出限/ (mg/kg) LOD	定量限/ (mg/kg) LOQ
高效氯氰菊酯 beta-cypermethrin	0.01~1.0	y=4 861 972x+15 507	0.999 6	0.01	113.4±7.4	0.000 2	0.01
				0.1	104.1±8.5		
				2	81.4±4.4		
吡丙醚 pyriproxyfen	0.005~1.0	y=6 799 064x+64 447	0.996 7	0.01	105.0±7.0	0.000 3	0.01
				0.7	76.7±1.0		
				2	70.6±0.5		

2.2 高效氯氰菊酯和吡丙醚在芥蓝中的消解动态

高效氯氰菊酯和吡丙醚在芥蓝中的残留消解试验结果见图 1。随着施药后采样间隔增加,高效氯氰菊酯和吡丙醚在芥蓝上的残留量呈明显下降趋势,符合一级动力学方程。2 种农药在芥蓝上的半衰期分别为 3.9~10.1 d 和 4.8~6.3 d。高效氯氰菊酯在上海、贵州和广东试验点芥蓝上的原始沉积量分别为 0.919、0.926 mg/kg 和 0.785 mg/kg,半衰期分别为 9.8、10.1 d 和 3.9 d;吡丙醚在上海、贵州和广东试验点芥蓝上的原始沉积量分别为

0.200、0.444 mg/kg 和 0.502 mg/kg,半衰期分别为 4.8、6.3 d 和 6.0 d。高效氯氰菊酯在上海、贵州和广东 3 地试验点的原始沉积量相近,上海和贵州的消解半衰期也相近,但广东的消解半衰期约为上海和贵州 40%左右。由图 1 可知,上海和贵州在 0.083~14 d,高效氯氰菊酯残留量呈现一个缓慢下降的过程;但广东在 10~14 d 时残留量“断崖式”下降,导致其消解半衰期比其他两地短 60%左右,可能是由于在 10~14 d 时作物生长速度比较快。吡丙醚在上海、贵州和广东 3 地试验点的消解半衰期相

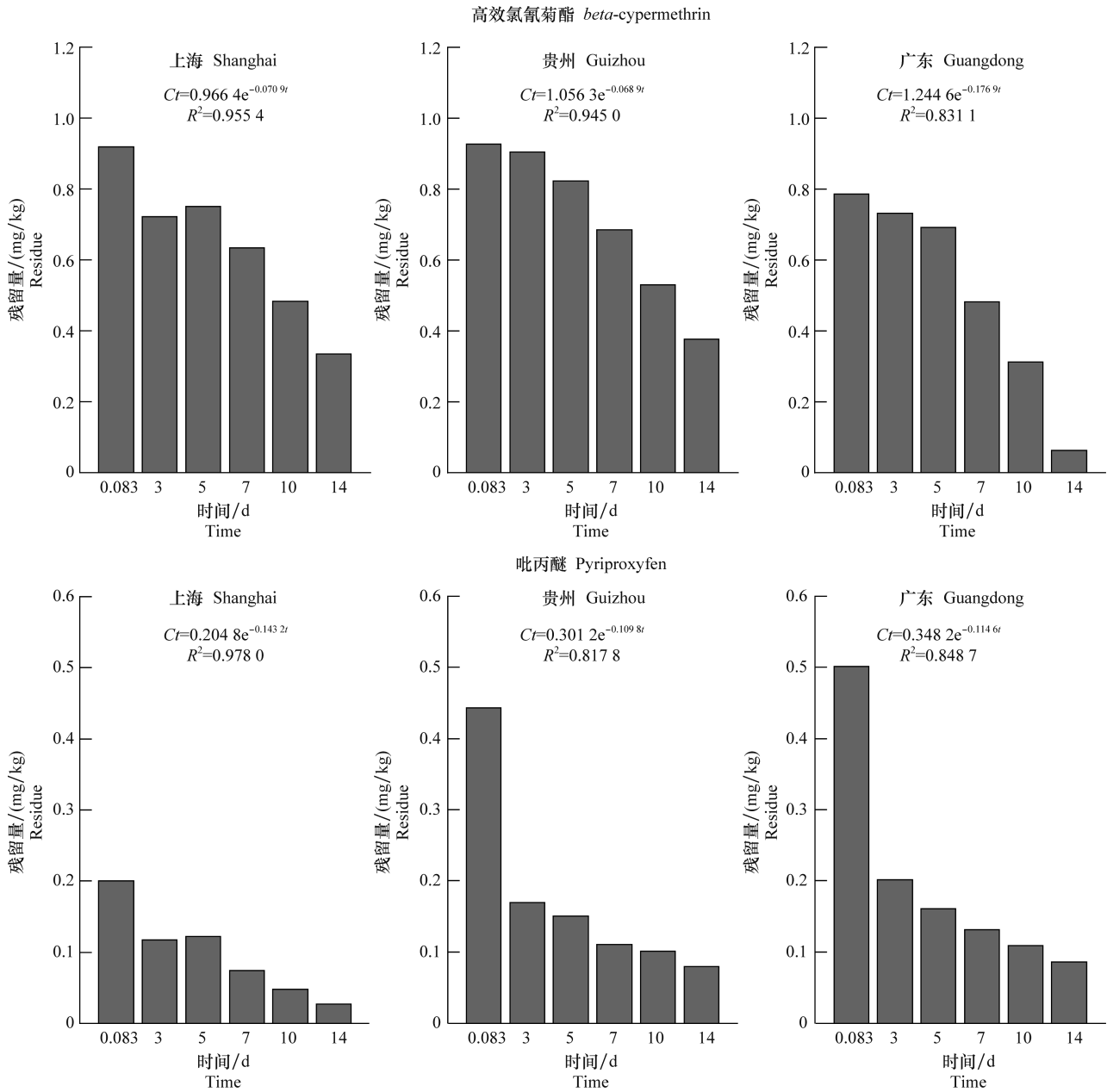


图 1 2 种农药在芥蓝中的消解动态

Fig. 1 Dissipation kinetics of two pesticides in Chinese kale

近,由图 1 可知,在 0.083~3 d 之间,3 地的残留量都呈现快速下降,14 d 时上海残留量下降 87%,贵州和广东下降 82%左右,由此可见上海的半衰期最短。

2.3 芥蓝中的最终残留

2020 年 10%高氯·吡丙醚微乳剂以有效剂量 60 g/hm² 在芥蓝 6 个试验地各施药 1 次,在施药后 3、5、7 d 和 10 d 采集芥蓝样品,6 地的最终残留试验结果均以平均值计,表 3 结果显示,芥蓝中高效氯氰菊酯的最终残留量:采收间隔 3 d 为 0.136~0.904 mg/kg,5 d 为 0.124~0.823 mg/kg,7 d 为 0.096~0.684 mg/kg,10 d 为 0.086~0.530 mg/kg;芥蓝中吡丙醚的最终残留量:采收间隔 3 d 为 0.084~0.202 mg/kg,5 d 为 0.038~0.161 mg/kg,7 d 为 0.022~0.132 mg/kg,10 d 为 0.012~0.109 mg/kg。不同试验地点和不同采收间隔之间由于气温、降水

量、光照及作物品种等的差异,高效氯氰菊酯各残留量差 6.1~7.1 倍,吡丙醚差 2.4~9.1 倍。《食品安全国家标准 食品中农药最大残留量》(GB 2763-2021)^[9]中高效氯氰菊酯在芸薹属类蔬菜上最大残留限量(MRL)为 2 mg/kg,尚未制定吡丙醚在芥蓝上最大残留限量,美国制定吡丙醚在芥蓝上最大残留限量(MRL)为 0.7 mg/kg^[17],高效氯氰菊酯和吡丙醚残留量随着采收间隔期的延长而降低,2 种农药无残留超标风险。经过计算,采收间隔 3、5、7、10 d 时芥蓝中高效氯氰菊酯残留中值(STMR)分别为 0.555、0.501、0.367 mg/kg 和 0.232 mg/kg,残留最大值(HR)为 0.904、0.823、0.684、0.530 mg/kg;吡丙醚残留中值(STMR)分别为 0.121、0.099、0.075、0.064 mg/kg,残留最大值(HR)为 0.202、0.161、0.132、0.109 mg/kg。

表 3 2 种农药在芥蓝中的最终残留量
Table 3 Terminal residues levels of two pesticides in Chinese kale

分析物 Analyte	采收间隔期/d Day after spray	残留量/(mg/kg) Final residual	残留中值/(mg/kg) STMR	残留最大值/(mg/kg) HR
高效氯氰菊酯 <i>beta</i> -cypermethrin	3	0.136,0.321,0.388,0.721,0.731,0.904	0.555	0.904
	5	0.124,0.265,0.311,0.691,0.751,0.823	0.501	0.823
	7	0.096,0.160,0.252,0.481,0.634,0.684	0.367	0.684
	10	0.086,0.097,0.152,0.312,0.483,0.530	0.232	0.530
吡丙醚 pyriproxyfen	3	0.084,0.100,0.117,0.124,0.170,0.202	0.121	0.202
	5	0.038,0.056,0.076,0.122,0.151,0.161	0.099	0.161
	7	0.022,0.040,0.074,0.076,0.111,0.132	0.075	0.132
	10	0.012,0.014,0.048,0.079,0.101,0.109	0.064	0.109

2.4 膳食风险评估

当采收间隔期为 5 d 时,高效氯氰菊酯和吡丙醚在芥蓝中的残留中值分别为 0.501 mg/kg 和 0.099 mg/kg,而高效氯氰菊酯和吡丙醚在芥蓝中的残留高值分别为 0.823 mg/kg 和 0.161 mg/kg。根据 GB 2763-2021,高效氯氰菊酯和吡丙醚的 ADI 值分别为 0.02 mg/kg bw 和 0.1 mg/kg bw,将中国不同性别/年龄组蔬菜消费量和体重数据代入公式(1)和(2),分别计算 10 个性别/年龄组通过芥蓝摄入高效氯氰菊酯和吡丙醚的 RQ;基于农药残留专家联席会议(JMPR)认为吡丙醚不需要制定急性参考剂量,因此不开展吡丙醚急性摄入风险评估;高效氯氰菊酯的每日急性参考剂量为 0.04 mg/kg bw。将高效氯氰菊酯的残留高值、不同性别/年龄组蔬菜

消费量和体重数据代入公式(3)和(4),分别计算 10 个性别/年龄组通过芥蓝摄入高效氯氰菊酯的急性摄入风险,评估结果见表 4。

评估结果显示我国各类人群对高效氯氰菊酯和吡丙醚在芥蓝中的 NEDI 值分别为 0.003 2~0.005 5 mg/kg bw 和 0.003 1~0.005 3 mg/kg bw, RQ 值分别为 15.93%~27.26% 和 0.63%~1.08%,远小于 100%;我国各类人群对高效氯氰菊酯在芥蓝中的 IEST 值为 0.015 7~0.026 9 mg/kg bw, HQ 值为 39.25%~67.17%,小于 100%,证明按照推荐的剂量、施药次数和安全间隔在芥蓝中使用 10%高氯·吡丙醚微乳剂,其残留水平不会对人类健康造成不可接受的长期慢性和短期急性的中毒风险。

表 4 芥蓝中 2 种农药对 10 个性别/年龄组的风险商和危险商

Table 4 The risk quotient and hazard quotient index values of two pesticides in Chinese kale in different gender/age groups									
年龄/性别 Age/sex	体重/kg Body weight	蔬菜摄入量/(g/d) Vegetable intake	高效氯氰菊酯 <i>beta</i> -cypermethrin				吡丙醚 pyriproxyfen		
			国家估算	风险商/% RQ	急性膳食	危险商/% HQ	国家估算	风险商/% RQ	
			每日摄入量/ (mg/kg bw) NEDI		摄入量/ (mg/kg bw) IESTI		每日摄入量/ (mg/kg bw) NEDI		
2~7 岁 2~7 years	17.9	194.8	0.005 5	27.26	0.026 9	67.17	0.005 3	1.08	
8~12 岁 8~12 years	33.1	272.4	0.004 1	20.62	0.020 3	50.80	0.004 0	0.82	
13~19 岁/男性 13~19 years/male	56.4	396.7	0.003 5	17.62	0.017 4	43.42	0.003 4	0.70	
13~19 岁/女性 13~19 years/female	50.0	317.9	0.003 2	15.93	0.015 7	39.25	0.003 1	0.63	
20~50 岁/男性 20~50 years/male	63.0	436.4	0.003 5	17.35	0.017 1	42.76	0.003 3	0.69	
20~50 岁女性 20~50 years/female	56.0	412.1	0.003 7	18.43	0.018 2	45.42	0.003 6	0.73	
51~65 岁/男性 51~65 years/male	65.0	477.9	0.003 7	18.42	0.018 2	45.38	0.003 6	0.73	
51~65 岁/女性 51~65 years/female	58.0	447.0	0.003 9	19.31	0.019 0	47.57	0.003 7	0.76	
>65 岁/男性 >65 years/male	59.5	413.3	0.003 5	17.40	0.017 2	42.88	0.003 4	0.69	
>65 岁/女性 >65 years/female	52.0	364.1	0.003 5	17.54	0.017 3	43.22	0.003 4	0.69	

3 结论与讨论

本文基于高效液相色谱串联质谱和气相色谱分别建立了芥蓝中吡丙醚和高效氯氰菊酯的分析方法,平均回收率为 70.6%~113.4%,相对标准偏差为 0.5%~8.5%,定量限均为 0.01 mg/kg,满足农药残留检测要求。10%高氯·吡丙醚微乳剂田间试验结果表明,高效氯氰菊酯和吡丙醚的消解半衰期为 3.9~10.1 d,属于易降解农药。在施药后 5 d,芥蓝中的残留水平均低于国内外设定的最大残留限量。推荐高剂量不超过残留限量,说明根据推荐的剂量和间隔天数施药是安全的。根据规范残留试验数据对芥蓝中的高效氯氰菊酯和吡丙醚的残留在不同性别/年龄分别进行长期慢性和短期急性膳食风险评估,风险概率小于 100%,表明不会对不同人群产生不可接受的风险。

参考文献

[1] 陈汉才,吴增祥,林悦欣,等. 广东菜心、芥蓝研究现状与展望[J]. 广东农业科学, 2021, 48(9): 62-71.

[2] 杜欢欢,孙亚楠,魏世锦,等. 不同品种芥蓝发芽期和苗期耐盐性鉴定及综合评价[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(15): 47-50.

[3] 中华人民共和国农业农村部农药检定所. 中国农药信息网[EB/OL]. (2020-10-17) [2022-10-17]. <http://www.icama.org.cn/hysj/index.jhtml>.

[4] 杨韵,卢森青,张阳,等. 高效氯氰菊酯对草地贪夜蛾 Sf9 细胞自噬的诱导作用[J]. 农药学报, 2017, 19(2): 176-181.

[5] 苏龙,龚道新,赵佳,等. 高效氯氰菊酯在甘蓝中的残留行为及膳食风险评估[J]. 食品科学, 2022, 43(1): 150-155.

[6] C. 马克比恩. 农药手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 249-894.

[7] 秦世鹏,胡继业. 田间条件下玉米中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和吡丙醚的残留水平与膳食风险评估[J]. 南京农业大学学报, 2022, 45(6): 1162-1173.

[8] 王小飞,张仙,彭茂民,等. QuEChERS 结合 UPLC-MS/MS 法测定番茄中吡蚜酮和吡丙醚残留量[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(24): 6575-6587.

[9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会,中华人民共和国农业农村部,国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量: GB 2763-2021[S]. 北京: 中国农业出版社, 2021.

[10] Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Cypermethrins[EB/OL]. (2020-04-15) [2023-01-03]. https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Report11/Cypermethrins.pdf.

[11] Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Pyriproxyfen[EB/OL]. (2020-04-15) [2023-01-03]. https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Reports_1991-2006/Report__2000.pdf.

组织薄片后,直接在显微镜下检查,看是否有分生孢子器埋生于病组织中,如果见到了典型分生孢子器,那就可能获得了一个初步证据,该病可能由宽颈附球孢菌引起。

5.2.2 形态学鉴定法

1)观察菌落形态、颜色;2)观察菌落中的分生孢子器和分生孢子形态,测量它们的大小。如果符合前述形态特征,就可以进一步确认所分离到的病菌可能为宽颈附球孢菌。

5.2.3 分子鉴定法

如有需要,则按文献^[1,6]方法进行。采用 CTAB 法^[7]提取可能菌株的基因组 DNA。分别用 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGC-3')/ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), Btub2Fd (5'-GTBCACCTYCARACCGGYCARTG-3')/Btub4Rd (5'-CCRGAYTGRCCRAARACRAAGTTGTC-3'), RPB2-5F2(5'-GGGGWGAYCAGAAGAAGGC-3')/fRPB2-7eR(5'-CCCATRGCTTGYYTTRCCCAT-3'), LR0R(5'-AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAG-3')/LR7 (5'-TACTACCACCAAGATCT-3')引物对 ITS、*tub2*、*rpb2* 和 LSU 基因片段进行 PCR 扩增。PCR 扩增体系(20 μ L):5 U/ μ L *Taq* DNA polymerase 0.2 μ L,10 $\times$ *Taq* Buffer 2.0 μ L,0.2 mmol/L dNTPs 1.6 μ L,DNA 1.0 μ L,10 μ mol/L 上下游引物各 1.0 μ L,用超纯水补足体积至 20.0 μ L。ITS 扩增程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,48 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 80 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 再延伸 10 min。*tub2* 扩增程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,52 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 80 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 再延伸 10 min。*rpb2* 扩增程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 45 s,60 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min,5 个循环;94 $^{\circ}$ C 变性 45 s,58 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min,5 个循环;94 $^{\circ}$ C 变性 45 s,54 $^{\circ}$ C 退火 45 s,

72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min,30 个循环;72 $^{\circ}$ C 再延伸 8 min。LSU 扩增程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95 $^{\circ}$ C 变性 45 s,48 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 再延伸 10 min。对扩增片段进行测序,从 GenBank 网站下载其他近似菌株及 WS-1 (OM131567)和 WS-191 (OM131595)序列和外组菌株对应序列,使用 MEGA-X 软件剪切各序列,使相同基因片段序列的长度一致,按照 *rpb2-tub2*-ITS-LSU 的顺序首尾拼接,分析系统发育关系,构建系统发育树,采用邻接法进行聚类分析,自展值设为 1 000,确定种的分类地位。当新分析的未知菌株与已知菌株序列同源性达 99%以上,与已知菌株 WS-1 和 WS-191 聚为一支时,且切片法所用的叶片症状与白斑病基本一致,病菌形态学与 *Epicoccum laticollum* 基本一致,所分离的病害属于玉米白斑病。

参考文献

- [1] 张珊,朱自萍,何鹏搏,等. 云南省玉米白斑病的病菌鉴定与品种田间抗病性调查分析[J]. 植物保护学报, 2022, 49(3): 840-847.
- [2] CASELA C R. The Phaeosphaeria leaf spot [M]// CASELA C R, RENFRO R, KRATTIGER A F. Diagnosing maize diseases in Latin America. Isaa/Embrapa, Ithaca, NY, USA and Brasilia, BR, Brazil, 1998:1-57.
- [3] FLETT B C, BENSCH M J, SMIT E, et al. A field guide for identification of maize diseases in south Africa [Z]. ARC-LNR, Potchefstroom, South Africa, 1996.
- [4] CARSON M L, GOODMAN M M, GLAWE D A. Phaeosphaeria leaf spot of maize in Florida [J]. Plant Disease, 1991, 75: 968.
- [5] CARSON M L. Vulnerability of U. S. maize germ plasm to Phaeosphaeria leaf spot [J]. Plant Disease, 1999, 83(5): 462-464.
- [6] 陈倩. 亚隔孢壳科的系统演化及分类学研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [7] HE Yueqiu. An improved protocol for fungal DNA preparation [J]. Mycosystema, 2000, 19(3): 434.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 238 页)

- [12] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业部公告第 2570 号: 农药登记试验质量管理规范[EB/OL]. (2017-09-03) [2020-04-15]. http://www.gov.cn/gongbao/content/2018/content_5271795.htm.
- [13] 中华人民共和国农业农村部. 农作物中农药残留试验准则: NY/T 788-2018[S]. 北京: 中国农业出版社, 2018.
- [14] 中华人民共和国农业农村部农药检定所. 农药登记残留试验区域指南[EB/OL]. (2018-06-21) [2023-01-03]. <http://www.chinapesticide.org.cn/>.
- [15] 蔡光辉, 马婧玮, 吴艳兵, 等. 环氟菌胺在小麦生态系统中的

残留消解及膳食风险评估[J]. 植物保护, 2020, 46(6): 144-148.

- [16] 李晓贝, 周昌艳, 苟春林, 等. 防治芹菜上重要害虫的替代药剂筛选及其膳食暴露风险评估[J]. 植物保护, 2022, 48(3): 111-117.
- [17] Code of Federal Regulations. Specific tolerances [EB/OL]. (2020-04-15) [2023-01-03]. <https://www.ecfr.gov/current/title-40/chapter-I/subchapter-E/part-180/subpart-C/section-180.510>.

(责任编辑: 田 喆)