

· 专论与综述 ·

doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2021.0070

# 生物检材中有机磷农药代谢物检测技术研究进展

张成龙<sup>1</sup>, 国 菲<sup>2</sup>, 杨瑞琴<sup>\*1</sup>, 李 鹏<sup>\*2,3</sup>

(1. 中国公安大学 偷查学院, 北京 100038; 2. 山东省淄博市公安局刑侦支队, 山东 淄博 255000;  
3. 山西医科大学, 太原 030001)

**摘要:** 有机磷农药代谢物检测分析在有机磷农药中毒、投毒案件定性、临床诊断、生物监测等方面发挥着重要作用, 发展精确检测痕量甚至超痕量有机磷农药代谢物的技术, 建立检测生物样品复杂基质中有机磷农药代谢物的方法, 成为法庭科学领域亟待解决的问题之一。目前国内外常见的实验室检测方法有气相色谱、气相色谱-质谱联用、液相色谱-质谱联用等, 本文重点综述了这些检测方法的研究进展, 血液、尿液等生物检材所需的液-液萃取、固相萃取和QuEChERS 等前处理技术以及毛发生物检材所需的固-液萃取等前处理技术。此外, 本文还介绍了荧光探针法、免疫分析法、生物传感器法等快速检测技术的原理及应用进展, 并对现有检测技术存在的问题进行了总结。

**关键词:** 生物检材; 有机磷农药代谢物; 检测技术; 研究进展

中图分类号: X592; O657 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2021)00-0001-07

## Research progress on detection technology of organophosphorus pesticide metabolites in biological samples

ZHANG Chenglong<sup>1</sup>, GUO Fei<sup>2</sup>, YANG Ruiqin<sup>\*1</sup>, LI Peng<sup>\*2,3</sup>

(1. School of Investigation, People's Public Security University of China, Beijing 100038, China; 2. Judicial appraisal Center of Zibo Public Security Bureau Organization-Company, Zibo 255022, Shandong Province, China;  
3. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

**Abstract:** The detection and analysis of organophosphorus pesticide metabolites play an important role in the determination of organophosphorus pesticide nosotoxicosis and poisoning cases, clinical diagnosis, biological monitoring and so on. The development of accurate detection technology of trace and even ultra trace organophosphorus pesticide metabolites, and the establishment of a method for the detection of organophosphorus pesticide metabolites in complex biological samples have become one of the urgent problems to be solved in forensic science. At present, the common laboratory detection methods at home and abroad include gas chromatography, gas chromatography-mass spectrometry, liquid chromatography-mass spectrometry, etc. This paper focuses on the research progress of these detection technologies, the pretreatment techniques for blood and urine samples such as liquid-liquid extraction, solid-phase extraction and QuEChERS, as well as the pretreatment techniques for hair

收稿日期: 2020-10-13; 录用日期: 2021-03-01.

作者简介: 张成龙, 男, 硕士研究生, E-mail: Zhangchenglong3713@163.com; \*杨瑞琴, 通信作者 (Author for correspondence), 女, 博士, 教授, 研究方向为刑事科学技术, E-mail: Yangruiqin@ppscu.edu.cn; \*李鹏, 共同通信作者 (Co-corresponding author), 男, 博士研究生, 高级工程师, 研究方向为理化检验, E-mail: lp434434@163.com

samples such as the solid-liquid extraction method. In addition, the principle and application progress of fluorescent probe, immunoassay, biosensor and other rapid detection technologies are introduced, and the problems of existing detection technologies are summarized.

**Keywords:** biological materials; organophosphorus pesticide metabolites; detection technology; research progress

有机磷农药是人工合成的磷酸酯类化合物，具有广谱、高效和低残留等特点，在国内外农业和园林种植领域得到广泛应用<sup>[1, 2]</sup>。同时由于该类物质毒性大，因误服导致的急性中毒事件、自杀和投毒事件时有发生。据世界卫生组织报道，每年约有 300 多万起有机磷农药意外中毒事件和自杀、投毒案件发生<sup>[3]</sup>。要想查明真相，确定中毒毒物的种类及含量，及时快速开展毒物检验工作是第一步，但大多数有机磷农药体内代谢或体外分解较快<sup>[4-6]</sup>，从中毒发生到检材提取再到检材检测有一定时间的延迟，致使有机磷农药定量检测浓度与实际中毒浓度往往相差较大，送检不及时，甚至会出现假阴性现象。有机磷农药代谢物作为中毒生物标志物之一<sup>[7]</sup>，具有监测有机磷农药接触水平<sup>[8-11]</sup>、毒性反应<sup>[12-14]</sup>及预测可能毒性的作用<sup>[15, 16]</sup>。因此，对生物检材中有机磷农药代谢物的准确检测具有重要意义。

## 1 有机磷农药体内代谢概述

有机磷农药通过无损皮肤、消化道、呼吸道等途径进入人体内后，可迅速分布于全身脏器并与乙酰胆碱酶结合，造成轻重不等的中毒现象<sup>[7]</sup>。有机磷农药种类不同，其在体内的代谢也有一定差异<sup>[18]</sup>，其中肝细胞多功能氧化酶的氧化作用和磷酸三脂酶的水解作用为其体内主要代谢途径<sup>[19-21]</sup>。其代谢物大体可分为两类，一类是二烷基磷酸酯类化合物 (DAP)，在接触有机磷农药后的 24 h~48 h 在尿中出现<sup>[7]</sup>，大多数有机磷农药都可代谢为 1 种及 1 种以上的 DAP<sup>[22]</sup>。DAP 包括磷酸二甲酯 (DMP)、磷酸二乙酯 (DEP)、二甲基硫代磷酸酯 (DMTP)、二乙基硫代磷酸酯 (DETP)、二甲基二硫代磷酸酯 (DMDTP) 和二乙基二硫代磷酸酯 (DEDTP) 6 种化合物。另一类是特殊代谢物 (SM)，SM 是一种或少数几种有机磷农药的代谢物，具有特异性。在实际案件中，可结合具体情况确定农药的种类，例如：2-异丙基-4-甲基-6-羟

基嘧啶 (IMPY) 为二嗪磷特殊代谢物，2-(二乙氨基)-6-甲基-4-羟基嘧啶 (DEAMPY) 为甲基嘧啶磷特殊代谢物，对硝基酚 (PNP) 为对硫磷、甲基对硫磷特殊代谢物，3, 5, 6-三氯-2-吡啶 (TCP) 为毒死蜱和甲基毒死蜱特殊代谢物等<sup>[22, 23]</sup>。

## 2 有机磷农药代谢产物实验室检测技术及应用

### 2.1 气相色谱 (GC) 分析技术

气相色谱技术是实验室常用的分析手段之一，灵敏度较高，其中火焰光度检测器的使用对含磷的代谢物具有良好选择性。由于二烷基磷酸酯类化合物极性较高，采用 GC 进行检测时，前处理常用五氟苯基溴 (PFBr) 对 6 种 DAP 进行衍生反应以降低其极性，但该过程繁琐费时，且衍生试剂具有强烈刺激性气味，污染环境。

Aprea 等<sup>[25]</sup>介绍了一种精确、重现性强的定量测定尿中 6 种 DAP 的分析方法。尿样分别在室温和 90 °C 条件下对含硫 DAP 和不含硫 DAP 分两步衍生，经 CN 柱净化，用毛细管气相色谱-火焰光度检测器 (GC-FPD) 技术检测。该方法精密度高，回收率高，检出限在 2~3 ng/mL，可满足职业暴露和普通人群中的 DAPs 检测。Oglobline 等<sup>[26]</sup>采用改进的气相色谱法分析了有机磷农药接触工人尿中的 6 种 DAP，通过 PFBr 衍生对 6 种 DAP 进行烷基化作用、尿液样本冻干和双毛细管柱 GC-FPD 检测方法测定，检出限为 5~50 ng/mL。该方法前处理使用冷冻干燥机可大大缩短样品制备时间，适用于职业性接触有机磷农药工人尿液的大批量常规分析。

杨玉林等<sup>[27]</sup>采用 GC-FPD 检测技术建立了尿中 6 种 DAP 的定量分析方法。通过衍生化温度、时间条件验证，选用 50 °C 下反应 14~16 h 的最优衍生条件，进行 PFBr 一步衍生，以二丁基磷酸酯 (DBP) 为内标，直接进样，大大简化了操作步骤，并在衍生过程中充入高纯氮，有效避免了含

硫代谢物的氧化。6种DAP在100 ng/mL下的检出限为2~15 ng/mL, 回收率为66%~90%。金忠秀等<sup>[28]</sup>创建了血浆中有机磷农药含硫代谢物DETP、DEDTP的GC-FPD检测方法。实验证明,  $V(\text{乙醚}) : V(\text{乙腈}) = 1 : 1$ 液-液萃取后, 40 ℃下衍生反应4 h, 能有效避免基质中相邻峰干扰, 并提高分析效率。DETP、DEDTP回收率分别为92.46%和98.10%, 检出限分别为5.0 ng/mL和1.0 ng/mL, 经实际样品检测, 证明该方法对大批量分析低接触的普通人群极为有利。

## 2.2 气相色谱质谱联用(GC-MS)分析技术

GC-MS技术结合了色谱的高分离效能和质谱的定性准确特点, 具有更高的灵敏度和更低的检出限, 样品用量少, 近年来被广泛应用于有机磷农药代谢物的检测分析。

Ueyama等<sup>[29]</sup>创建了安全、灵敏的GC-MS方法, 可实现对尿中DMP、DEP、DMTP和DETP的同时检测, 研究了pH对氮吹蒸发的影响, 衍生反应的温度和时间, 抗氧化剂的添加, 以及净化步骤并设置最优条件, 检出限、定量限分别为0.1~0.3 ng/mL、0.3~1 ng/mL, 回收率为60.5%~92.4%。之后, Ueyama等<sup>[30]</sup>对上述方法进行改进, 在衍生反应前加脱水处理, 并使用气相色谱-电子轰击离子源-质谱(GC-EI-MS)进行检测。4种分析物的检出限、定量限分别为0.05~0.15 ng/mL、0.20~0.50 ng/mL, 相对标准偏差在15.7%以下, 改进后的方法在高通量和低成本的情况下, 获得了更高的灵敏度和精密度。

Alwis等<sup>[31]</sup>介绍了一种自动固相萃取、同位素稀释结合GC-MS/MS技术分析尿中的6种DAP的方法, 分析物经过自动离线固相萃取装置提取后, 1-氯-3-碘丙烷进行衍生反应, 检出限为0.05~0.17 ng/mL, 回收率为56%~104%。该方法省时、省力、重复性高, 样品制备时间短, 只需4 h, 是之前所用时间的1/5<sup>[32]</sup>。Bravo等<sup>[33]</sup>同样采用同位素稀释结合GC-MS/MS技术对尿中尿6种DAP进行定量分析, 前处理使用冻干法, 6种DAP检出限为0.1~0.6 ng/mL, 回收率为75%~100%。通过对1100份加利福尼亚州孕妇和儿童尿液样本检测分析, 证实该方法的灵敏度可用于一般人群监测。之后, Alwis等<sup>[34]</sup>以磷酸二丁酯(DBP)为内标, 对尿中6种DAP自动固相萃取后, 改用PFBr进行衍生反应, GC-MS技术进行检测, 检出限为

0.1~0.15 ng/mL, 回收率为58%~119%。较之前方法保持了简单、快捷、准确等优点, 而且更为经济、普适, 为大规模生物监测提供了技术支持。

Margariti等<sup>[35]</sup>开发并验证了气相色谱-质谱(GC-MS)定量测定头发中3种DAP(DMP、DMTP、DEP)的分析方法。前处理包括去污步骤、固液萃取、液液萃取、PFBr衍生化和Florisil/PSA柱净化。向空白头发添加1和10 ng/mg分析物, 回收率为56.1%~107.9%, 日内相对标准偏差为13.5%~17.5%。检出限为0.02~0.10 ng/mg。Michalakis等<sup>[36]</sup>采用GC-MS技术对血清和头发中的DMP进行检测, 研究尿道下裂与有机磷农药接触的关系。头发前处理步骤包括去污、干燥粉碎、超声辅助固液萃取、PFBr衍生后氮吹近干定容进样; 血清前处理主要是在酸性条件下液-液萃取, 之后采用PFBr衍生后氮吹近干定容进样。研究结果表明, 后代尿道下裂, 父母血清和头发样本中DMP的浓度比一般人群报告的要高得多, 并支持有机磷农药暴露可能是尿道下裂的潜在危险因素的假设。孙伯琳<sup>[37]</sup>建立了高分离度、高精确性的气相色谱-质谱法(GC-MS), 对血液和组织器官中对硫磷及其4种代谢物(对氧磷、DETP、DEP、PNP)进行检测分析, 并对对硫磷的体内代谢转化进行研究。通过优化分流比、升温程序、质谱设置等条件, 5种分析物在30 min内完成分离检测, 检出限为2.0~16.7 ng/mL, 线性范围6.25~500 ng/mL。

黄梦莹等<sup>[38]</sup>建立了高灵敏度GC-MS/MS方法, 对尿中DMP、DMTP、DETP和TCP进行分析, 除TCP外, 采用多反应离子监测(MRM)结合保留时间定性, 内标法定量。检出限、定量限分别为0.083~0.667 ng/mL、0.2~2.0 ng/mL, 回收率为54.1%~68.6%。该方法选用硅烷化试剂N-(叔丁基二甲基硅烷基)-N-甲基三氟乙酰胺(MTBSTFA)对分析物进行衍生, 所需时间大幅缩短, 不需要其他试剂参与。李晔等<sup>[39]</sup>采用GC-MS技术对尿中DMP、DEP、DETP、DMTP和DEDTP5种DAP进行测定。多篇文献给出50 ℃条件下反应16 h的PFBr衍生条件<sup>[27]</sup>, 作者基于乙腈沸点, 采用80 ℃下衍生反应30 min, 并加入焦亚硫酸钠作为抗氧化剂, DAPs在0.05~10 mg/L内线性关系良好, 回收率为51.6%~90.8%, 检出限为1~2 ng/mL, 该方法有效地保证检测准确度的同时加快了检测速度, 适用于中毒快速检测。

Takayasu 等<sup>[40]</sup>应用 GC-MS 技术报道了中毒病例死后甲基毒死蜱、杀虫磷及其代谢物 (TCPY、3MNP) 在血液、尿液和器官组织中的分布。对各类检材主要采用 Extrelut® NT 柱进行固相萃取，并在 85 °C 条件下采用 N-甲基-N-三甲基硅烷基三氟乙酰胺 (含 1% 三甲基氯硅烷) 对 TCPY、3MNP 进行衍生反应，为使待测物质进行充分检测，针对尿液使用 β-葡萄糖醛酸酶进行水酶解处理。其中 TCPY、3MNP 在血液中的定量限均为 10 ng/mL，回收率分别为 76%~94.3%、83.9%~102%；在尿液中定量限也均为 10 ng/mL，回收率分别为 77.4%~95.4%、85.2%~99%。

### 2.3 液相色谱-质谱联用 (LC-MS) 分析技术

液相色谱-质谱联用技术具有灵敏度高、重现性好、分辨率高和简便高效等优点，但仪器造价和运行成本较为昂贵。与其他检测方法相比，它不需要衍生化，前处理简单安全，对环境污染较小。

Dulaurent 等<sup>[41]</sup>首次报道了溶剂萃取前处理结合 LC-MS/MS 技术对尿中的 6 种 DAP 同时进行检测，使用 ODS3 C<sub>18</sub> 色谱柱分离，多反应监测 (MRM) 模式下进行质谱检测。检出限为 0.5~1.3 ng/mL。该方法灵敏度使得在没有职业暴露的志愿者尿液中检测到 DAP，证实了 LC-MS/MS 技术在该领域的适用性，但 6 种 DAP 的回收率偏低，均在 70% 以下。

Odetokun 等<sup>[42]</sup>开发了全自动固相萃取结合高效液相色谱-电喷雾电离-串联质谱技术，对尿中 6 种 DAP 进行定量分析。该操作系统采用 96 孔板-弱阴离子交换固相萃取板对分析物进行自动提取后，直接进样，萃取效率为 40%~98%，检出限为 0.044~1.549 ng/mL。该方法大大减少了工作量，提高了工作效率，每周可检测 1 152 份样本，是之前检测量的两倍<sup>[43]</sup>，可用于职业和非职业有机磷农药暴露的环境及应急生物监测。Ueyama 等<sup>[44]</sup>开发了一种灵敏、可靠的固相萃取结合液相色谱-串联质谱技术，检测尿液中 DMP、DEP、DMTP 和 DETP 的含量，并实际应用于日本儿童尿液中 DAPs 浓度的测定。该方法的优势是使用包含阴离子和阳离子配体的多模式 ODS 色谱柱，能良好地保留 4 种较高极性分析物，在不添加三乙胺 (TEA) 离子对试剂的情况下，获得较高的灵敏度，检出限低于 0.4 ng/mL。该研究成为评估人类有机磷农药

暴露风险的重要一步。

王娜等<sup>[45]</sup>建立了尿中毒死蜱等有机磷农药特殊代谢物 3,5,6-三氯-2-吡啶醇 (TCP) 的超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS) 分析检测方法。前处理选用 *V*(二氯甲烷) : *V*(乙酸乙酯) = 20 : 80 溶液对待测物进行液液萃取，回收率高达 97.9%，在电喷雾电离负离子 (ESI<sup>-</sup>) 模式下，选择离子监测 (SIR) 方式检测，检出限为 0.41 ng/mL。该方法为生物负荷的痕量监测提供了技术支持。Davis 等<sup>[46]</sup>采用高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 技术，对尿液中几种农药的 12 种生物标记物进行定量分析，其中包括有机磷农药的 5 种特殊代谢物 (PNP、TCPY、MDA、IMPY、DEAMPY)。该方法通过使用较窄直径的分析柱和对每个分析物使用同位素稀释量化，可以达到示踪级分析所需的选择性和灵敏度，检出限低至 0.04 ng/mL，回收率为 94.1%~98.0%。周志荣等<sup>[47]</sup>建立了 LC-MS/MS 方法对尿中 DMTP、DEP、DEDTP、PNP、CMHC 和 TCPY 进行测定。采用了近些年国外尿样中使用的水酶解技术进行前处理并对固相萃取柱、流动相、离子源进行了选择优化，检出限在 2 ng/mL 以下，回收率为 79%~130%。该方法同时对 DAPs 和 SMs 分析检测，为进一步扩大有机磷农药代谢物检测范围奠定了基础。

Roca 等<sup>[48]</sup>开发了液相色谱静电场轨道阱高分辨质谱方法 (LC-HRMS)，对尿中 6 种 DAP 和多种 SM 同时进行检测，是目前国内外可同时检测有机磷农药代谢物种类最多的技术。该方法使用全扫描模式，一次检测可完成对正负离子的同时扫描，实现对多种物质的同时检测，这大大简化了操作步骤，缩短了检测时间。在前处理过程中使用 β-葡萄糖醛酸酶进行水解后，创新性的采用改进的 QuEChERS 技术进行提取，有效地降低了基质效应，提高了回收率。各有机磷农药代谢物在 0.8~200 ng/mL 内线性关系良好，定量限为 0.8~50 ng/mL，回收率为 60%~120%。

### 3 有机磷农药代谢产物快速检测技术及应用

快速检测技术操作简便、结果直观，在现场初筛和生物监测方面发挥着重要作用<sup>[49, 50]</sup>。在中毒案件中，快检技术可缩小实验室检测范围或直接筛查出中毒因子，为抢救中毒者赢得时间。本文介绍了 3 种常见的有机磷农药代谢物快速检测方

法: 荧光探针法、免疫分析法和生物传感器法。

### 3.1 荧光探针法

典型的荧光探针由识别基团(受体)、荧光团和连接两者的连接基团所组成。荧光探针法是受体和底物集合后, 导致受体分子的光物理性质发生变化, 从而荧光团部分发生荧光淬灭或增强的方法<sup>[51]</sup>。Wang 等<sup>[52]</sup>报道了 Eu<sup>3+</sup>功能化的 Hf-MOF 荧光探针(Eu<sup>3+</sup>@1)探测尿中对硫磷、甲基对硫磷特殊代谢物对硝基苯酚(PNP)和杀螟松特殊代谢物 3-甲基-4-硝基苯酚(PNMC)。Hf-MOF 探针上的有机配体可向 Eu<sup>3+</sup>传递能量敏化 Eu<sup>3+</sup>发光<sup>[53]</sup>, 而 PNP 和 PNMC 与 Eu<sup>3+</sup>@1 在紫外吸收光谱上存在部分重叠, PNP 和 PNMC 对辐射光竞争吸收可降低有机配体向 Eu<sup>3+</sup>的传能效率, 导致其荧光淬灭而被检测出来。该荧光探针对水和 pH 耐受性强, 在 1 min 内可完成检测, PNP 和 PNMC 的检出限分别为 0.36 μg/mL 和 0.41 μg/mL, 具有快速、高效、高选择性等优点。此外, 该荧光探针可循环使用, 绿色环保, 节约成本。

### 3.2 免疫分析法

免疫分析法是利用毒物与标记毒物竞争性结合抗体, 从而检测毒物的方法<sup>[54, 55]</sup>。Zhang 等<sup>[56]</sup>报道了检测人体唾液中毒死蜱特殊代谢物 TCP 的纳米金免疫层析(ITS)技术, 该技术是免疫分析法的一种, 当待测物与膜上固定的纳米金标记的抗体(或为抗原)特异性结合后, 复合物再与膜上检测线的抗原(或为抗体)相结合, 根据检测线的颜色深浅信息进行定量。作者采用实验室研制的前处理缓冲液对 ITS 样品垫进行预处理, 优化了 Au 纳米颗粒与 TCP 抗体偶联比等参数, 实现了对 TCP 的高灵敏度和选择性的直接检测, TCP 在 0.625~20 ng/mL 内线性关系良好, 检出限为 0.47 ng/mL。

### 3.3 生物传感器法

生物传感器法是利用生物反应或生物物质间的亲和作用, 选择性地检测生物试样或系统的化学成分、提供生产过程有关信息的方法<sup>[57, 58]</sup>。Zou 等<sup>[59]</sup>开发了一种便携式量子点(QD)荧光免疫传感器, 用于血浆中毒死蜱特殊代谢物 TCP 的生物监测。该传感器是生物传感器的一种, 抗体与 TCY 和 QD-TCY 偶联体发生竞争性免疫反应后, 根据其捕获量子点的荧光量实现对血浆中 TCY 的定量分析。该技术集成了免疫层析法、量子标记技术和 X 射线光电子能谱、荧光光谱技术, 具有

简单、快速和灵敏等优点。最佳条件下, 可在 15 min 内完成检测, 检出限为 1.0 ng/mL, 添加回收率 102.0%, 是床旁快速检测和环境生物监测的新途径之一。Wang 等<sup>[60]</sup>也开发了用于血浆中 TCP 生物监测的免疫层析电化学生物传感器, 该装置结合了电化学免疫传感器和测流免疫层析技术, 竞争性酶联免疫反应在免疫色谱条带上进行, 丝网印刷的碳电极测定检测区捕获的 HRP 标记的抗体。与传统的酶联免疫吸附法相比, 该装置更为轻便、灵敏, 检出限低至 0.1 ng/mL, 为农药中毒的临床诊断和现场快速筛查提供了可能。

## 4 问题与展望

现阶段, 国内外对于有机磷农药代谢产物的检测分析虽已取得初步成果, 但从实践的角度来看, 目前的检测水平仍然存在一些问题: 1) 有机磷农药在生物体内的代谢规律研究还不全面, 国内外文献报道多针对原药动力学开展研究。因此, 今后应继续深入研究有机磷农药的体内代谢机制, 及其代谢物的稳定性和分布规律, 为更全面地检测代谢物奠定基础。2) 有机磷农药代谢物快速检测技术专属性高, 大多只适用于单一分析物的检测, 对于多种目标物同时进行检测只能依赖于 GC-MS、LC-MS 等实验室确证方法。为提高检测效率, 扩大检测范围, 开发同时检测生物样本中包含 DAPs 和 SMs 在内的多种有机磷农药代谢物的检测技术显得尤为重要。3) 目前采用的方法以色谱-质谱联用法为主, 需耗费大量的时间和有机溶剂对复杂基质进行提取和净化, 以保护仪器, 消除基质干扰。因此建立简单、高效、绿色和环保的前处理方法将是今后发展趋势之一。QuEChERS 技术快速、低廉、针对大部分极性较高物质回收率高, 在未来必会凸显其重要性。4) 目前国内外的各种检测技术多为生物监测而开发, 检测对象也以血、尿等活体生物检材为主, 为满足公安机关办理有机磷农药中毒死亡案件的实践需要, 需进一步探索针对死者生物检材的检测技术, 为相关案件的司法鉴定提供全面的科学依据。

## 参考文献 (References):

- [1] LIU J S, CAI J B, et al. Analysis of carbohydrates in tobacco extract by high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detector[J]. Chin J Anal Chem, 2005, 33(11): 1596-1598.

- [2] MULCHANDANI A, CHEN W, MULCHANDANI P, et al. Biosensors for direct determination of organophosphate pesticides[J]. *Biosens Bioelectron*, 2001, 16(4-5): 225-230.
- [3] SYED S, GURCOO S A, FAROOQUI A K, et al. Is the World Health Organization-recommended dose of pralidoxime effective in the treatment of organophosphorus poisoning? A randomized, double-blinded and placebo-controlled trial[J]. *Saudi J Anaesth*, 2015, 9(1): 49-54.
- [4] 闵涛, 刘永涛, 徐子振, 等. 常见有机磷农药稳定性研究进展[J]. 毒理学杂志, 2018, 32(2): 164-167.
- [5] AGEDA S, FUKE C, IHAMA Y, et al. The stability of organophosphorus insecticides in fresh blood[J]. *Leg Med (Tokyo)*, 2006, 8(3): 144-149.
- [6] 李鹏, 王皓玉, 毕文姬, 等. 甲胺磷在人血中的分解动力学研究[J]. 中国刑警学院学报, 2018(3): 112-115.
- [7] 孙运光, 周志俊, 顾祖维. 有机磷农药生物标志物的研究进展[J]. 劳动医学, 2000, 17(1): 58-60.
- [8] KAVVALAKIS M P, TSATSAKIS A M. The atlas of dialkylphosphates; assessment of cumulative human organophosphorus pesticides' exposure[J]. *Forensic Sci Int*, 2012, 218(1-3): 111-122.
- [9] BABINA K, DOLLARD M, PILOTO L, et al. Environmental exposure to organophosphorus and pyrethroid pesticides in South Australian preschool children: A cross sectional study[J]. *Environ Int*, 2012, 48: 109-120.
- [10] ARCURY T A, GRZYWACZ J G, CHEN H, et al. Variation across the agricultural season in organophosphorus pesticide urinary metabolite levels for Latino farmworkers in eastern North Carolina: Project design and descriptive results[J]. *Am J Ind Med*, 2009, 52(7): 539-550.
- [11] LI A J, KANNAN K. Urinary concentrations and profiles of organophosphate and pyrethroid pesticide metabolites and phenoxyacid herbicides in populations in eight countries[J]. *Environ Int*, 2018, 121(pt 2): 1148-1154.
- [12] YUCRA S, GASCO M, RUBIO J, et al. Semen quality in Peruvian pesticide applicators: Association between urinary organophosphate metabolites and semen parameters[J]. *Environ Health*, 2008, 7: 59.
- [13] MULDER T A, VAN DEN DRIES M A, KOREVAAR T I M, et al. Organophosphate pesticides exposure in pregnant women and maternal and cord blood thyroid hormone concentrations[J]. *Environ Int*, 2019, 132: 105124.
- [14] YAMAZAKI K, ITOH S, ARAKI A, et al. Associations between prenatal exposure to organochlorine pesticides and thyroid hormone levels in mothers and infants: The Hokkaido study on environment and children's health[J]. *Environ Res*, 2020, 189: 109840.
- [15] NAKSEN W, PRAPAMONTOL T, MANGKLABRUKS A, et al. Associations of maternal organophosphate pesticide exposure and PON1 activity with birth outcomes in SAWASDEE birth cohort, Thailand[J]. *Environ Res*, 2015, 142: 288-296.
- [16] ETZEL T M, ENGEL S M, QUIRÓS-ALCALÁ L, et al. Prenatal maternal organophosphorus pesticide exposures, paraoxonase 1, and childhood adiposity in the Mount Sinai Children's Environmental Health Study[J]. *Environ Int*, 2020, 142: 105858.
- [17] SOARES S, ROSADO T, BARROSO M, et al. Organophosphorus pesticide determination in biological specimens: Bioanalytical and toxicological aspects[J]. *Int J Legal Med*, 2019, 133(6): 1763-1784.
- [18] KOUREAS M, TSAKALOF A, TSATSAKIS A, et al. Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes[J]. *Toxicol Lett*, 2012, 210(2): 155-168.
- [19] VAN BREE J, NEDELMAN J, STEIMER J L, et al. Application of sparse sampling approaches in rodent toxicokinetics: A prospective view[J]. *Drug Inf J*, 1994, 28(1): 263-279.
- [20] DE LA TORRE R, FARRÉ M, NAVARRO M, et al. Clinical pharmacokinetics of amphetamine and related substances: Monitoring in conventional and non-conventional matrices[J]. *Clin Pharmacokinet*, 2004, 43(3): 157-185.
- [21] GUBALA W, ZUBA D. Gender differences in the pharmacokinetics of ethanol in saliva and blood after oral ingestion[J]. *Pol J Pharmacol*, 2003, 55(4): 639-644.
- [22] SOGORB M A, DÍAZ-ALEJO N, ESCUDERO M A, et al. Phosphotriesterase activity identified in purified serum albumins[J]. *Arch Toxicol*, 1998, 72(4): 219-226.
- [23] 周志荣, 林少彬. 血、尿中有机磷农药及其代谢产物检测方法的研究进展[J]. 国外医学(卫生学分册), 2007(3): 153-157.
- [24] ROCA M, LEON N, PASTOR A, et al. Comprehensive analytical strategy for biomonitoring of pesticides in urine by liquid chromatography-orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1374: 66-76.
- [25] APREA C, SCIARRA G, LUNGHIINI L. Analytical method for the determination of urinary alkylphosphates in subjects occupationally exposed to organophosphorus pesticides and in the general population[J]. *J Anal Toxicol*, 1996, 20(7): 559-563.
- [26] OGLOBLINE A N, O'DONNELL G E, GEYER R, et al. Routine gas chromatographic determination of dialkylphosphate metabolites in the urine of workers occupationally exposed to organophosphorus insecticides[J]. *J Anal Toxicol*, 2001, 25(3): 153-157.
- [27] 杨玉林, 芮振荣, 王宏, 等. 气相色谱法分析尿样中六种有机磷农药代谢产物[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(1): 24-26.
- [28] 金忠秀, 许媛媛, 储成顶. 气相色谱法测定血浆中含硫的有机磷代谢产物[J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(9): 1120-1123.
- [29] UYEYAMA J, SAITO I, KAMIJIMA M, et al. Simultaneous determination of urinary dialkylphosphate metabolites of organophosphorus pesticides using gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2006, 832(1): 58-66.
- [30] UYEYAMA J, KAMIJIMA M, KONDO T, et al. Revised method for routine determination of urinary dialkyl phosphates using gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B*, 2010, 878(17-18): 1257-1263.
- [31] DE ALWIS G K, NEEDHAM L L, BARR D B. Measurement of human urinary organophosphate pesticide metabolites by automated solid-phase extraction derivation and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2006, 843(1): 34-41.
- [32] FENSKE R A, LEFFINGWELL J T. Method for the determination of dialkyl phosphate metabolites in urine for studies of human exposure to malathion[J]. *J Agric Food Chem*, 1989, 37(4): 995-998.
- [33] BRAVO R, CALTABIANO L M, WEERASEKERA G, et al. Measurement of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in human urine using lyophilization with gas chromatography-tandem mass spectrometry and isotope dilution quantification[J]. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 2004, 14(3): 249-259.
- [34] HEMAKANTHI DE ALWIS G K, NEEDHAM L L, BARR D B. Determination of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus

- pesticides in human urine by automated solid-phase extraction, derivatization, and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Anal Toxicol*, 2008, 32(9): 721-727.
- [35] MARGARITI M G, TSATSAKIS A M. Analysis of dialkyl phosphate metabolites in hair using gas chromatography-mass spectrometry: A biomarker of chronic exposure to organophosphate pesticides[J]. *Biomarkers*, 2009, 14(3): 137-147.
- [36] ELODIE H, CÉLINE K, KAREN C. Commentary on "Hypospadias in offspring is associated with chronic exposure of parents to organophosphate and organochlorine pesticides"[J]. *Toxicol Lett*, 2019, 310: 99-100.
- [37] 孙伯琳. 动物体内外有机磷农药的残留及其代谢转化的色谱法研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2013.
- [38] GUO X Y, SUN L S, HUANG M Y, et al. Simultaneous determination of eight metabolites of organophosphate and pyrethroid pesticides in urine[J]. *J Environ Sci Heal Part B*, 2017, 52(1): 1-9.
- [39] 李晔, 吴国华, 王玮. 气相色谱-质谱法测定尿中有机磷代谢产物[J]. 分析试验室, 2015, 34(8): 958-961.
- [40] TAKAYASU T, YAMAMOTO H, ISHIDA Y, et al. Postmortem distribution of chlorpyrifos-methyl, fenitrothion, and their metabolites in body fluids and organ tissues of an intoxication case[J]. *Leg Med (Tokyo)*, 2017, 29: 44-50.
- [41] DULAURENT S, SAINT-MARCOUX F, MARQUET P, et al. Simultaneous determination of six dialkylphosphates in urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2006, 831(1-2): 223-229.
- [42] ODETOKUN M S, MONTESANO M A, WEERASEKERA G, et al. Quantification of dialkylphosphate metabolites of organophosphorus insecticides in human urine using 96-well plate sample preparation and high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2010, 878(27): 2567-2574.
- [43] BRAVO R, CALTABIANO L M, WEERASEKERA G, et al. Measurement of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in human urine using lyophilization with gas chromatography-tandem mass spectrometry and isotope dilution quantification[J]. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 2004, 14(3): 249-259.
- [44] UHEYAMA J, KAMIJIMA M, KONDO T, et al. Revised method for routine determination of urinary dialkyl phosphates using gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B*, 2010, 878(17-18): 1257-1263.
- [45] 王娜, 孙娟, 石利利, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定人尿中毒死蜱的主要代谢产物 3,5,6-三氯-2-吡啶醇[J]. 色谱, 2013, 31(9): 903-907.
- [46] DAVIS M D, WADE E L, RESTREPO P R, et al. Semi-automated solid phase extraction method for the mass spectrometric quantification of 12 specific metabolites of organophosphorus pesticides, synthetic pyrethroids, and select herbicides in human urine[J].
- [47] 周志荣, 张森, 林少彬. 液相色谱串联质谱法定量检测尿中有机磷农药代谢物[J]. 卫生研究, 2013, 42(1): 122-126.
- [48] ROCA M, LEON N, PASTOR A, et al. Comprehensive analytical strategy for biomonitoring of pesticides in urine by liquid chromatography-orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1374: 66-76.
- [49] 张少恩, 桑丽雅, 王振国, 等. 有机磷农药快速检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(9): 2629-2633.
- [50] 常靖, 王芳琳, 张泽楠, 等. 法医毒物检验中毒物的快速筛查与检测研究进展[J]. 中国法医学杂志, 2015, 30(1): 49-51, 55.
- [51] 郭欣欣, 尔夏提·图尔荪, 韩振玉, 等. 量子点作为荧光探针的生物应用进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2017, 9(6): 422-425, 436.
- [52] WANG B H, LIAN X, YAN B. Recyclable Eu<sup>3+</sup>-functionalized Hf-MOF fluorescent probe for urinary metabolites of some organophosphorus pesticides[J]. *Talanta*, 2020, 214: 120856.
- [53] 肖帆, 崔元靖, 钱国栋. 金属-有机框架材料的荧光探测应用进展[J]. 应用化学, 2018, 35(9): 1113-1125.
- [54] 关桦楠. 高效农药残留物检测酶纳米生物传感器的研制[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011.
- [55] 赵芸, 张乐, 柳爱春. 免疫分析技术在兽药残留检测中的应用[J]. 浙江农业科学, 2017, 58(3): 489-492, 496.
- [56] ZHANG W Y, TANG Y, DU D, et al. Direct analysis of trichloropyridinol in human saliva using an Au nanoparticles-based immunochromatographic test strip for biomonitoring of exposure to chlorpyrifos[J]. *Talanta*, 2013, 114: 261-267.
- [57] QIAN L, DURAIARAJ S, PRINS S, et al. Nanomaterial-based electrochemical sensors and biosensors for the detection of pharmaceutical compounds[J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 175: 112836.
- [58] 谭叙. 生物传感技术在食品农药残留检测中的运用[J]. 食品安全导刊, 2021(3): 155-156.
- [59] ZOU Z X, DU D, WANG J, et al. Quantum dot-based immunochromatographic fluorescent biosensor for biomonitoring trichloropyridinol, a biomarker of exposure to chlorpyrifos[J]. *Anal Chem*, 2010, 82(12): 5125-5133.
- [60] WANG L, LU D, WANG J, et al. A novel immunochromatographic electrochemical biosensor for highly sensitive and selective detection of trichloropyridinol, a biomarker of exposure to chlorpyrifos[J]. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26(6): 2835-2840.

(责任编辑: 曲来娥)