

人体生物材料中拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测方法研究进展

任王成, 朱小雨, 叶小青

浙江中医药大学医学技术与信息工程学院, 浙江 杭州 310053



DOI 10.11836/JEOM21228

摘要:

近年来, 由于拟除虫菊酯类杀虫剂的广泛使用, 拟除虫菊酯类杀虫剂对人体健康的影响不可忽视。因此, 如何准确高效地检测人体拟除虫菊酯类杀虫剂的残留已成为人们研究的热点。但拟除虫菊酯类杀虫剂人体残留量较低, 代谢较快, 检测也较难。本文回顾了近年来对人体生物材料中拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测的研究, 详细罗列了对不同生物材料的预处理方法和检测方法, 同时总结了不同方法的检出限、定量限和回收率。最后对人体生物材料中拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测方法进行了展望。

关键词: 拟除虫菊酯类杀虫剂; 人体残留; 生物材料; 检测方法

Research progress on detection methods of pyrethroid insecticide residues in human biomaterials REN Wangcheng, ZHU Xiaoyu, YE Xiaoqing (College of Medical Technology and Information Engineering, Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou, Zhejiang 310053, China)

Abstract:

In recent years, due to the wide use of pyrethroid insecticides, the impact of pyrethroid insecticides on human health cannot be ignored. Therefore, how to detect pyrethroid insecticide residues in human body accurately and efficiently has become a research hotspot. However, it is difficult to detect pyrethroid insecticides because of its low residues and fast metabolism. Our article reviewed research on the detection of pyrethroid pesticide residues in human biomaterials in recent years, listed various pretreatment methods and detection methods of different biomaterials in detail, as well as summarized reported limits of detection, limits of quantitation, and recoveries of different methods. Finally, we prospected further development in detection methods of pyrethroid pesticide residues in human biomaterials.

Keywords: pyrethroid insecticide; residue in human body; biomaterials; detection methods

随着滴滴涕、六六六等一批毒性较大、不易降解、环境残留量大的农药被禁用后, 拟除虫菊酯类杀虫剂作为一种新型农药以其药效高、杀虫谱广、毒性低等突出特点被广泛应用于农业、畜牧业及家居害虫的控制。早在 2014 年就有 11 个品种的拟除虫菊酯类杀虫剂的销售额突破一亿美元^[1]。目前较为广泛使用的拟除虫菊酯类杀虫剂有: 氯氰菊酯、氯菊酯、氯氟氰菊酯、甲氰菊酯、溴氰菊酯、联苯菊酯等。由于拟除虫菊酯类杀虫剂的大量使用, 导致其在环境中普遍残留, 人体也受到比较广泛而高频的暴露。长期接触拟除虫菊酯类杀虫剂会对人体的神经系统、免疫系统和内分泌系统造成损伤^[2]。因此检测人体拟除虫菊酯类杀虫剂残留、评估人体拟除虫菊酯暴露风险并提出合理建议十分必要。本文总结梳理了近年来对人体生物材料进行拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测的不同方法, 包括对其原型和代谢产物的检测, 希望对人体拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测提供思路与参考。

1 拟除虫菊酯类杀虫剂的危害及其人体代谢

1.1 拟除虫菊酯类杀虫剂的毒性及危害

拟除虫菊酯类杀虫剂的大量使用, 使其在环境中普遍残留, 对人类健康也

基金项目

浙江省自然科学基金资助项目(LQ20B070005);
浙江省中医药优秀青年人才基金项目
(2020ZQ013)

作者简介

任王成(2001—), 男, 本科生;
E-mail: renwangcheng2001@163.com

通信作者

叶小青, E-mail: yexq@zcmu.edu.cn

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-05-23

录用日期 2021-09-09

文章编号 2095-9982(2022)01-0111-07

中图分类号 R12

文献标志码 A

引用

任王成, 朱小雨, 叶小青. 人体生物材料中拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测方法研究进展[J]. 环境与职业医学, 2022, 39(1): 111-117.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21228

Funding

This study was funded.

Correspondence to

YE Xiaoqing, E-mail: yexq@zcmu.edu.cn

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2021-05-23

Accepted 2021-09-09

To cite

REN Wangcheng, ZHU Xiaoyu, YE Xiaoqing. Research progress on detection methods of pyrethroid insecticide residues in human biomaterials[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(1): 111-117.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21228

带来了许多危害。拟除虫菊酯杀虫剂通过作用于电压门控钠离子通道^[3]来影响人类健康,根据是否含有 α -氰基,可以分为I型(不含 α -氰基)和II型(含有 α -氰基)。I型拟除虫菊酯类杀虫剂对哺乳动物的毒性表现为震颤、抽搐等症状,II型拟除虫菊酯类杀虫剂对哺乳动物的毒性表现为唾液分泌增加和运动功能障碍等^[4]。同时,长期接触拟除虫菊酯类杀虫剂,不仅会造成神经损伤,亦会造成内分泌系统和生殖系统损伤,还会引发免疫疾病。Wei等^[5]研究发现,长期暴露于拟除虫菊酯类杀虫剂环境中的人群,其因癌症或心血管疾病而导致死亡的风险也较普通人高,但具体机制还有待阐明。

1.2 人体对拟除虫菊酯类杀虫剂的接触、代谢与排泄

人体接触拟除虫菊酯类杀虫剂主要通过经皮肤、经口和经呼吸道等途径,其中职业人群是接触最多并受其危害影响最大的一类群体,婴幼儿则主要通过母乳暴露于拟除虫菊酯类杀虫剂^[6]。拟除虫菊酯类杀虫剂一般不在血液中进行代谢^[7],其代谢主要发生在肝脏,肝脏中的羧酸酯酶和细胞色素 P450 酶系在拟除虫菊酯类杀虫剂的代谢中发挥关键作用。Barr等^[8]的研究展示了拟除虫菊酯类杀虫剂进入人体的代谢路径,主要可以分为I相和II相反应,包括酯水解反应、氧化反应和结合反应。第I相反应主要包括羧酸酯酶介导的水解反应和细胞色素 P450 酶系统介导的氧化反应。大多数拟除虫菊酯受二者共同的作用而被代谢,但少数拟除虫菊酯仅受其中一者影响。如溴氰菊酯和反式氯菊酯主要被羧酸酯酶代谢^[9-10],细胞色素 P450 酶系代谢仅占其总代谢的2%和1%^[10],联苯菊酯则主要被细胞色素 P450 酶系代谢^[11-12]。第II相反应是代谢产物的极性基团与生物体内源性的小分子结合,生成葡萄糖醛酸苷、硫酸盐或氨基酸的亲水性结合物,经尿液排出。代谢产物中,3-苯氧基苯甲酸(3-phenoxybenzoic acid, 3-PBA)被认为是拟除虫菊酯类杀虫剂人体代谢的一般产物。但氟氯氰菊酯的代谢产物并非是3-PBA,而是4-氟-3-苯氧基苯甲酸(F-PBA)。其他常见的代谢产物有顺式-3-(2,2-二溴乙基)-2,2-二甲基环丙烷-1-羧酸(cis-DBCA)、顺式/反式-3-(2,2-二氯乙烯基)-2,2-二甲基环丙烷-1-羧酸(cis/trans-DCCA)等,DBCA和DCCA也可用Br₂CA和Cl₂CA来表示^[13-14]。一些常见的拟除虫菊酯类杀虫剂及其代谢物总结见文献^[8]。

2 人体生物材料预处理

目前对人体生物材料中拟除虫菊酯类杀虫剂残

留的研究中,使用的生物材料有尿液、血液、头发^[15]、乳汁^[16]、胎粪^[17]等,但主要还是对尿液的检测。在进行对生物材料的检测前,需要对样本进行预处理。预处理过程是决定最终检测结果好坏的关键步骤,因此人们对预处理过程的关注比较大,研究也比较多。不同生物材料的特点是不同的,因此预处理过程也不尽相同。总结预处理过程,对人体生物材料中拟除虫菊酯类杀虫剂残留的检测具有重要参考意义。

2.1 尿液样本预处理

尿液作为最常用的生物材料,适合检测拟除虫菊酯代谢产物。尿液样本一般的预处理过程为:水解、萃取和衍生化。第一步水解的目的是将尿液样本中的拟除虫菊酯代谢产物去结合化,方法主要有酸/碱水解和酶水解。酸/碱水解的优势是速度快、水解较完全,但其反应剧烈,比较危险;酶水解条件温和、比较环保,但耗时较长,且可能会出现水解不完全的现象^[18]。第二步萃取是预处理过程中最为重要的一步,是为了将样本中的待测组分与其他干扰杂质分离。常见的萃取的方法有液液萃取、固相萃取、液液微萃取、固相微萃取等,使用微萃取技术的优点是可以显著节约有机溶剂。最后一步衍生化只在使用气相色谱检测代谢产物时进行,因为代谢产物中常含有难以气化的羧基,使用液相色谱则无须进行。衍生化的试剂通常是1,1,1,3,3,3-六氟异丙醇(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol, HFIP)和N,N'-二异丙基碳二亚胺(N,N'-diisopropylcarbodiimide, DIC)的混合液^[19-20],可以将羧基转变成酯,使之便于气化。Klimowska等^[21]开发了一种酶水解,然后使用填充吸附剂微萃取和HFIP-DIC衍生的尿液预处理方法,该方法可以直接和大体积注射的气相色谱联用来检测拟除虫菊酯类杀虫剂代谢物。他们的预处理方法快速且环保,能够重复使用吸附剂并在衍生化之前消除蒸发步骤。Udea等^[22]采用了两种衍生试剂来衍生拟除虫菊酯代谢物,分别是1%的三甲基氯硅烷和HFIP-DIC,他们的方法可用作对尿液样本中多种拟除虫菊酯类杀虫剂代谢物的衍生处理,包括HFIP-DIC难以衍生的羟基代谢物。除了上述常规的预处理方法,López-García等^[23]还对尿液样本采用了湍流色谱(turbulent flow chromatography)法进行预处理,他们发现湍流色谱比固相萃取有更好的效能,方法回收率在70%~116%。

2.2 血液样本预处理

由于拟除虫菊酯类杀虫剂不在人血液中代谢,因此血液样本一般适合检测拟除虫菊酯原型。血液样本

预处理与尿液不同的是无须进行水解步骤。Gao 等^[24]在检测血液样本中的拟除虫菊酯时,采用了超声辅助分散液-液微萃取的萃取方法,最终回收率在 70.2%~91.8%之间,相对标准偏差低于 10%。他们的方法具有灵敏度高、测定速度快、操作简单、有机溶剂用量少等优点。Hou 等^[25]在固相萃取中首次采用了聚吡咯纳米线作为固相萃取的材料并对血浆样本进行预处理,他们的方法更加简便,无须进行离心等分离步骤,六种拟除虫菊酯原型的回收率在 76.9%~110.4%,富集因子在 47.09~51.30。Iqbal 等^[26]采用 QuEChERS 法对血液样本进行了预处理。QuEChERS 法曾广泛应用于蔬菜水果等样品的预处理,随着技术的进步,其也逐渐用于人体生物材料且效果较好,相信在未来定会成为重要的生物材料预处理方法。

2.3 乳汁样本预处理

与其他生物材料不同,乳汁样本的特点是脂质含量较高,因此需要确定脂质重量和去除脂质,这是乳汁样本预处理过程中的重点和难点。目前对于乳汁样本的预处理,使用最多的是使用 QuEChERS 法提取待测物^[16, 27-28]。确定脂质重量的方法一般是先萃取,然后对脂质相进行浓缩蒸发,最后称重。

2.4 头发样本预处理

头发样本的特点是样本为固体且较大,因此对头

发样本的预处理过程一般为:洗涤、粉碎、萃取。Hardy 等^[29]首先用水对头发净化 2 min,然后用乙腈净化 2 min。去污后,用纸巾轻拍干燥,然后粉碎 5 min。之后加入 1 mL 乙腈/水(体积比 80:20)在 40 °C 下萃取并振荡过夜。第二天将样品涡旋并离心 10 min。最后将上清液进行固相微萃取处理。

2.5 胎粪样本预处理

胎粪是新生儿的第一次粪便,检测胎粪对于了解婴儿对于拟除虫菊酯类杀虫剂的暴露程度具有重要意义。胎粪样本的预处理中,固相萃取使用较多^[17, 30-31]。Meyer-Monath 等^[30]将胎粪样品用水稀释,加入氢氧化铵涡旋和离心后,过滤上清液。向剩余的胎粪相中加入乙腈、硫酸铵和乙酸铵,然后进行固相萃取处理。

3 人体生物材料中拟除虫菊酯类杀虫剂的残留检测方法

对人体生物材料进行拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测的主要方法包括色谱-质谱联用法和免疫分析法,以采用色谱-质谱联用法为主。单一的色谱检测技术已逐步被色谱-质谱联用技术取代。表 1 总结了用不同检测方法进行拟除虫菊酯类杀虫剂人体残留的检测与其效果。

表 1 不同方法进行拟除虫菊酯类杀虫剂人体残留检测总结

Table 1 The summary of different methods for detecting human residues of pyrethroid insecticides

生物材料	检测对象	预处理方法	检测技术	检出限	回收率	参考文献
头发	氯氰菊酯等原型和 3-PBA 等代谢产物	固相微萃取	GC-MS/MS	0.02~0.60 ng·g ⁻¹	—	[15]
血液	溴氰菊酯等原型	超声辅助分散液-液微萃取	GC-MS/MS	0.01~0.1 µg·L ⁻¹	70.2%~91.8%	[24]
尿液	3-PBA 等代谢产物	液-液萃取与固相萃取结合	GC-MS/MS	0.008~0.833 µg·L ⁻¹	54.08%~82.49%	[32]
脐带血清	3-PBA 等六种代谢物	液液萃取	GC-MS	0.02~0.6 µg·L ⁻¹	57%~99%	[33]
人乳	氯氰菊酯等原型	加压溶剂萃取	GC/EI-HRMS	0.04~0.22 ng·g ⁻¹ 脂重	58%~120%	[34]
血浆	联苯菊酯等原型和 3-PBA 等代谢产物	液液萃取	LC-MS/MS	0.1~2.0 µg·L ⁻¹ , 氯菊酯为 13.3 µg·L ⁻¹	90.9%~112.4%	[35]
尿液	3-PBA 等代谢产物	同位素稀释固相萃取	UPLC-MS/MS	0.018~0.019 µg·L ⁻¹	84%~100%	[36]
血浆、尿液	3-PBA	液-液萃取与固相萃取结合	ELISA	血浆为 1.08 µg·L ⁻¹ , 尿液为 1.94 µg·L ⁻¹	血浆为 85.9%~99.4%, 尿液为 87.3%~98.0%	[37]

[注] UPLC: 超高效液相色谱; LC: 液相色谱; GC: 气相色谱; MS: 质谱; MS/MS: 串联质谱; ELISA: 酶联免疫吸附法; EI: 电子轰击离子源; HRMS: 高分辨质谱; “—”表示文献中未提及。

3.1 气相色谱-质谱联用法(gas chromatographic-mass spectrometry, GC-MS)

GC-MS 是目前检测人体拟除虫菊酯类杀虫剂残留最常用的方法之一,其特点是灵敏度高。Tao 等^[38]用酶水解-C₁₈柱固相萃取-HFIP 和 DIC 衍生的预处理

方法,结合 GC-MS 对人尿中 7 种拟除虫菊酯类杀虫剂代谢物进行了分析。GC 进样口温度为 250 °C,烘箱温度从 60 °C 以 10 °C·min⁻¹ 上升到 200 °C,然后 20 °C·min⁻¹ 上升到 270 °C,最后在 290 °C 下运行 3 min。载气氮气的流速为 1.2 mL·min⁻¹。质谱仪离子源温度保持在

230 °C, 四级杆温度 150 °C, 采用选择离子监测(SIM)模式。7 种代谢物的检出限为 0.02~0.08 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 回收率均在 80%以上。刘缙等^[39]采用 GC-MS 对人血中 7 种拟除虫菊酯类杀虫剂原型进行了检测, 预处理方法是 QuEChERS 法。GC 烘箱初始温度设为 100 °C, 保持 2 min, 然后 20 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 280 °C, 保持 15 min。进样口温度为 260 °C, 载气氮气的流速 1.5 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ 。质谱接口温度 280 °C, 离子源温度 250 °C。最终 7 种拟除虫菊酯的线性范围为 1.0~10.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 相对标准偏差为 5.6%~10.3%, 回收率为 79.6%~108.6%, 最低检出限为 0.1~0.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

3.2 气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)

GC-MS/MS 是在 GC-MS 的基础上进一步发展的技术。使用串联质谱的优势是可以使检测的分辨率进一步提高, 但其价格相对更加昂贵。Schettgen 等^[40]使用 GC-MS/MS 同时定量检测了人尿中 8 种拟除虫菊酯类代谢物, 预处理方法是酸水解-液液萃取-衍生化。在衍生化步骤, 他们采用了 N-(叔丁基二甲基甲硅烷基)-N-甲基三氟乙酰胺(MTBSTFA)来代替 HFIP-DIC 进行衍生。他们发现 MTBSTFA 衍生的优势是可以产生高质荷比的高度稳定的离子, 这有利于串联质谱分析。GC 烘箱条件为 90 °C 保持 1 min, 然后以 30 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升至 120 °C 并保持 1 min, 再以 5 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度升至 255 °C, 最后以 30 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度升至 300 °C 并保持 8 min, 载气为 1.2 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ 的氮气。质谱采用电子轰击离子源(EI), 温度 230 °C, 四级杆温度 150 °C。最终回收率在 84%~100%, 8 种代谢物的定量限均为 0.01 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

3.3 气相色谱-高分辨率质谱(gas chromatography-high resolution mass spectrometry, GC-HRMS)

GC-HRMS 也常应用于拟除虫菊酯类杀虫剂人体残留的检测之中。高分辨率质谱的分辨率通常可以达到 10 000 以上, 十分适合检测拟除虫菊酯类杀虫剂等种类繁多且结构相似的化合物。Čechová 等^[34]使用 GC/EI-HRMS 测定了母乳中包括拟除虫菊酯原型在内的 78 种神经毒性物质。他们的预处理方法是加压溶剂萃取, 然后进行浓缩蒸发确定脂质重量, 同时采用 10 °C 下透析和柱层析进行脂质去除, 然后 GC-HRMS 测定, 10 °C 下透析是他们预处理的创新之处。GC 色谱柱采用 60 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm 的安捷伦 DB-5MS 超高惰性柱, 进样器温度 260 °C, 烘箱条件为 120 °C 保持 1.5 min, 30 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ 至 150 °C, 然后 4.5 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ 至

330 °C, 载气氮气流速为 1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$; HRMS 采用正模式(EI+) 的电子碰撞电离, 电子能量 48 eV, 质谱分辨率设置为 $\geq 10\,000$, 传输线温度 280 °C。他们的方法去除了超过 94% 的脂质, 回收率在 80% 左右。

3.4 气相色谱-电子捕获检测(gas chromatographic-electron capture detector, GC-ECD)

GC-ECD 是拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测最灵敏的方法, 其适用的检测对象是含有卤素的拟除虫菊酯, 例如氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、苄氯菊酯等, 也适用于检测含卤素的代谢产物。Lin 等^[41]使用 GC-ECD 测定了职业暴露工人尿液中的拟除虫菊酯类杀虫剂代谢物, 他们建立了一种与 GC-ECD 相适应的预处理方法, 即酸水解和中空纤维液相微萃取结合注射器内衍生化。GC 使用安捷伦熔融石英 DB-608 毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm) 实现分离, 检测器为 μECD , 载气氮气流速为 1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$, 进样器温度 250 °C, 检测器的温度 300 °C。烘箱初始温度为 70 °C, 然后以 6 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度升至 160 °C 并保持 1 min, 再以 30 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度升至 250 °C, 最后保持 3 min。方法的富集因子为 69.8~154.6, 重复性为 5%~12%, 检出限为 1.6~17 ng $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。目前使用 GC-ECD 法进行人体生物材料中拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测的研究较少, 大多集中在对食品和环境样品等非人体生物材料的检测。

3.5 液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)

LC-MS/MS 是另一种常用的分析技术。由于拟除虫菊酯杀虫剂人体残留量很低, LC-MS 的灵敏度很难达到要求, 因此基本不使用 LC-MS 进行检测。使用 LC-MS/MS 法检测时, 超高效液相色谱(ultra-performance liquid chromatography, UPLC)与高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)相比, 分离度更好, 检测效率更高, 溶剂消耗量更少。在进行样本预处理时, 代谢物可以不进行衍生化, 因此 LC-MS/MS 更适用于拟除虫菊酯类杀虫剂代谢物的分析。Jeong 等^[35]使用 LC-MS/MS 进行了血浆样本的分析, 样品经乙腈萃取浓缩和甲醇复溶后进行检测。液相色谱流动相为 5 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ 的醋酸铵溶液和甲醇, 流速为 1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ 。流动相梯度使用 70% 甲醇保持 3 min, 然后 5 min 内线性增加至 98% 甲醇, 保持 5~10 min 后在 11 min 内返回 70% 甲醇, 最后稳定 13 min。样品进样量为 5.0 μL , 柱烘箱保持在 20 °C。拟除虫菊酯原型采用正模式 5 500 V, 拟除虫菊酯代谢物采用 -4 500 V 进行质谱分析。他们的方法适用于使用 LC-MS/MS 对血浆样本中

多种拟除虫菊酯类杀虫剂原型和代谢产物的同时检测,也适用于拟除虫菊酯类杀虫剂中毒时的快速检测。方法准确率为 81.8%~112.3%,精密率为 0%~10.1%,回收率为 90.9%~112.4%,检出限 0.1~2.0 ng·mL⁻¹(氯菊酯为 13.3 ng·mL⁻¹)。Gari 等^[36]采用同位素稀释固相萃取-UPLC-MS/MS 对人尿中拟除虫菊酯类杀虫剂代谢物进行了检测。LC 以乙腈为流动相,H₂O 与 1%乙酸和 5%甲醇的混合物为洗脱剂进行分析。流动相梯度从乙腈:混合物 2:98 开始,在 4 min 内增加到 20:80,然后在 3 min 内增加到 40:60,在第 14 分钟增加到 50:50,在第 16.5 分钟以 100%乙腈结束,最终检出限在 18~19 pg·mL⁻¹不等。使用 LC-MS/MS 的优势是无须衍生化,可以缩短预处理的时间,但其对有机溶剂的损耗较大,不够环保,同时相比 GC-MS/MS,灵敏度略低。

3.6 液相色谱-高分辨率质谱(liquid chromatography-high resolution mass spectrometry, LC-HRMS)

LC-HRMS 同样可用于人体生物材料的拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测。尽管 LC-MS/MS 应用更为广泛,但其需要复杂的方法设置,比较烦琐。使用 LC-HRMS 既保证了检测的高灵敏度,又使得检测更为快速。Roca 等^[42]采用 LC-HRMS 对尿液中的拟除虫菊酯代谢物进行了检测,预处理方法是酶水解结合 QuEChERS。LC 流动相是 0.1%乙酸水溶液(溶剂 A)和含有 0.1%乙酸的甲醇(溶剂 B)。条件为 95%溶液 A 保持 1 min,然后线性下降至 45%,并在 0.5 min 内迅速下降至 0%,并保持 1.5 min。之后在 0.5 min 内恢复 95%的溶液 A,保持 12 min。HRMS 采用电喷雾电离,在全扫描模式下运行。大多数代谢物定量限在 2~3.2 μg·L⁻¹。

3.7 酶联免疫吸附法(ELISA)

ELISA 是目前检测人体拟除虫菊酯类杀虫剂残留最常用的一种免疫分析法。使用 ELISA 检测时,也需要进行样本预处理,方法与使用色谱-质谱联用法时的预处理一致。Thiphom 等^[37]使用 ELISA 法检测了血浆和尿液样本中的 3-PBA。血浆样本的预处理是碱水解,然后采用液液萃取和固相萃取结合的萃取方法。尿液样本的预处理是酸水解-固相萃取。ELISA 过程是包被、封闭、一抗结合、二抗结合,最后加入 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)底物检测。最终血浆样本的回收率是 85.9%~99.4%,检出限是 1.08 ng·mL⁻¹;尿液样本的回收率是 87.3%~98.0%,检出限是 1.94 ng·mL⁻¹。ELISA 法受限程度比较大,主要是特定抗体的设计成为了一个难点。目前广受关注的是半抗原的合成与应用,拟除

虫菊酯类杀虫剂半抗原的设计主要是对其结构中的环丙烷或羧酸进行修饰^[43]。虽然 ELISA 灵敏度较低,但其简单、快速、成本低廉等特点可作为拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测的重要辅助手段。

3.8 其他免疫分析技术

除了 ELISA 外,还有许多其他免疫分析技术也运用到了拟除虫菊酯类杀虫剂人体残留的检测之中,Wang 等^[44]采用荧光偏振免疫分析法测定 3-PBA,El-Moghazy 等^[45]采用电化学免疫法测定 3-PBA。他们的研究都基于纳米抗体进行,因为纳米抗体在测定 3-PBA 时可以带来更高的灵敏度和特异度^[46]。目前采用免疫分析法进行人体拟除虫菊酯类杀虫剂残留检测的研究,检测的对象大都是 3-PBA,对其他代谢产物或原型的检测较少。

3.9 全细胞生物传感器技术

Riangrunroj 等^[47]开发的一种无标记光学全细胞大肠埃希菌生物传感器属于拟除虫菊酯类杀虫剂代谢物检测的新技术。该技术的原理类似于竞争 ELISA:传感器表面表达纳米抗体,当细胞与 3-PBA 半抗原-牛血清白蛋白混合后,会诱导细胞凝集,而样品中的游离的 3-PBA 可与蛋白质偶联物竞争并防止细胞交联导致细胞沉淀形成,通过洗涤步骤保留凝集细胞并去除未凝集细胞,可以产生与分析物浓度成比例的信号,从而定量。他们已将该方法应用于模拟的尿液和血浆样本之中来检测 3-PBA,并进行优化,最终得到了 3 ng·mL⁻¹的检出限。该生物传感器能冻干保存 90 d,且方便携带,成本较低,在未来可能是一种在资源匮乏环境中检测的良好手段。

4 结论和展望

人体生物材料中拟除虫菊酯类杀虫剂残留的检测方法在现阶段乃至未来都会是以色谱-质谱联用法为主。使用色谱-质谱联用法进行分析时,需要特别注意杂质的干扰,因此找到一种较好的预处理方法和采用最优的检测参数一直是研究的方向。拟除虫菊酯类杀虫剂作为最常用的杀虫剂之一,对其原型及代谢产物的人体残留检测必须要更加重视。鉴于目前仪器检测技术已比较成熟,因此可能更建议寻找与待检样本相适应的预处理方法来提高检测速度和增加检测效能。

参考文献

- [1] 陈燕玲. 2014年世界杀虫剂市场概况[J]. 现代农药, 2016, 15(2): 1-7, 27.

- CHEN YL. Overview on 2014 world insecticides market[J]. *Mod Agrochem*, 2016, 15(2): 1-7,27.
- [2] CHRUSTEK A, HOŁYŃSKA-IWAN I, DZIEMBOWSKA I, et al. Current research on the safety of pyrethroids used as insecticides[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2018, 54(4): 61.
- [3] HOŁYŃSKA-IWAN I, SZEWCZYK-GOLEC K. Pyrethroids: how they affect human and animal health?[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2020, 56(11): 582.
- [4] RAMCHANDRA A M, CHACKO B, VICTOR P J. Pyrethroid poisoning[J]. *Indian J Crit Care Med*, 2019, 23(Suppl 4): S267-S271.
- [5] WEI B, LIU B, SIMONSEN DW, et al. Association between exposure to pyrethroid insecticides and risk of all-cause and cause-specific mortality in the general US adult population[J]. *JAMA Intern Med*, 2020, 180(3): 367-374.
- [6] 提清清, 袁兆广, 杨凡昌, 等. 拟除虫菊酯农药暴露途径及对人体健康的影响[J]. *环境科学与技术*, 2017, 40(12): 240-248.
- TI QQ, NIE ZG, YANG FC, et al. Study on exposure routes of pyrethroid insecticides and its effects on human health[J]. *Environ Sci Technol*, 2017, 40(12): 240-248.
- [7] CROW JA, BORAZJANI A, POTTER PM, et al. Hydrolysis of pyrethroids by human and rat tissues: examination of intestinal, liver and serum carboxylesterases[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2007, 221(1): 1-12.
- [8] BARR DB, OLSSON AO, WONG LY, et al. Urinary Concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general U. S. population: national health and nutrition examination survey 1999-2002[J]. *Environ Health Perspect*, 2010, 118(6): 742-748.
- [9] HEDGES L, BROWN S, VARDY A, et al. Metabolism of deltamethrin and *cis*- and *trans*-permethrin by rat and human liver microsomes, liver cytosol and plasma preparations[J]. *Xenobiotica*, 2019, 49(4): 388-396.
- [10] HEDGES L, BROWN S, MACLEOD AK, et al. Metabolism of deltamethrin and *cis*- and *trans*-permethrin by human expressed cytochrome P450 and carboxylesterase enzymes[J]. *Xenobiotica*, 2019, 49(5): 521-527.
- [11] HEDGES L, BROWN S, MACLEOD AK, et al. Metabolism of bifenthrin, β -cyfluthrin, λ -cyhalothrin, cyphenothrin and esfenvalerate by rat and human cytochrome P450 and carboxylesterase enzymes[J]. *Xenobiotica*, 2020, 50(12): 1434-1442.
- [12] NALLANI GC, CHANDRASEKARAN A, KASSAHUN K, et al. Age dependent in vitro metabolism of bifenthrin in rat and human hepatic microsomes[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 338: 65-72.
- [13] LU D, WANG D, FENG C, et al. Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in textile workers, Eastern China[J]. *Environ Int*, 2013, 60: 137-144.
- [14] WIELGOMAS B, PISKUNOWICZ M. Biomonitoring of pyrethroid exposure among rural and urban populations in northern Poland[J]. *Chemosphere*, 2013, 93(10): 2547-2553.
- [15] PENG FJ, HARDY EM, MEZZACHE S, et al. Exposure to multiclass pesticides among female adult population in two Chinese cities revealed by hair analysis[J]. *Environ Int*, 2020, 138: 105633.
- [16] KUANG L, HOU Y, HUANG F, et al. Pesticides in human milk collected from Jinhu, China: levels, influencing factors and health risk assessment[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 205: 111331.
- [17] BERTON T, MAYHOUB F, CHARDON K, et al. Development of an analytical strategy based on LC-MS/MS for the measurement of different classes of pesticides and their metabolites in meconium: application and characterisation of foetal exposure in France[J]. *Environ Res*, 2014, 132: 311-320.
- [18] TOSHIMA H, YOSHINAGA J, SHIRAISHI H, et al. Comparison of different urine pretreatments for biological monitoring of pyrethroid insecticides[J]. *J Anal Toxicol*, 2015, 39(2): 133-136.
- [19] SAITO S, UYAMA J, KONDO T, et al. A non-invasive biomonitoring method for assessing levels of urinary pyrethroid metabolites in diapered children by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 2014, 24(2): 200-207.
- [20] ELFLIN L, BERGER-PREISS E, PREISS A, et al. Human biomonitoring of pyrethrum and pyrethroid insecticides used indoors: determination of the metabolites *E-cis/trans*-chrysanthemumdicarboxylic acid in human urine by gas chromatography-mass spectrometry with negative chemical ionization[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 795(2): 195-207.
- [21] KLIMOWSKA A, WIELGOMAS B. Off-line microextraction by packed sorbent combined with on solid support derivatization and GC-MS: application for the analysis of five pyrethroid metabolites in urine samples[J]. *Talanta*, 2018, 176: 165-171.
- [22] UEDA Y, ODA M, SAITO I, et al. A sensitive and efficient procedure for the high-throughput determination of nine urinary metabolites of pyrethroids by GC-MS/MS and its application in a sample of Japanese children[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(24): 6207-6217.
- [23] LÓPEZ-GARCÍA M, ROMERO-GONZÁLEZ R, FRENICH AG. Monitoring of organophosphate and pyrethroid metabolites in human urine samples by an automated method (TurboFlow™) coupled to ultra-high performance liquid chromatography-Orbitrap mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 173: 31-39.
- [24] GAO X, GUO H, WANG J, et al. Sensitive and rapid determination of pyrethroids in human blood by gas chromatography-tandem mass spectrometry with ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction[J]. *Drug Test Anal*, 2018, 10(7): 1131-1138.
- [25] HOU Y, LI Y, HUANG W, et al. Synthesis of sheet-like polypyrrole nanowires for the microextraction of trace residues of pyrethroid pesticides in human plasma and molecular dynamics-aided study of adsorption mechanism[J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1632: 461609.
- [26] IQBAL S, IQBAL MM, JAVED M, et al. Modified QuEChERS extraction method followed by simultaneous quantitation of nine multi-class pesticides in human blood and urine by using GC-MS[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2020, 1152: 122227.
- [27] MEHTA RV, SREENIVASA MA, MATHEW M, et al. A mixed-methods study of pesticide exposures in Breastmilk and Community & Lactating Women's perspectives from Haryana, India[J]. *BMC Public Health*, 2020, 20(1): 1877.
- [28] DU J, GRIDNEVA Z, GAY MC L, et al. Pesticides in human milk of Western Australian women and their influence on infant growth outcomes: a cross-sectional study[J]. *Chemosphere*, 2017, 167: 247-254.
- [29] HARDY EM, DUCA RC, SALQUEBRE G, et al. Multi-residue analysis of organic pollutants in hair and urine for matrices comparison[J]. *Forensic Sci Int*, 2015, 249: 6-19.
- [30] MEYER-MONATH M, CHATELLIER C, CABOOTER D, et al. Development of liquid chromatography methods coupled to mass spectrometry for the analysis of substances with a wide variety of polarity in meconium[J]. *Talanta*, 2015, 138: 231-239.
- [31] FERNÁNDEZ-CRUZ T, ÁLVAREZ-SILVARES E, DOMÍNGUEZ-VIGO P, et al. Prenatal exposure to organic pollutants in northwestern Spain using non-invasive matrices (placenta and meconium)[J]. *Sci Total Environ*, 2020, 731: 138341.
- [32] GUO XY, SUN LS, HUANG MY, et al. Simultaneous determination of eight

- metabolites of organophosphate and pyrethroid pesticides in urine[J]. *J Environ Sci Health B*, 2017, 52(1): 1-9.
- [33] WREN M, LIU M, VETRANO A, et al. Analysis of six pyrethroid insecticide metabolites in cord serum using a novel gas chromatography-ion trap mass spectrometry method[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2021, 1173: 122656.
- [34] ČECHOVÁ E, SEIFERTOVÁ M, KUKUČKA P, et al. An effective clean-up technique for GC/ESI-MS determination of developmental neurotoxins in human breast milk[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2017, 409(5): 1311-1322.
- [35] JEONG D, KANG JS, KIM KM, et al. Simultaneous determination of pyrethroids and their metabolites in human plasma using liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Forensic Sci Int*, 2019, 302: 109846.
- [36] GARÍ M, GONZÁLEZ-QUINTEIRO Y, BRAVO N, et al. Analysis of metabolites of organophosphate and pyrethroid pesticides in human urine from urban and agricultural populations (Catalonia and Galicia)[J]. *Sci Total Environ*, 2018, 622-623: 526-533.
- [37] THIPHOM S, PRAPAMONTOL T, CHANTARA S, et al. Determination of the pyrethroid insecticide metabolite 3-PBA in plasma and urine samples from farmer and consumer groups in northern Thailand[J]. *J Environ Sci Health B*, 2014, 49(1): 15-22.
- [38] TAO L, CHEN M, COLLINS E, et al. Simultaneous quantitation of seven pyrethroid metabolites in human urine by capillary gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Sep Sci*, 2013, 36(4): 773-780.
- [39] 刘绪, 毛海峰, 蔡红新, 等. 基质分散固相萃取-气质联用法分析人血中拟除虫菊酯类农药[J]. *刑事技术*, 2020, 45(2): 169-172.
- LIU J, MAO HF, CAI HX, et al. Determination of pyrethroid pesticides in human blood by QuEChERS-GC/MS[J]. *Forensic Sci Technol*, 2020, 45(2): 169-172.
- [40] SCHETTGEN T, DEWES P, KRAUS T. A method for the simultaneous quantification of eight metabolites of synthetic pyrethroids in urine of the general population using gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2016, 408(20): 5467-5478.
- [41] LIN CH, YAN CT, KUMAR PV, et al. Determination of pyrethroid metabolites in human urine using liquid phase microextraction coupled in-syringe derivatization followed by gas chromatography/electron capture detection[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 401(3): 927-937.
- [42] 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.
- [43] 胡久平, 李相前, 任世英, 等. 拟除虫菊酯类农药半抗原合成及酶联免疫分析[J]. *湖北农业科学*, 2013, 52(5): 993-997.
- HU JP, LI XQ, REN SY, et al. Hapten synthesis and ELISA analysis of pyrethroid pesticides[J]. *Hubei Agric Sci*, 2013, 52(5): 993-997.
- [44] WANG Y, LI Z, BARNYCH B, et al. Investigation of the small size of nanobodies for a sensitive fluorescence polarization immunoassay for small molecules: 3-phenoxybenzoic acid, an exposure biomarker of pyrethroid insecticides as a model[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(41): 11536-11541.
- [45] EL-MOGHAZY AY, HUO J, AMALY N, et al. An innovative nanobody-based electrochemical immunosensor using decorated nylon nanofibers for point-of-care monitoring of human exposure to pyrethroid insecticides[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(5): 6159-6168.
- [46] KIM HJ, MCCOY MR, MAJKOVA Z, et al. Isolation of alpaca anti-hapten heavy chain single domain antibodies for development of sensitive immunoassay[J]. *Anal Chem*, 2012, 84(2): 1165-1171.
- [47] RIANGRUNGROJ P, BEVER CS, HAMMOCK BD, et al. A label-free optical whole-cell *Escherichia coli* biosensor for the detection of pyrethroid insecticide exposure[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12466.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 王晓宇)