

磁固相-内部萃取电喷雾电离质谱法 快速测定人尿中的 3-羟基苯并芘

刘建川¹ 张华^{1,2} 黄海春¹ 沈友起¹ 王亚男¹ 张小平^{*1}

¹(东华理工大学, 江西省质谱科学与仪器重点实验室, 南昌 330013)

²(吉林大学化学学院, 无机合成与制备化学国家重点实验室, 长春 130012)

摘要 将磁固相萃取(MSPE)和内部萃取电喷雾电离质谱(iEESI-MS)技术相结合,建立了直接快速检测人尿液中痕量 PAHs 代谢物 3-羟基苯并芘(3-OHBP)的方法,并将此方法应用于吸烟人群与不吸烟人群尿样中 3-OHBP 的检测。本研究以聚吡咯包覆的 Fe₃O₄ 磁性纳米颗粒材料作为 MSPE 的介质,通过优化各项实验参数(如固液比、毛细管电压、洗脱液组成、洗脱体积等),将吸附了尿液中 3-OHBP 的纳米材料作为整体样品直接进行 iEESI-MS 分析,以 *m/z* 239 的信号强度为定量指标,获得最优实验条件。结果表明,尿样基质中 3-OHBP 在 0.0005 ~ 2.500 μg/L 浓度范围内与 *m/z* 239 的信号强度的线性关系良好,检出限低至 0.1 ng/L,精密度(RSDs)小于 8%,整个样品分析过程不超过 4 min,且吸烟志愿者尿液中 3-OHBP 浓度明显高于不吸烟志愿者。本方法操作简单、快速、环境友好,可为人群健康风险评价提供参考依据。

关键词 磁固相萃取; 内部萃取电喷雾电离质谱; 多环芳烃; 3-羟基苯并芘; 健康风险评价

1 引言

苯并芘即苯并[α]芘(BaP),由 5 个苯环组成,其分布广泛,且结构稳定难以降解,是首个被发现的环境化学致癌物^[1],其致癌性最强,分布最广,在食品、大气、水体、土壤等中广泛存在^[2]。BaP 可通过食物链的方式向人体转移,最终在人体内蓄积。有研究表明, BaP 在体内经功能氧化酶(如 CYP1A1)代谢活化后,形成二氢二醇环氧化物、反式二羟环氧苯并芘等,这些代谢物很容易与 DNA 结合形成加合物,导致基因的突变和非正常表达^[3]。该 DNA 加合产物已在吸烟者的肺中被发现,可直接诱导肿瘤的形成,在肺癌患者中表现尤为明显^[4]。人通过空气、水、食物等不同程度的暴露接触 BaP,还容易诱发肺癌、皮肤癌、胃癌等多种疾病^[5,6]。此外, BaP 的毒性具有长期和隐匿的特点,在表现出症状前潜伏期可达 25 年左右^[5]。因此,建立快速、准确、高效地监测人体暴露 BaP 水平的检测方法,对保障人类健康以及环境治理等具有重要意义。

3-羟基苯并[a]芘(3-OHBP)是 BaP 的代谢标志物^[7]。因此,可通过检测人尿中 BaP 的代谢物(3-OHBP)含量,监测人体内 BaP 的暴露水平^[7-10]。目前, BaP 代谢物检测方法主要包括高效液相色谱-荧光检测法(HPLC-FLD)^[7]、气相色谱-质谱法(GC-MS)^[11]、高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)^[9,10]等。其中, HPLC-FLD 方法操作繁琐,耗时费力,且灵敏度较低。GC-MS 和 HPLC-MS/MS 方法具有灵敏度高和准确等特点,然而,这些方法通常需要复杂的样品预处理过程,限制了对 BaP 的高通量分析,不能满足对人体 BaP 暴露量快速评价的需要。因此,开发简单、高选择性、高通量的方法分析人尿中痕量 3-OHBP 显得尤为重要。人尿基质非常复杂,且 PAHs 代谢物的含量极低。为进一步提高 PAHs 代谢物检测的灵敏度,一些研究者利用磁性材料微孔共聚物与 PAHs 之间的疏水作用和 π-π 堆叠作用,对复杂基体中的痕量 PAHs 代谢物进行富集,从而实现 PAHs 的高通量定性和定量分析^[12-14]。本课题组前期发展了一种磁固相萃取-内部萃取电喷雾电离质谱(MSPE-iEESI-MS)的检测方法,首先是以聚吡咯包裹的 Fe₃O₄ 作为磁固相萃取材料对尿液中的痕量 1-羟基芘(1-OHP)进行选择特异性吸附,再采用 iEESI-MS 技术进行分析,方法的检出限低至 0.1 ng/L^[15],具有简单、省时、灵敏度

2018-04-02 收稿;2018-12-26 接受

本文系国家自然科学基金项目(Nos. 21605016, 21605017)、江西省科技计划项目(No. 20151BBG70038)和东华理工大学科研基金项目(No. DHBK2016131)资助

* E-mail: zhangxpsunshine@163.com

高等特点。芘是 PAHs 中含量最丰富的组分之一,因此,在评价 PAHs 暴露水平时,1-OHP(芘的主要代谢产物)被广泛用作分析的目标物。但有研究者指出,采用尿中 1-OHP 进行评价致癌 PAHs 的暴露程度不够准确。首先,芘本身是一种非致癌物;其次,不同地理环境中 PAHs 特性不同,各成分的含量不同,如排放源不同,芘与 BaP 或其它致癌 PAHs 的含量比例差异很大^[16,17]。因此,研究者们开始采用一些其它致癌物的代谢产物作为标志物或同时采用多种代谢标志物进行评估,如3-OHBaP、羟基菲等^[18,19]。其中,尿液中的3-OHBaP受到特别关注,它是致癌性 BaP 的主要单羟基代谢产物,与 1-OHP 相比,尿液中3-OHBaP更适合作为致癌性 PAHs 暴露的生物标志物^[18]。然而,在体内,BaP 可被代谢转化为酚类、二醇类、酮类或环氧类,而这些代谢物主要随粪便排出,尿液中3-OHBaP的含量极低(pg/mL 级别),比尿液中 1-OHP 的含量要低几个数量级^[16]。因此,准确测定复杂尿液基质中低浓度的3-OHBaP难度较大。在前期研究基础上,本研究采用 MSPE-iEESI-MS 技术对人尿液样品中的痕量 3-OHBaP进行高效、高选择性、高通量定量分析,并将此方法应用于吸烟人群和不吸烟人群志愿者尿样中3-OHBaP的快速检测。通过对比分析不同人群尿样中3-OHBaP的含量,可监测人体内 BaP 暴露水平,为人体健康风险评价提供参考依据。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

MSPE 装置和 iEESI 离子源均由本实验室研制^[15]; LTQ-XL 线性离子阱质谱仪(美国 Thermo 公司),采用 Xcalibur 数据处理系统。3-OHBaP(GR 级,美国 AuccStandard Inc 公司);甲醇和乙酸(HLPC 级,美国 ROE Scientific 公司);丙酮和苯(AR 级,国药集团化学试剂有限公司)。

2.2 磁固相萃取材料($\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$)的制备

聚吡咯涂覆的 Fe_3O_4 磁铁矿纳米复合材料合成方法参考文献[13, 20, 21]。首先采用溶剂热法制得磁性 Fe_3O_4 纳米球颗粒:称取 5.0 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,溶于 100 mL 乙二醇中,加入 15.0 g 醋酸钠固体和 50 mL 乙二胺,搅拌 0.5 h,将溶液转移到反应釜中,于 200℃ 条件反应 8 h,再用乙醇/水清洗数次,得到磁性颗粒,于 60℃ 真空烘干,备用。

称取磁性 Fe_3O_4 纳米球颗粒 1.0 g、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 9.1 g,加入 100 mL 去离子水,室温下摇振 3 h,使 Fe^{3+} 聚集在纳米球表面,加入 20 mL 十二烷基磺酸钠和 0.5 mL 吡咯单体,继续摇振反应 12 h,再用乙醇/水清洗数次,至上清液澄清,于 60℃ 真空烘干,即得到聚吡咯包裹磁性 Fe_3O_4 复合材料。

2.3 尿液样本的采集

尿液样本由 12 名健康志愿者(7 名不吸烟者和 5 名吸烟者)提供。收集每位志愿者晨尿于 100 mL 棕色玻璃瓶中,在 -80℃ 保存,实验前将尿液室温解冻。利用 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 材料对 3-OHBaP 的特异性吸附作用,在尿液样品中加入过量的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 材料,吸附去除可能存在的 3-OHBaP,再采用磁铁将 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 材料吸附分离,剩余的尿液样本作为空白。取适量 3-OHBaP 标准品,用甲醇配制成 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的储备液,于 4℃ 保存,实验时配制一系列浓度(0.0005 ~ 2.500 $\mu\text{g}/\text{L}$)的加标尿液样本,用于 MSPE-iEESI-MS 分析。

2.4 MSPE-iEESI-MS 方法的建立

MSPE-iEESI-MS 的工作流程参见本课题组前期工作^[15]。原理为:依据 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 对 3-OHBaP 的特异性吸附作用,将磁固相萃取介质 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 与 iEESI-MS 技术结合,对人尿中痕量 3-OHBaP 进行吸附,再将吸附了 3-OHBaP 的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 作为整体样品,选取合适的萃取剂进行洗脱,最后进入质谱分析。具体步骤如下:称取 0.1 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 于 15 mL 玻璃瓶中,依次分别加入 2 mL 甲醇和 2 mL 去离子水进行超声活化 30 s,磁分离;移取 10 mL 尿液样品于上述玻璃瓶中,涡旋 1 min,使 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 充分吸附尿样中的痕量 3-OHBaP,再将混合物装入 2.5 mL 进样针中,用磁铁将材料吸附在注射器的内壁上,将尿液排出。为了避免尿基质对 3-OHBaP 电喷雾溶液造成干扰,用 1 mL 去离子水洗涤进样针中的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 两次,再加入萃取剂将 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 上的 3-OHBaP 进行洗脱,轻轻摇晃使萃取剂与 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ppy$ 充分混合,使洗脱效果达到最佳。

质谱实验参数设置如下:选择负离子模式,质量扫描范围为 m/z 50~400;电喷雾溶液采用 100 μL 丙酮/苯/乙酸(85.5:9.5:5, V/V),流速为 15 $\mu\text{L}/\text{min}$;喷雾电压为 -3.5 kV;喷雾气(N_2),气压为 1.0 MPa;离子传输管温度为 300 $^\circ\text{C}$;其它参数由系统自动优化。采用串联质谱技术进行分析时,母离子的隔离宽度设为 1.0 u,碰撞能量(NCE)设定为 40%,碰撞时间为 30 ms。

3 结果与讨论

3.1 人尿中3-OHBAp的 MSPE-iEESI-MS 快速定性分析

将 0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 3-OHBAp加入空白尿液样品中,采用建立的 MSPE-iEESI-MS/MS 方法对其进行定性分析,质谱图见图1。选择负离子监测模式,可观测到 m/z 267 的离子峰,为3-OHBAp的去质子化准分子离子峰。为避免假阳性结果,对谱图中 m/z 267 进行碰撞诱导解离分析,可观测到特征碎片离子 m/z 239 (图1插图),此碎片离子与文献报道一致^[8,22]。 m/z 239为去质子化3-OHBAp丢失 CO 而形成,即特征碎片离子。这说明采用 MSPE-iEESI-MS/MS 方法可以实现人尿中痕量的3-OHBAp检测。

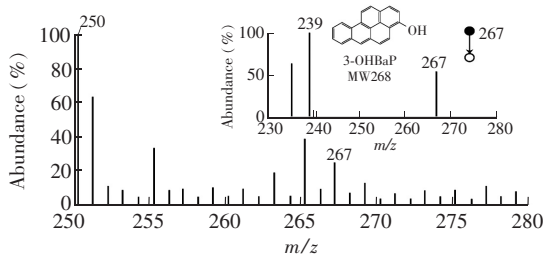


图1 尿样中3-OHBAp (0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$) 的加标 MSPE-iEESI-MS 指纹图,插图为 m/z 267 的串联质谱图
Fig. 1 Magnetic solid-phase extraction combined with internal extractive electrospray ionization mass spectrometry (MSPE-iEESI-MS) analysis of 0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 3-OHBAp spiked in blank human urine. Inset is MS² spectrum of the deprotonated 3-OHBAp at m/z 267

对实验条件进行了优化。优化后的毛细管电压为 -3.5 kV (图2A),改变磁性纳米材料的用量(从

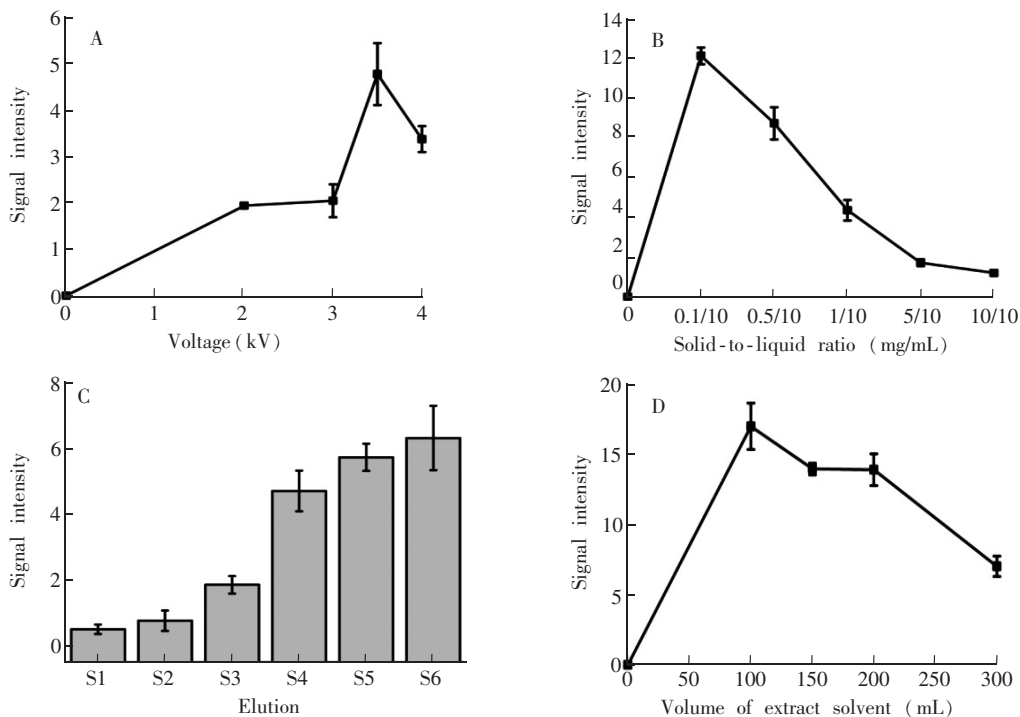


图2 (A)毛细管电压;(B) $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ Ppy 与尿液体积固液比;(C)萃取剂组成和(D)萃取剂体积对特征碎片离子 m/z 239 的信号强度的影响

Fig. 2 (A) capillary voltage; (B) solid-to-liquid ratio of $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ Ppy and urine; (C) elution solution composition, and (D) volume of extract solvent on signal intensities of characteristic fragment ion at m/z 239

Elution S1 is methanol; S2 is acetone; S3 was acetone/benzene (90:10, V/V); S4 is acetone/benzene/acetic acid (89.1:9.9:1, V/V); S5 is acetone/benzene/acetic acid (88.2:9.8:2, V/V); S6 is acetone/benzene/acetic acid (85.5:9.5:5, V/V)

0.1 mg 增加到 10 mg), 用于吸附同一体积(10 mL)尿液中的3-OHBP, 结果表明, 当磁性材料与尿液样本的固液比为 0.1 mg/10 mL 时, 目标待测物信号强度最佳(图 2B)。因此, 后续实验选取 0.1 mg 的磁性材料为吸附剂。对3-OHBP的萃取剂种类以及萃取体积进行优化, 利用相似相溶原理, 提高洗脱和电离的效率, 使待测物的信号强度达到最佳。由于3-OHBP结构稳定、极性较弱, 与磁性材料 Fe_3O_4 @ Ppy 之间的疏水作用和 π - π 堆叠作用较强, 综合考虑, 选择疏水性较强的溶剂将有利于实现3-OHBP的高效洗脱。因此, 考察了不同极性的溶剂(如甲醇、丙酮、苯、乙酸等)以及不同体积比例的混合溶液对3-OHBP的萃取效果。如图 2C 和 2D 所示, 当采用萃取剂为 100 μL 丙酮/苯/乙酸(85.5:9.5:5, V/V)时, 可得到最佳的3-OHBP待测物质谱信号。

3.2 人尿中3-OHBP的 MSPE-iEESI-MS 快速定量分析

向 10 mL 空白尿样中加入一系列(0.0005 ~ 2.500 $\mu\text{g/L}$)的3-OHBP标准溶液, 在最优的实验条件下, 采用 MSPE-iEESI-MS 进行快速检测分析, 每个浓度样品重复测定 6 次, 绘制特征离子 m/z 239 信号强度的平均值与3-OHBP对应浓度的关系曲线。结果表明, 采用 MSPE-iEESI-MS 方法可以快速定量检测人尿中痕量3-OHBP, 在 0.0005 ~ 2.50 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内, 3-OHBP的二级离子信号强度与其浓度具有良好的线性关系, 线性回归方程为 $y = 5.063x + 1.555$ ($R^2 = 0.9989$)(图 3), 对3-OHBP的检出限为 0.1 ng/L ^[23], 相对标准偏差(RSD)低于 8%。

单个样品分析时间小于 4 min。上述结果表明, 对于含有 ng/L 级的3-OHBP未稀释的尿样本, 可不经复杂预处理, 直接采用 MSPE-iEESI-MS 进行检测。这是因为磁性材料 Fe_3O_4 @ Ppy 对尿液中3-OHBP的高效选择性与特异性吸附, 以及 MSPE-iEESI-MS 特有的样品加载过程, 有效避免了目标物的损失。采用 MSPE 技术可对大批量的尿液样本进行快速处理, 进一步提高分析通量。

3.3 尿样中3-OHBP的快速测定

采用本方法对 12 名健康志愿者(其中 5 名吸烟者和 7 名不吸烟者)实际尿液样本中的痕量3-OHBP进行定量分析。实验结果见表 1, 在非吸烟者尿液中检测到的3-OHBP浓度为 0.23 ~ 0.76 $\mu\text{g/L}$, 而经常吸烟者尿液中的3-OHBP含量均大于 1.48 $\mu\text{g/L}$ 。显然, 经常吸烟志愿者尿液中

表 1 12 名健康志愿者未稀释人尿样品中3-OHBP浓度

Table 1 Concentrations of 3-OHBP in raw urine samples obtained from twelve healthy volunteers

样本 Samples	m/z 239 信号强度 Intensity of m/z 239			平均值 Average	标准偏差 SD	精密度 RSD (%, $n=3$)	3-OHBP浓度 Concentration of 3-OHBP ($\mu\text{g/L}$)
吸烟者 1 Smoker 1	11.90	11.80	11.50	11.73	0.21	2	2.01
吸烟者 2 Smoker 2	19.70	19.90	19.60	19.73	0.15	1	>2.50
吸烟者 3 Smoker 3	33.20	33.80	32.60	33.20	0.60	2	>2.50
吸烟者 4 Smoker 4	11.10	9.33	9.43	9.95	0.99	10	1.66
吸烟者 5 Smoker 5	9.06	8.36	9.77	9.06	0.71	8	1.48
不吸烟者 1 Non-smoker 1	2.65	2.72	2.76	2.71	0.06	2	0.23
不吸烟者 2 Non-smoker 2	3.81	3.83	3.75	3.80	0.04	1	0.44
不吸烟者 3 Non-smoker 3	4.11	4.09	4.21	4.14	0.06	2	0.51
不吸烟者 4 Non-smoker 4	4.13	4.12	4.16	4.14	0.02	1	0.51
不吸烟者 5 Non-smoker 5	4.39	4.35	4.43	4.39	0.04	1	0.56
不吸烟者 6 Non-smoker 6	5.22	5.42	5.41	5.35	0.11	2	0.75
不吸烟者 7 Non-smoker 7	5.45	5.46	5.36	5.42	0.06	1	0.76

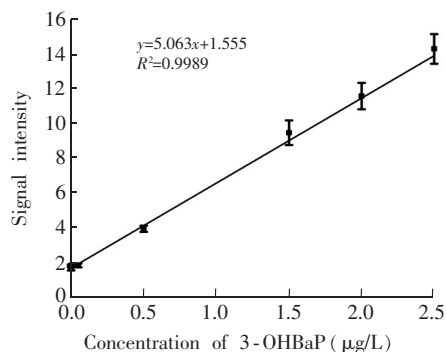


图 3 采用 MSPE-iEESI-MS 检测人尿中3-OHBP的标准曲线

Fig. 3 Standard curve for detection of 3-OHBP in human urine using MSPE-iEESI-MS technique

3-OHBP含量远高于不吸烟志愿者尿液中3-OHBP的含量,表明烟草烟雾中所含的成分是 PAHs 暴露的一个不可忽视的来源。然而,组内个体差异数据可能与 PAHs 潜在的环境暴露(如工业污染,汽车尾气和食用习惯,如炭化肉类摄入)也有一定的关联,为了更好地理解这些差异,后续的工作需要对大量的样本进行检测和分析。

4 结论

采用 MSPE-iEESI-MS 技术,对人尿样中3-OHBP进行了定性和定量分析。此方法操作简单、省时、环境友好,能够区分吸烟者与不吸烟者人体内痕量3-OHBP内部剂量的差异性,可为人体内 PAHs 暴露的健康风险评估提供参考依据。本研究结果表明,将常压质谱技术与 MSPE 结合,可为复杂基体生物和环境样品中痕量待测物的高通量分析提供有效的策略。

References

- 1 Juhász A L, Naidu R. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, **2000**, 45(1): 57–88
- 2 Vasiluk L, Pinto L J, Tsang W S, Gobas F A P C, Eickhoff C, Moore M M. *Food Chem. Toxicol.*, **2008**, 46(2): 610–618
- 3 Nebert D W, Dalton T P, Okey A B, Gonzalez F J. *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279(23): 23847–23850
- 4 Marie-Desvergne C, Maître A, Bouchard M, Ravanat J L, Viau C. *Chem. Res. Toxicol.*, **2010**, 23(7): 1207–1214
- 5 SHI Qiao-Qiao, XI Jun, LU Qi-Yu. *Science and Technology of Food Industry*, **2014**, 35(5): 379–381
史巧巧, 席俊, 陆启玉. *食品工业科技*, **2014**, 35(5): 379–381
- 6 Qiu C, Peng B, Cheng S, Xia Y, Tu B. *Am. J. Ind. Med.*, **2013**, 56(3): 347–355
- 7 Barbeau D, Maître A, Marques M. *Analyst*, **2011**, 136(6): 1183–1191
- 8 Yao L, Yang J, Liu B, Zheng S, Wang W, Zhu X, Qian X. *Anal. Methods*, **2014**, 6(16): 6488–6493
- 9 Zhang X, Hou H, Xiong W, Hu Q. *J. Anal. Methods Chem.*, **2015**: Article ID 514320
- 10 Luo K, Gao Q, Hu J. *J. Chromatogr. A*, **2015**, 1379: 51–55
- 11 Romanoff L C, Li Z, Young K J, Blakely N C, Patterson D G, Sandau C D. *J. Chromatogr. B*, **2006**, 835(1): 47–54
- 12 Zhou L, Hu Y, Li G. *Anal. Chem.*, **2016**, 88(13): 6930–6938
- 13 Xu S N, Zhao Q, He H B, Yuan B F, Feng Y Q, Yu Q W. *Anal. Methods*, **2014**, 6(17): 7046–7053
- 14 WEN Hai-Bin, HU Yu-Ling, LI Gong-Ke. *Journal of Instrumental Analysis*, **2017**, 36(10): 1214–1218
温海滨, 胡玉玲, 李攻科. *分析测试学报*, **2017**, 36(10): 1214–1218
- 15 Zhang H, Lu H, Huang H, Liu J, Fang X, Yuan B F, Feng Y Q, Chen H. *Anal. Chim. Acta*, **2016**, 926: 72–78
- 16 Barbeau D, Persoons R, Marques M, Hervé C, Laffitte-Rigaud G, Maitre A. *Ann. Occup. Hyg.*, **2014**, 58(5): 579–590
- 17 Gendre C, Lafontaine M, Morele Y, Payan J P. *Polycyclic Aromat. Compd.*, **2002**, 22(3): 761–769
- 18 Hu H, Liu B, Yang J, Lin Z, Gan W. *J. Chromatogr. B*, **2016**, 1027: 200–206
- 19 Rossbach B, Preuss R, Letzel S, Drexler H, Angerer J. *Int. Arch. Occ. Env. Hea.*, **2007**, 81(2): 221–229
- 20 Gao Q, Luo D, Bai M, Chen Z W, Feng Y Q. *J. Agric. Food Chem.*, **2011**, 59(16): 8543–8549
- 21 Chen D, Zheng H-B, Huang Y Q, Hu Y N, Yu Q W, Yuan B F, Feng Y Q. *Analyst*, **2015**, 140(16): 5662–5670
- 22 Bataineh M, Lübcke-von Varel U, Hayen H, Brack W. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2010**, 21(6): 1016–1027
- 23 Yang S, Ding J, Zheng J, Hu B, Li J, Chen H, Zhou Z, Qiao X. *Anal. Chem.*, **2009**, 81(7): 2426–2436

Rapid Quantification Analysis of 3-hydroxybenzo[a]pyrene in Human Urine Using Magnetic Solid-phase Extraction Combined with Internal Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry

LIU Jian-Chuan¹, ZHANG Hua^{1,2}, HUANG Hai-Chun¹, SHEN You-Qi¹, WANG Ya-Nan¹, ZHANG Xiao-Ping^{*1}

¹(*Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation, East China University of Technology, Nanchang 330013, China*)

²(*State Key Laboratory of Inorganic Synthesis and Preparative Chemistry, College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130012, China*)

Abstract Rapid and efficient strategy for detection of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) metabolites in human urine is urgently demanded in evaluation of internal exposure of PAHs. In this study, the combination of magnetic solid-phase extraction and internal extractive electrospray ionization mass spectrometry was used to rapid and high-throughput quantification of 3-hydroxybenzopyrene (3-OHBP) in undiluted human urine samples. Polypyrrole-coated Fe₃O₄ magnetite (termed as Fe₃O₄@Ppy) was employed as the sorbent for MSPE of urinary 3-OHBP in undiluted human urine samples, and then the material was treated as a bulk sample, which was directly analyzed by internal extractive electrospray ionization mass spectrometry (iEESI-MS). The signal intensity of m/z 239 was linearly related with 3-OHBP concentration over the range of 0.0005–2.50 μg/L ($R^2=0.9989$). The limit of detection (LOD) of 3-OHBP in undiluted urine sample was 0.1 ng/L ($S/N=3$). The relative standard deviations (RSDs) for six replicate measurements of 3-OHBP concentration were below 8.0%. The concentration of 3-OHBP in urine of smoking volunteers was significantly higher than that of non-smoking volunteers. Remarkable sensitivity of urinary 3-OHBP detection was provided by the proposed method, showing the potential application in evaluation of trace level internal dose of PAHs exposure of human beings.

Keywords Magnetic solid-phase extraction; Internal extractive electrospray ionization mass spectrometry; Polycyclic aromatic hydrocarbons; 3-Hydroxybenzo[a]pyrene; Health risk assessment

(Received 2 April 2018; accepted 26 December 2018)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21605016, 21605017), the Science and Technology Planning Project at the Ministry of Science and Technology of Jiangxi Province (No. 20151BBG70038) and the Research Fund of East China University of Technology (No. DHBK2016131).