

二次电喷雾离子源气体氛围对背景信号的影响

李雪¹, 罗鑫¹, 王慧玲¹, 汤志峰^{1,2}

(1.暨南大学质谱仪器与大气环境研究所, 广州 510632; 2.广东智普生命科技有限公司, 广东 东莞 523830)

摘要: 二次电喷雾电离质谱能够实时在线检测人体呼出气中的挥发性有机化合物, 但其电离效率受源内气体氛围影响。本研究在自制 SESI 源的基础上, 采用超高分辨质谱作为分析技术, 以人体呼出气中的典型内源性化合物丙酮和吡啶, 以及典型基质邻苯二甲酸酐和邻苯二甲酸二丁酯为目标化合物, 初步探究了不同气体氛围 (氮气、二氧化碳、纯净零气) 对 VOCs 电离效率的影响。结果显示, 通入三种纯净气体可有效提高丙酮和吡啶的信号强度和信噪比, 并显著减弱基质干扰, 其中以氮气的效果最为显著。这些研究结果为 SESI 源设计及参数设置、呼出气分析方法开发提供了重要依据。

关键词: 二次电喷雾离子源; 氛围气体; 背景信号; 基质干扰

1 技术背景

二次电喷雾电离质谱 (Secondary electrospray ionization mass spectrometry, SESI-MS) 可实时在线检测人体呼出气中挥发性化学成分 (Volatile organic compounds, VOCs)^[1], 具有无损、实时、无需样品前处理、高通量等优势, 已成功用于人体生物钟^[2]、诊断肺部疾病^[3]、检测人体呼出气中内源性代谢物 (如色氨酸)^[4]等生物医学研究中。SESI 源工作原理为: 在常温常压环境中, 呼气中的中性分子被电喷雾产生的初级离子电离生成分子离子^[2, 5-7] (图 1)。SESI 技术的雏形, 即电喷雾形成带电微滴电离气相分子的概念, 由 Fenn 等于 1989 年首次提出^[8]; 2000 年, Wu 和 Hill 将这种电离技术命名为 SESI^[9]。目前, 文献中报道的 SESI 源, 都是自制 SESI 源, 直至 2018 年才有一款商品化 SESI 源在展会中出现^[10]。SESI 源易于自组建, 且可与多种商业质谱接口耦合^[11-13]。从质量分析器的角度, 以超高分辨质谱 (High resolution mass spectrometer, HRMS) 与 SESI 源结合, 优势最显著。采用 HRMS, 根据准确质量数, 能提高定性分析的准确性, 有效区分同重素^[14]。由于自制 SESI 源不完全封闭, 室内空气会进入源内, 与呼出气中待分析的目标化合物 (如丙酮、吡啶) 竞争初级 ESI 电喷雾形成的微液滴上的有限电荷, 降低目标物的电离效率及检出灵敏度; 而且, 对于同时存在于呼出气与室内空气中的 VOCs, 也会降低目标化合物的信噪比。在 SESI 源内通入不含

VOCs 的纯净气体，通过降低源内基质浓度，或可解决上述问题。但目前尚没有 SESI 源内纯净气体氛围对呼出 VOCs 以及基质的电离效率的影响研究。本研究利用自行搭建的 SESI 源，以呼出气中典型内源性代谢物丙酮（Acetone）^[12]和吲哚（Indole）^[11]，以及室内空气中典型 VOCs 邻苯二甲酸酐（Phthalic anhydride, PA）^[15]和邻苯二甲酸二丁酯（Dibutyl phthalate, DP）^[16]为目标化合物，以 HRMS 为检测手段，探究源内不同纯净气体氛围（氮气（N₂）、二氧化碳（CO₂）、纯净零级空气（Zero air，包含：79 % N₂，21 % O₂，<1 ppmv 烷烃类物质））对 SESI 源电离不同来源 VOCs 的影响，为优化离子源设计及参数设置、提高呼出气中 VOCs 检测信噪比提供了依据。

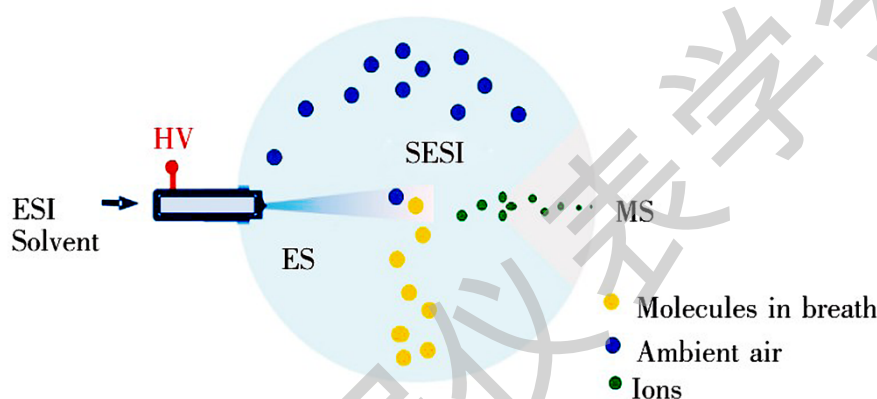


图 1 二次电喷雾电离质谱工作原理图

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Q Exactive™ 四极杆组合静电场轨道阱傅里叶变换超高分辨质谱仪（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；自制 SESI 源是将 nano ESI 商品源与自制质谱接口组合而成（图 2）：nano ESI 源（美国 Thermo Fisher Scientific 公司），自制质谱接口（广州禾信仪器股份有限公司定制），包括一个离子化反应腔和两个进样管（图 2A），均为不锈钢材质，目的在于减少呼出 VOCs 的吸附，同时，进样管与腔体为可拆卸设计，便于定期清理；Milli-Q Integral 5 超纯水仪（密理博中国有限公司）；AJH-3080A 零气发生器（北京安捷华科技有限公司）。标准校正液（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；甲醇（色谱级，纯度 99.9 %，美国默克公司）。N₂ 标准气体（纯度 99.999 %，佛山市佛钢气体有限公司）；CO₂ 标准气体（纯度 99.99 %，广州市粤佳气体有限公司）。医疗呼吸气体干燥（Nafion）管（内径 1.32 mm，长度 60 cm，ME60 系列，美国博纯有限责任公司）；特氟龙（PTFE）管（内径 4 mm，上海

毕帝塑料公司)；聚氨酯 (Polyurethane, PU) 管 (内径 2 mm, 上海毕帝塑料公司)。1 mL 移液枪头 (德国 Eppendorf 公司)。质量流量控制器 (量程 0 ~ 1 L/min, 韩国 Line Tech 公司)；Lzb-3 微型玻璃转子流量计 (量程 0 ~ 0.6 L/min, 浙江余姚工业自动化仪表厂)。

2.2 样品采集

人体呼出气采样流程参见文献^[6], 即志愿者 (2 名, 25 岁和 29 岁, 女性) 通过鼻吸、嘴呼的方式提供呼出气样品。采样前, 志愿者用纯水漱口, 并在实验室内静坐 30 min。采集呼气时, 志愿者先深呼吸 3 次, 再采集全呼气^[17, 18], 一次性呼气吹嘴由 1 mL 移液枪头改制而成。样品传输管路包括: Nafion 管、PTFE 管和 Lzb-3 微型玻璃转子流量计。Nafion 管用于去除呼出气中的水汽, 避免水汽冷凝在 PTFE 管内壁、吸附 VOCs^[6]; PTFE 管可减少 VOCs 吸附损失; Lzb-3 微型玻璃转子流量计用于控制呼出气流速。还需说明的是, ID = 1.32 mm 的 Nafion 管所允许的最大气体流量为 0.4 L/min, 所以单次采样时, 呼气流速控制为 0.4 L/min。每个实验条件下, 每位志愿者重复呼气 5 ~ 6 次。

2.3 仪器设置及数据分析

SESI-HRMS 实时在线检测呼出气装置如图 2B 所示。SESI 源有两个进样口: 呼出气样品的进样口和纯净气体的进样口 (未通入纯净气体时, 源内氛围气体为室内空气) (图 2A)。ESI 溶剂为超纯水 (电阻率 18.2 MΩ·cm), 流速 200 nL/min。ESI 电压为 +2.5 kV (正离子检测模式) / -2.5 kV (负离子检测模式), 质谱接口离子传输管温度为 150 °C。检测模式: 正负离子切换扫描 (切换时间 0.01 s); 全扫描, 质量数范围 m/z 50 ~ 300, 质谱质量分辨率为 140000 FWHM (m/z 200)。

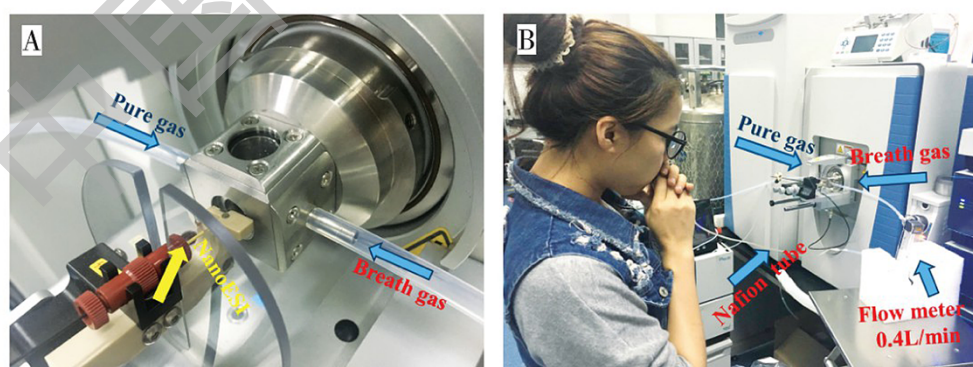


图 2 (A) 自制 SESI 源接口; (B) SESI-UHRMS 实时在线检测人体呼出气实验演示图

通过软件 Xcalibur 3.0 确定目标化合物以及质量偏差。通过软件 Origin 9.0 中“Statistics”功能的“Descriptive Statistics”，“Normality Test”判断原始数据是否服从正态分布；并通过“Homogeneity of Variance Test”，“Levene's Test”进行方差齐性分析，用 One-way ANOVA 方法,进行差异性分析,通过均值比较（Means comparison）中的多重比较方法（Tukey's multiple means comparison test）进行组内差异性对比分析。

3 结果与讨论

3.1 定性分析结果

以 N_2 氛围下 SESI-HRMS 实时在线检测人体呼出气的结果为例，根据目标化合物的分子结构特征和质子亲和力^[19, 20]，结合 SESI 源电离机理^[14, 21, 22]，可知丙酮、吡啶、PA 和 DP 均会形成质子化分子离子 $[M+H]^+$ 。在志愿者呼气样品实时监测过程中，在 m/z 59.0499、118.0651、149.0230 和 279.1582 处分别检测到质谱峰（图 3），元素组成鉴别为 $[C_3H_7O]^+$ 、 $[C_8H_8N]^+$ 、 $[C_8H_5O_3]^+$ 和 $[C_{16}H_{23}O_4]^+$ ，质量偏差（实测值与理论值的差值）为 0.8、0.0、0.3 和 0.9 mDa，可确定上述质谱峰即为呼出气中丙酮、吡啶及室内空气中 PA 和 DP 的质子化分子离子。

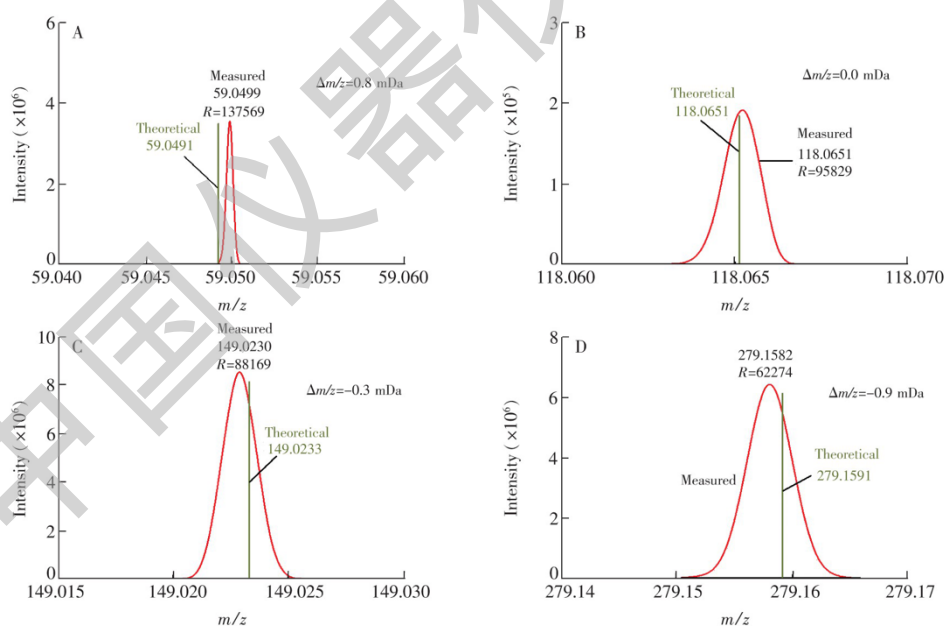


图 3 呼出气中 (A) 丙酮、(B) 吡啶以及室内空气中 (C) 邻苯二甲酸酐、(D) 邻苯二甲酸二丁酯的 SESI-HRMS 谱图

3.2 SESI 源内气体氛围对呼出 VOCs 的影响

本研究选择 N_2 、 CO_2 、Zero air 作为考察的纯净气体，主要基于如下原因：（1）3 种气体理化性质相对稳定，且都是呼出气中的成分（按体积比计算，呼出气包含：78.14 % N_2 ，

13.6 % ~ 16 % O₂, 4.0% ~ 5.3 % CO₂, 5 %水汽, 1 ppmv VOCs, 1 ppmv 氨气) ; (2) 不易爆炸, 相对安全; (3) 是实验室常用标准气体, 易于获取。当源内气体氛围为 N₂, 充入流速分别为 0.1 和 0.8 L/min 时, 丙酮检出强度增加约 9 倍, 信噪比 (S/N) 提高约 2 倍 (表 1), 吡啶信号强度增加约 6 倍 (表 1)。值得注意的是, 对比 SESI 源内未通入 N₂ 与 N₂ 通入流速为 0.1L/min 时呼出气的检测结果, 发现丙酮信号没有显著差别, 而吡啶的信号增强约 2 倍, 且信号重现性 (RSD) 得到改善, RSD 由 55 %减小为 10 %。

表 1 SESI 源内不同气体氛围条件下 SESI-HRMS 检测呼出气中丙酮及吡啶的结果 (n = 5 ~ 6)

呼出气 VOCs	气体氛围	流速 (Q/L*min ⁻¹)	强度均值 (AVE/a.u.)	强度偏差 (SD/a.u.)	相对偏差 (RSD/%)	信噪比 (S/N)
丙酮	室内空气	0	2.4 × 10 ⁵	2.2 × 10 ⁴	9	1.6
	N ₂	0.1	2.3 × 10 ⁵	1.1 × 10 ⁴	5	1.6
		0.8	2.2 × 10 ⁶	2.7 × 10 ⁵	12	3.7
	CO ₂	0.1	3.9 × 10 ⁵	5.0 × 10 ⁴	13	3.2
		0.8	8.6 × 10 ⁵	1.2 × 10 ⁵	13	2.3
	零空气	0.1	2.6 × 10 ⁵	3.0 × 10 ⁴	12	1.4
		0.8	3.1 × 10 ⁶	3.4 × 10 ⁵	11	3.7
吡啶	室内空气	0	1.2 × 10 ⁴	3.9 × 10 ³	55	/
	N ₂	0.1	3.4 × 10 ⁴	3.2 × 10 ³	10	/
		0.8	2.4 × 10 ⁵	4.2 × 10 ³	18	/
	CO ₂	0.1	1.2 × 10 ⁴	4.2 × 10 ³	37	/
		0.8	6.1 × 10 ⁴	2.6 × 10 ⁴	42	/
	零空气	0.1	1.2 × 10 ⁵	5.4 × 10 ³	44	/
		0.8	1.2 × 10 ⁵	5.3 × 10 ⁴	44	/

与 N₂ 结果相似 (表 1, 图 4), CO₂ 氛围下, 当充入流速为 0.8 L/min 时, 相比于 0.1 L/min, 丙酮和吡啶的信号强度分别提高约 1 倍和 4 倍; 对于 Zero air, 当充入流速为 0.8 L/min 时, 相比于 0.1 L/min, 丙酮和吡啶的信号强度分别提高约 11 倍和 9 倍。对比未通入 CO₂、Zero air 与 0.1 L/min 的 CO₂、Zero air 氛围下呼出气的检测结果, 发现丙酮和吡啶的信号均没有

显著差别, 且在这两种氛围气体下, 呼出气中吡啶信号的重现性未得到显著改善。综上, 当以 0.8 L/min 的流速向源内充入 N_2 、 CO_2 和 Zero air 时, 呼出气中吡啶及丙酮的检出强度均明显提高 (图 4)。

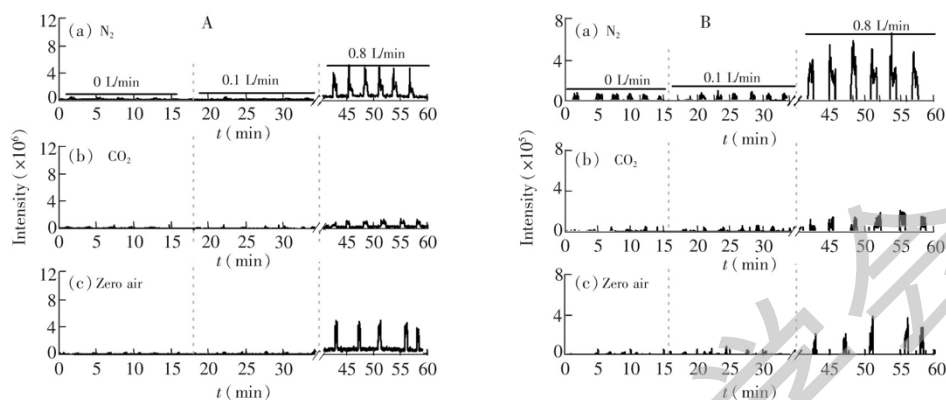


图 4 SESI 源中未通入以及通入 0.1 和 0.8 L/min N_2 、 CO_2 、Zero air 时,SESI-HRMS 检测到的呼出气中 (A) 丙酮和 (B) 吡啶的提取离子流谱图; 每个试验条件下, 重复进样 5~6 次

在纯净气体充入流速均为 0.8 L/min 的条件下, 对呼出气中丙酮及吡啶的检出信号强度进行正态分布检验及方差齐性检验, 结果满足单因素方差分析 (ANOVA analysis) 的条件。ANOVA 结果 (图 5) 表明, 当显著性水平为 0.05 时, 丙酮 (Prob > F: 1.0×10^{-8} ; F Value 89.8) 及吡啶 (Prob > F: 3.7×10^{-5} ; F Value 23.1) 在 N_2 、 CO_2 、Zero air 气体氛围下的检出强度均存在显著性差异。丙酮在 Zero air 氛围下的强度均值略高于 N_2 氛围下的结果, CO_2 氛围下最低; 吡啶在 N_2 氛围下的信号强度高于 Zero air 和 CO_2 氛围下的结果。进一步对比 3 种纯净气体氛围两两之间的差异性, 多重比较分析结果 (图 6) 表明, 在显著性水平为 0.05 时, 呼出气中丙酮的信号在 N_2 与 CO_2 之间 (Prob: 2.4×10^{-6} , Sig=1)、 CO_2 与 Zero air 之间 (Prob: 0, Sig=1) 及 N_2 和 Zero air 之间 (Prob: 3.3×10^{-4} , Sig=1) 均存在显著性差异; 呼出气中吡啶的信号在 N_2 与 CO_2 之间 (Prob: 2.9×10^{-5} , Sig=1)、 N_2 和 Zero air 之间 (Prob: 0.002, Sig=1) 均存在显著性差异, 而在 CO_2 与 Zero air 之间 (Prob: 0.1, Sig=0) 不存在显著差异。呼出气中丙酮及吡啶的信号在 N_2 和 Zero air 之间的差异显著性均最小, 推测主要是由于 Zero air 的主要成分为 N_2 (79%)。综上, 为提高 SESI-MS 检测呼气中内源性 VOCs 的灵敏度, 可在自制 SESI 源中通入 N_2 。

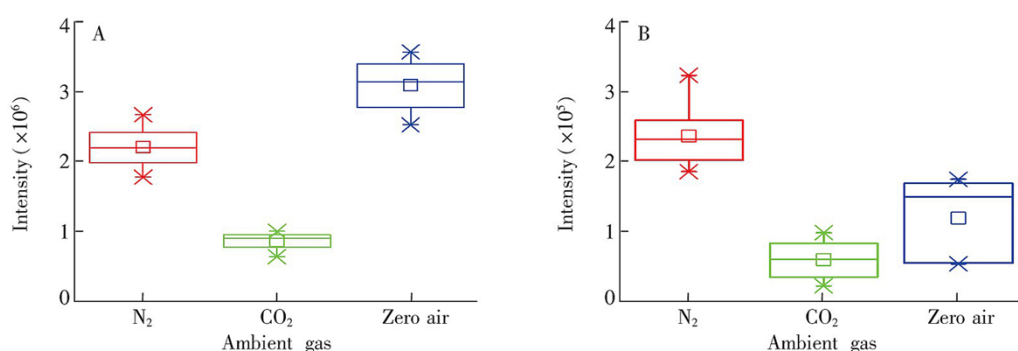


图 5 当通入 0.8 L/min 的 N₂、CO₂ 和 Zero air 时,呼出气中 (A) 丙酮和 (B) 咧噪信号强度的 ANOVA 分析结果 (n = 5 ~ 6)

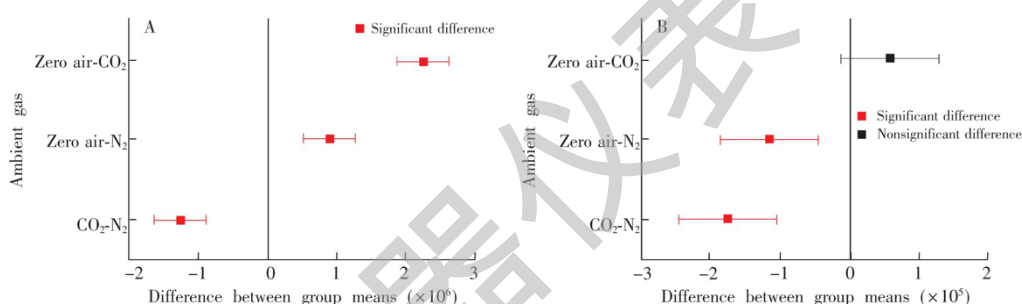


图 6 当通入 0.8 L/min 的 N₂、CO₂ 和 Zero air 时,呼出气中 (A) 丙酮和 (B) 咧噪信号强度的 Tukey's multiple means comparison test 分析结果 (n = 5 ~ 6)

3.3 SESI 源内气体氛围对基质的影响

以 N₂ 氛围为例,当通入气体流速分别为 0.1 和 0.8 L/min 时,即当充入 N₂ 流速提高 8 倍时,PA 和 DP 的信号强度分别减少约 0.6 和 0.1 倍(表 2)。此结果与 3.2 节中呼出气中 VOCs 的检出情况相反,推测可能是 SESI 源内纯净气体含量增加后,基质在源内含量降低,进而检出强度降低。此外, N₂ 通入流速为 0.1 L/min 时的结果与未通入 N₂ 的结果没有显著差别,表明此时源内 N₂ 含量还无法影响信号检出效果,此结论与呼出气中丙酮的检出结果一致(表 1 和表 2)。气体氛围为 CO₂ 和 Zero air 时,趋势与 N₂ 相似(表 2,图 7),当充入气体流速为 0.8 L/min 时,相比于 0.1 L/min 气体流速,PA 和 DP 的信号强度分别减少约 0.5 和 0.1 倍。

表 2 不同气体氛围条件下呼出气实时监测过程中 SESI-HRMS 检测室内背景值 PA、DP 的结果 (n = 5 ~ 6)

呼出气 VOCs	气体氛围	流速 (Q/L*min ⁻¹)	均值 (AVE/a.u.)	偏差 (SD/a.u.)	相对偏差 (RSD/%)	信噪比 (S/N)
邻苯二 甲酸酐 (PA)	室内空气	0	1.7×10^6	7.7×10^4	4	0.9
	N ₂	0.1	1.5×10^6	4.0×10^4	3	0.7
		0.8	9.3×10^5	4.5×10^4	5	1.0
	CO ₂	0.1	1.6×10^6	5.6×10^4	3	0.9
		0.8	1.1×10^6	3.0×10^4	3	1.0
	零空气	0.1	1.8×10^6	9.2×10^4	5	1.0
		0.8	1.3×10^6	2.9×10^4	2	1.1
	室内空气	0	8.3×10^6	4.2×10^5	4	0.9
	N ₂	0.1	7.6×10^6	2.2×10^5	3	0.7
		0.8	7.0×10^6	3.0×10^5	4	1.0
邻苯二 甲酸二 丁酯 (DP)	CO ₂	0.1	8.3×10^6	3.7×10^5	4	0.8
		0.8	7.7×10^6	1.8×10^5	2	1.0
	零空气	0.1	9.3×10^6	5.5×10^5	6	1.0
		0.8	9.1×10^6	3.4×10^5	4	1.3

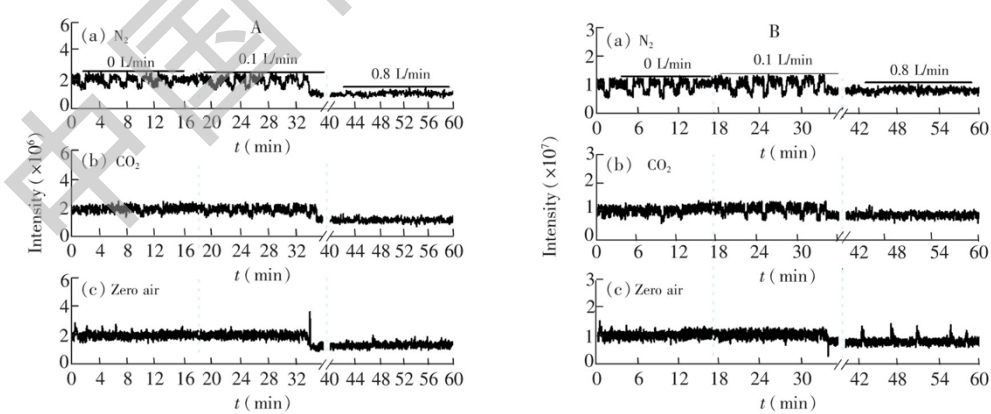


图 7 SESI 源中未通入以及通入 0.1 和 0.8 L/min N₂、CO₂、Zero air 时,呼出气分析过程中 SESI-HRMS 检出源内 (A) PA 和 (B) DP 的提取离子流色谱图 (n = 5 ~ 6)

值得注意的是，当实时检测呼气时，PA 和 DP 信号强度，在 N_2 、 CO_2 气体氛围中，呈降低趋势，而在 Zero air 氛围中出现进样峰，本研究组将会在后续工作中进一步探究这一现象。

在 3 种纯净气体通入流速为 0.8 L/min 的条件下，对 PA 和 DP 的信号强度原始数据进行正态分布检验及方差齐性检验，结果满足 ANOVA analysis 的条件。ANOVA 结果（图 8）表明，当显著性水平为 0.05 时，PA（Prob>F: 4.3×10^{-9} ；F Value 102.8）与 DP（Prob>F: 5.3×10^{-8} ；F Value 69.6）在 3 种气体氛围下检出信号稳定，且检出强度均存在显著性差异；并且，在 N_2 氛围下 PA 和 DP 的信号强度均低于 Zero air 和 CO_2 氛围下的结果，说明 N_2 氛围对降低背景基质干扰的影响最大。

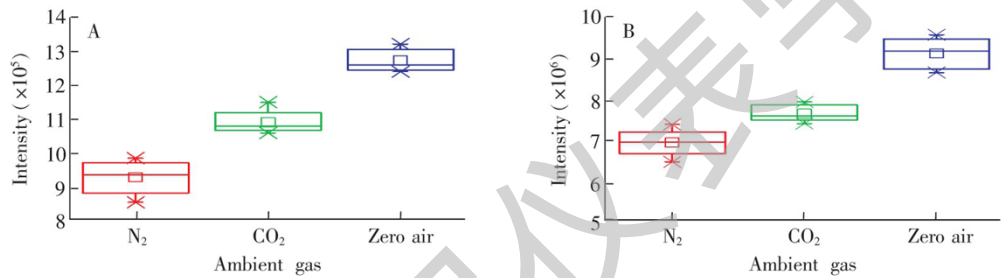


图 8 当通入 0.8 L/min 的 N_2 、 CO_2 和 Zero air 时，呼气气实时监测过程中，SESI 源内（A）PA 和（B）DP 信号强度的 ANOVA 分析结果（ $n = 5 \sim 6$ ）

进一步对比 0.8 L/min 流速下 3 种纯净气体氛围两两之间的差异性，结果（图 9）表明，在显著性水平为 0.05 时，基质 PA 的信号在 N_2 与 CO_2 之间（Prob: 1.5×10^{-5} , Sig=1）、 CO_2 与 Zero air 之间（Prob: 7.2×10^{-6} , Sig=1）以及 N_2 和 Zero air 之间（Prob: 0, Sig=1）均存在显著性差异；DP 的信号在 N_2 与 CO_2 之间（Prob: 0.004, Sig=1）、 N_2 和 Zero air 之间（Prob: 1.4×10^{-8} , Sig=1） CO_2 与 Zero air 之间（Prob: 4.6×10^{-6} , Sig=1）也均存在显著性差异。Zero air 是造成 PA 及 DP 信号强度差异显著的主要原因。上述结果说明， N_2 氛围对于降低基质 PA 及 DP 干扰的效果最好，而 Zero air 氛围的降干扰效果最差。

综上，自制 SESI 源内通入足够量的纯净 N_2 ，可以显著增强呼出气中丙酮及吡啶的信号强度，同时显著降低基质信号强度。此外，由于 N_2 为惰性气体，性质稳定，不会对呼气装置有影响，不易与其它物质发生反应，因此适宜作为 SESI-UHRMS 检测呼出气时的 SESI 源内的气体氛围。

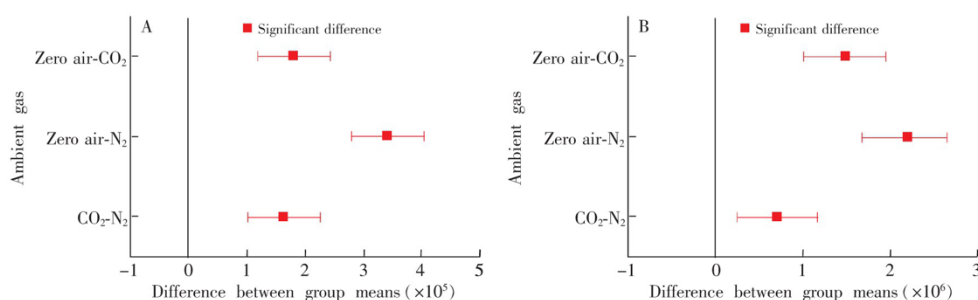


图9 当通入 0.8 L/min 的 N₂、CO₂ 和 Zero air 时,室内 (A) PA 和 (B) DP 信号强度的 Tukey's multiple means comparison test 分析结果 (n = 5 ~ 6)

4 结论

本研究结果表明,充入一定流速的纯净气体,可以增强提高呼出气中丙酮和吡啶的电离效率;同时,源内纯净气体含量增加后,能有效降低源内 PA 和 DA 含量,进而降低基质检出强度。3 种纯净气体氛围中,以 N₂ 对呼出气中丙酮和吡啶的增强效果以及对基质 PA 和 DA 的降低效果,最为显著。在后续研究中,还需以有效提高目标物的信噪比、降低基质干扰为目标,更系统、深入地探索气体氛围对呼出 VOCs 的影响机制,如通过加入不同气体体积比例 N₂ 和 O₂ 或 N₂ 和 CO₂ 混合气体,拓宽流速范围,以更好地理解气体氛围理化性质对电离效率的影响机制,为优化 SESI 源内气体氛围、研制 SESI 商品源、建立 SESI-MS 呼气检测方法提供理论依据。

参考文献:

- [1] Martinez-Lozano Sinues P, Kohler M, Zenobi R. Human breath analysis may support the existence of individual metabolic phenotypes[J]. PLoS ONE, 2013, 8(4): e59909.
- [2] Sinues P M-L, Kohler M, Zenobi R. Monitoring Diurnal Changes in Exhaled Human Breath[J]. Analytical Chemistry, 2012, 85(1): 369-373.
- [3] Bean H D, Zhu J, Sengle J C, et al. Identifying methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) lung infections in mice via breath analysis using secondary electrospray ionization-mass spectrometry (SESI-MS)[J]. Journal of Breath Research, 2014, 8(4): 041001.

- [4] García-Gómez D, Gaisl T, Bregy L, et al. Secondary electrospray ionization coupled to high-resolution mass spectrometry reveals tryptophan pathway metabolites in exhaled human breath[J]. *Chemical Communications*, 2016, 52(55): 8526-8528.
- [5] Vidal-de-Miguel G, Macía M, Pinacho P, et al. Low-Sample Flow Secondary Electrospray Ionization: Improving Vapor Ionization Efficiency[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(20): 8475-8479.
- [6] Li X, Huang D D, Du R, et al. Real-time Breath Analysis by Using Secondary Nanoelectrospray Ionization Coupled to High Resolution Mass Spectrometry[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2018, (133): e56465.
- [7] Bean H D, Zhu J, Hill J E. Characterizing Bacterial Volatiles using Secondary Electrospray Ionization Mass Spectrometry (SESI-MS)[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2011, (52): e2664.
- [8] Fenn J B, Mann M, Meng C K, et al. Electrospray Ionization for Mass Spectrometry of Large Biomolecules[J]. *Science*, 1989, 246(4926): 64-71.
- [9] Wu C, Siems W F, Hill H H. Secondary Electrospray Ionization Ion Mobility Spectrometry/Mass Spectrometry of Illicit Drugs[J]. *Analytical Chemistry*, 1999, 72(2): 396-403.
- [10] Singh K D, del Miguel G V, Gaugg M T, et al. Translating secondary electrospray ionization–high-resolution mass spectrometry to the clinical environment[J]. *Journal of Breath Research*, 2018, 12(2): 027113.
- [11] Gaugg M T, Gomez D G, Barrios-Collado C, et al. Expanding metabolite coverage of real-time breath analysis by coupling a universal secondary electrospray ionization source and high resolution mass spectrometry—a pilot study on tobacco smokers[J]. *Journal of Breath Research*, 2016, 10(1): 016010.
- [12] Bregy L, Müggler A R, Martinez-Lozano Sinues P, et al. Differentiation of oral bacteria in in vitro cultures and human saliva by secondary electrospray ionization - mass spectrometry[J]. *Scientific reports*, 2015, 5: 15163.
- [13] Bean H D, Mellors T R, Zhu J, et al. Profiling Aged Artisanal Cheddar Cheese Using Secondary Electrospray Ionization Mass Spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(17): 4386-4392.

- [14] Li X, Huang L, Zhu H, et al. Direct human breath analysis by secondary nano-electrospray ionization ultrahigh-resolution mass spectrometry: Importance of high mass resolution and mass accuracy[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2017, 31(3): 301-308.
- [15] Keller B O, Sui J, Young A B, et al. Interferences and contaminants encountered in modern mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 627(1): 71-81.
- [16] Maestre-Batlle D, Pena O M, Huff R D, et al. Dibutyl phthalate modulates phenotype of granulocytes in human blood in response to inflammatory stimuli[J]. *Toxicology Letters*, 2018, 296: 23-30.
- [17] Tirzite M, Bukovskis M, Strazda G, et al. Detection of lung cancer in exhaled breath with an electronic nose using support vector machine analysis[J]. *Journal of Breath Research*, 2017, 11(3): 036009.
- [18] Fu X-A, Li M, Knipp R J, et al. Noninvasive detection of lung cancer using exhaled breath[J]. *Cancer medicine*, 2014, 3(1): 174-181.
- [19] Zhao J, Zhang R. Proton transfer reaction rate constants between hydronium ion (H_3O^+) and volatile organic compounds[J]. *Atmospheric Environment*, 2004, 38(14): 2177-2185.
- [20] Szulejko J E, McMahon T B. Progress toward an absolute gas-phase proton affinity scale[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1993, 115(17): 7839-7848.
- [21] Martínez-Lozano P, de la Mora J F. Electrospray ionization of volatiles in breath[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2007, 265(1): 68-72.
- [22] Wu M-X, Wang H-Y, Zhang J-T, et al. Multifunctional Carbon Fiber Ionization Mass Spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(19): 9547-9553.