应用二次电喷雾质谱研究口鼻呼气的存在特征

李雪1, 王康毅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: 呼气样本可通过人体口呼或鼻呼采集,但口腔和鼻腔环境对样本组分产生影响,因此,探究两者的成分对于理解环境对呼气组分的影响以及选择合适的采样方式具有重要意义。实验采用二次电喷雾质谱技术实时分析呼气样品,建立了九种常见呼气特征物的定量分析方法。结果显示,这些物质的检出限在 2.3 至 240.8 ng/m³之间,日内和日间相对标准偏差分别为 0.6%至 4.6%和 4.3%至 12.2%。进一步分析发现,口呼气中特有组分数量是鼻呼气的 2.2 倍,且有 163 个组分在两者中同时存在,但其信号强度显著不同。结果表明,口呼气和鼻呼气的组分种类和数量存在显著差异,在呼气采样时应根据需要选择适宜的采样方式。 **关键词:** 二次电喷雾电离; 定量分析方法;口呼气;鼻呼气;特征组分

1 技术背景

人体呼气中含有大量挥发性有机物(volatile organic compounds, VOCs),包括通过血 气交换经肺部释放的组织代谢产物^[1]及环境暴露物质。呼气分析能够反映人体代谢过程和环 境暴露信息,对临床诊断和健康研究具有重要意义。样本可分为口呼气和鼻呼气,口呼样本 因采集便利而受到广泛研究。然而,口腔和鼻腔内物质会影响呼气成分,因此深入研究两者 的组分差异具有实用意义。

近期研究表明,口呼气与鼻呼气中的部分 VOCs 含量存在显著差异^[2, 3],但针对非靶标 分析的相关研究仍较少^[4]。相较于传统的气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)离线分析技术,实时在线质谱技术如二次电喷雾电离质谱(secondary electrospray ionization-mass spectrometry, SESI-MS)能够有效减少样品损失,并适合检测复 杂的痕量有机组分^[5, 6]。本研究采用 SESI 与高分辨质谱(high resolution mass spectrometry, HRMS)技术,针对 9 种典型 VOCs 进行定量分析,探讨口呼气与鼻呼气组分差异,以为不 同应用场景选择合适的采样方式提供依据。



图 1 二次电喷雾电离高分辨质谱(SESI-HRMS)实时在线分析气态样品的工作原理示意图

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(美国赛默飞公司); Luna-3000 SESI 离子源(广东智普生命科技有限公司); Model 2010 气体稀释校准仪(美 国 Sabio 公司); D07-19 质量流量控制器(Mass flow controller (MFC)量程 5 L/min,北京 七星华创流量计有限公司); Gilian Gilibrator 2 皂泡流量计(美国 Sensidyne 公司)。混合 标准气体(组分: 2-丁酮, 2-戊酮,乙酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲苯,苯乙烯,均三甲苯, 异戊二烯,柠檬烯,纯度≥98%,大连大特气体有限公司); N₂标准气体(纯度≥99.999%, 广州广气气体有限公司); 标准校正液(美国赛默飞公司); 0.1%甲酸溶液(液相色谱级, 德国默克公司)。石英毛细管喷针(内径 20 µm 和 50 µm,西班牙 Fossiliontech 公司); 口、 鼻呼气采样接头(广东智普生命科技有限公司); KQB2T08-00 金属 T 型快插接头(日本 SMC 公司); 不锈钢二通球阀(内径 6 mm,北京熊川阀门制造有限公司); 特氟龙管(内 径 6 mm, 泰州纯仕新材料有限公司); 特氟龙碳纤维加热带(70 ℃,230 W,淄博星恒电 器科技有限公司)。

2.2 九种典型 VOCs 定量分析方法的建立

本研究基于9种具有应用价值的挥发性有机物(VOCs)建立定量分析方法。2-丁酮和 2-戊酮被认为是肺癌的潜在生物标志物^[7],乙酸乙酯是硅肺的潜在生物标志物^[8],异戊二烯 和柠檬烯分别反映急性组织损伤^[9]和肝脏代谢情况^[10],而甲基丙烯酸甲酯及三种苯系物则是 环境暴露的重要指标^[11-13]。依据人体呼气中9种典型 VOCs 的浓度范围^[11, 14, 15],设定了14 个标准气体浓度梯度(见表1)。

皮旦	化合物	浓度范围	实验设置浓度梯度值
戶亏		$c/(\mu g/m^3)$	$c/(\mu g/m^3)$
1	2-丁酮	1.5~14.7	0.0, 0.6, 1.2, 1.8, 2.4, 3.6, 6.0, 11.5,
			17.3、23.1、28.8、34.6、46.1、57.6
2	2 戊酮	0.35~7.4	0.0, 0.7, 1.5, 2.2, 2.9, 4.4, 7.3, 13.6,
	2-)人间		20.4、27.3、34.1、40.9、54.5、68.1
3	乙酸乙酯	0.6~33.9	0.0、0.7、1.5、2.2、2.9、4.4、7.3、14.0、
			21.1、28.1、35.1、42.1、56.2、70.2
4	甲基丙烯酸甲	0.2	0.0、0.9、1.7、2.6、3.4、5.1、8.5、15.8、
	西日	9.3	23.7、31.5、39.4、47.3、63.1、78.9
5	□ +!	1.1~32.4	0.0, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4.8, 8.0, 14.6,
	甲本		21.9、29.2、36.5、43.7、58.3、72.9
r.	苯乙烯	0.9~19.2	0.0, 0.9, 1.8, 2.7, 3.6, 5.4, 8.9, 25.0,
6			33.4、41.7、50.1、66.8、83.5
	内一口井	1.4	0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 10.0, 19.3,
1	<u> </u>		29.0、38.7、48.4、58.0、77.4、96.7
		33.4~1610.0	0.0、0.6、1.2、1.7、2.3、3.5、5.8、11.3、
8	异戊二烯		17.0、22.7、28.4、34.0、45.4、56.7
9			0.0、1.2、2.3、3.5、4.6、6.9、11.5、21.7、
	行稼烯	1.5~41.3	32.6、43.4、54.3、65.1、86.8、108.5

表1 文献报道的9种 VOCs 在人体呼出气中的浓度范围及实验设置浓度梯度值

实验装置见图 2 所示,选择低、高浓度的混合标准气体,通过高纯 № 稀释至目标浓度。 使用特氟龙管连接气体稀释校准仪、高纯 № 钢瓶和混合标准气体钢瓶,用 MFC-2 将出气流 速设置为 1.9 L/min,并按浓度梯度顺序逐步改变配气程序。14 个浓度的标准气体样品经过 加热至 70 °C 的呼气采样装置,再经 SESI 电离后进入质谱分析,每个梯度进样时间为 3~5 分钟。为提高电离效率、降低环境空气影响,实验使用 № 作为离子源电离腔内的氛围气^[16], 并通过特氟龙管连接废气管道以防标准气体泄漏至实验环境中。

基于标准曲线选择适宜浓度,对9种 VOCs的日内(n=6)和日间(n=18)相对标准偏差(RSD)进行了测定,以评估方法的稳定性。





选择9名(5名男性,4名女性,年龄23~28岁)无吸烟史的健康受试者提供呼气样本。 有研究表明,受试者体位的改变将引起人体血流动力学和肺部通气与血流灌注比值发生变 化,进而导致呼气 VOCs浓度发生变化^[17],因此,本研究要求所有受试者均采用静坐的方 式采集呼气样品。为减少呼气吹嘴材质对呼气组分的影响,采用同种材料制成的鼻呼气和口 呼气采样吹嘴,接于 MFC-1 前端的特氟龙管上,以便采集受试者的鼻呼气和口呼气样本。 对进样管路加热至 70°C,以防止呼气内的水蒸汽冷凝在管壁上。为保证呼气数据的有效性, 受试者按照以下标准程序提供呼出气样品:(1)在呼出气测试前 lh 内,不进行高强度体育 运动,不进食,不喝饮料(水除外),不刷牙,不嚼口香糖,不涂唇膏或口红,不喷香水等 ^[5];(2)在开始采样前采用纯净水漱口 3 次,再提供呼出气样品;(3)对每位受试者重复 采集呼气 6 次,每次呼气间隔约 15s。本研究已得到暨南大学附属医学伦理委员会的批准, 受试者均签署知情同意书。

2.4 参数设置及数据处理

SESI 源在密封溶液瓶施加 0.146 MPa 压力,并对 ESI 溶液加高压电,0.1%(v:v)甲酸 溶液通过内径为 50 μm 的石英毛细管并转接至内径为 20 μm 的石英毛细管喷针稳定释放电 喷雾。质谱端控制的加压气体流量设置为 50 arb,提供 ESI 溶液瓶内的高气压;离子传输管 温度设置为 275 °C;喷雾电压设置为+3.5 kV(正离子模式)和-3.5 kV(负离子模式);扫 描方式为全扫描,质量范围为 m/z 60~500;分辨率为 140000。

数据处理采用 Igor 6.3.7.2 软件计算 9 种 VOCs 被质谱检测的平均响应强度及标准偏差, Origin 2017 软件用于绘制图形以及计算灵敏度(Sensitivity, S)和相关系数(R²)。LOD 和定量限(Limit of quantitation, LOQ)分别按照(3×σ)/S和(10×σ)/S原则进行计算,其中, σ代表空白样本中各 VOCs 分子离子信号峰处的仪器背景嗓音的标准偏差^[18]。利用软件 MS Convert^[19]将原始质谱数据文件格式".Raw"转换为".MZ xml",再采用 Python 程序 Breath Finder (https://github.com/WanyangSun/BreathFinder)提取质谱数据,将响应强度≥1×10⁵ a.u. 的离子对应的 m/z、扫描时间点及该时间点的响应强度三类数据形成数据矩阵,再将其导入 MATLAB(R2020a),采用 Cluster gram 算法进行层次聚类分析,识别离子响应信号强度随 呼气进样上升的成分。误差校正工具 NEAPOLIS(http://bioinformatica.isa.cnr.it/NEAPOLIS/) 设置出现频数≥4 的成分才能被提取,并将质量偏差在 2 ppm 以内韵呼气成分认定为同一成 分。利用网上在线绘制工具 Evenn 绘制 Venn 图^[20],并采用 Metabo Analyst 5.0^[21]对口呼气 与鼻呼气组分进行火山分析,以差异倍数(Fold change, FC)>1.5、p<0.05 作为统计分析参 数,筛选口呼气与鼻呼气中存在显著性差异的成分,采用入类代谢组学数据库^[22](Human metabolome database, HMDB)进行初步定性分析,并采用自编 MATLAB 算法以质量偏差 最小为规则确定该成分对应的化合物分子式及其离子加合方式。

3 结果与讨论

3.1 定量分析方法测定结果

9种 VOCs 的线性范围、标准曲线方程、LOD 和 LOQ 如表 2 所示。9种 VOCs 信号强 度和浓度的线性回归方程的 R²为 0.990~1.000, LOD 在 2.3 ng/m³ (2-戊酮)~240.8 ng/m³(甲 苯)之间。与常见的呼气直接质谱技术 PTR-MS 和 SIFT-MS 相比^[23,24](电子版文后支持信 息表 S3), SESI-HRMS 的 LOD 均低于两者,其中,对于 2-丁酮,SESI-HRMS 的 LOD 均 低于 PTR-MS 和 SIFT-MS 约 2 个数量级;对于乙酸乙酯,SESI-HRMS 分别低于两者 2 个和 3 个数量级。从检测范围来看,SESI-HRMS 对 9种 VOCs 的 LOD 均低于人体呼气浓度下限 (见表 1),对 2-丁酮、2-戊酮、乙酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯和均三甲苯的线性范围上限均 高于人体呼气浓度上限报道值,表明利用此装置和方法定量分析呼气中 9种 VOCs 具有可行 性。

一天内在同一体积浓度下通过 6 次重复检测评估日内变化。9 种 VOCs 的日内 RSD 在 0.6%(柠檬烯)~4.6%(甲苯)之间,低于 5%。此外,通过连续 3d 的重复检测,对日间变 化情况进行评估,日间 RSD 在 4.3%(异戊二烯)~12.2%(柠檬烯)之间,低于 15%。以上

结果与文献^[25]的结果相当(电子版文后支持信息表 S4),表明本方法具有良好的重现性和 稳定性。

表 2 SESI-HRMS 检测 9 种 VOCs 的线性范围、标准曲线方程、相关系数、LOD 和 LOQ

序	小人的	线性范围	标准曲线方	相关系	检出限	定量限
号	化合物	$(\mu g/m^3)$	程	数 (R ²)	(ng/m^3)	(ng/m^3)
			y = 1.88 ×			
1	2-丁酮	0.6~17.3	$10^7 + 1.04 \times$	0.990	2.9	9.7
			107			177
			y = 1.71 ×			. 1/7
2	2-戊酮	0.7~40.9	$10^{7} + 1.13 \times$	0.993	2.3	7.5
			107		,7//	Κ
	フェンフ		$y = 9.78 \times$			
3	ム敗ム	0.7~56.2	$10^6 + 5.84 \times$	0.992	6.4	21.3
	四百		10 ⁶			
	甲基丙		y = 1.76 ×	T		
4	烯酸甲	0.9~47.3	$10^{7} + 9.80 \times$	0.990	3.7	12.4
	西皆		106			
		N	y = 1.21 ×			
5	甲苯	1.6~8.0	$10^{5} + 6.09 \times$	0.994	240.8	802.5
			10^{4}			
			$y = 5.49 \times$			
6	苯乙烯	0.9~50.1	$10^5 + 6.95 \times$	0.991	162.3	541.0
			10 ⁵			
	杓二田		$y = 3.50 \times$			
7	₩ <u></u> 丁	1.0~48.4	$10^6 + 3.42 \times$	0.992	10.8	36.0
	4		10 ⁶			
	豆戊一		$y = 6.16 \times$			
8	开风一	0.6~11.3	$10^5 + 5.86 \times$	0.993	119.2	397.3
	네저		_			

			$y = 5.18 \times$			
9	柠檬烯	1.2~11.5	$10^6 + 1.58 \times$	1.000	52.5	175.1
			106			

3.2 口呼气与鼻呼气组分分析

口呼气与鼻呼气中 9 种 VOCs 的定量分析结果表明,仅在一位受试者的口呼气和鼻呼气中检测出柠檬烯,浓度分别为 0.8 和 0.2 µg/m³,其余受试者口呼气或鼻呼气中 9 种 VOCs 的浓度均未达到 LOQ。利用 Venn 图初步分析口呼气和鼻呼气组分的差异,结果如图 3 所示。 人体口呼气与鼻呼气组分被检测到的共同存在成分数量为 565 个(正离子模式 395 个(图 3A),负离子模式 170 个(图 3B))。口呼气特有成分数量 167 个(正离子模式 112 个(图 3A),负离子模式 55 个(图 3B)),鼻呼气特有成分数量 76 个(正离子模式 34 个(图 3A),负离子模式 42 个(图 3B)),前者是后者的 2.2 倍。无论在正离子还是负离子电离模式下,口呼气内特有成分数量均高于鼻呼气,推测是口腔环境中的细菌或食物残渣、唾液也会释放 VOCs^[26, 27],导致口呼气中 VOCs 组成更复杂。



图 3 (A) 正离子模式下和(B) 负离子模式下口呼气与鼻呼气检出组分(m/z) 的 Venn 图 3.3 口呼气与鼻呼气差异组分分析

为进一步探究人体口呼气与鼻呼气组分的差异,将上述口呼气与鼻呼气共同检测到的 565个成分对应的信号强度进行火山分析(图 4A)发现,163个成分的强度存在显著差异, 其中以口呼气相对鼻呼气信号强度显著上升的成分为上调成分(85个),反之则为下调成 分(78个)。

将口呼气和鼻呼气中特有的成分以及口呼气和鼻呼气中具有强度差异性的成分均导入 HMDB,再将其精确质量与原始数据比较,确定相应成分对应的化学式及其离子加合方式(见 表 S6 和 S7)。从上述成分对应的离子形式来看,口呼气中被 SESI 源电离形成氨加合分子 离子[M+NH4]⁺占所有离子形式的比例为 53.5%, 而鼻呼气内[M+NH4]⁺的占比为 25.0%。由 于人体呼气中含有的氨主要由口腔释放,其含量高于鼻呼气^[28],这可能是因为口呼气组分 内氨加合分子离子占比更高的原因。口呼气中高浓度的氨气会导致呼气组分经口腔呼入离子 源后更易形成氨加合态分子离子,增加了后续定性分析的难度。进一步,以各化学式 H 原 子数与 C 原子数的比例 (H/C)为横坐标,以 O 原子数与 C 原子数的比例 (O/C)为纵坐标, 对鼻呼气与口呼气的组分进行元素组成分析,发现口呼气组分既含有与鼻呼气组分种类相似 的一系列化合物,也包括有别于鼻呼气组分的一类化合物 (图 4B)。O/C 能反映化合物的 极性,O/C 越高,极性越强^[29]。将 O/C>0.4 的化合物个数进行统计,发现鼻呼气组分中 O/C>0.4 的化合物所占比例为 41.9%,口呼气中该比例为 10.5%。化合物的极性越强,其在水中的溶 解度也会随之上升。有研究表明,鼻呼气的湿度低于口呼气^[30],加之口腔内含有大量唾液, 导致极性化合物更易滞留在口腔环境中,这也可能是鼻呼气特异性组分中极性化合物占比更 高的原因。此外,尽管口呼气采样相对鼻呼气采样更易实现,当口腔释放出的 VOCs 对呼气 生物标志物的发现或筛查造成干扰时^[31],可以考虑采集鼻呼气以减少影响。



图 4 (A) 受试者口呼气与鼻呼气中检出组分(m/z) 响应强度的火山分析图和(B) H/C 与 O/C 的函数关系图

4 结论

以9种 VOCs 为检测对象,建立了基于 SESI-HRMS 的定量分析方法。结果表明,本方 法的重现性和稳定性良好,满足人体呼气中9种 VOCs 的定量分析需求。进一步,以实际人 体呼气样品为研究对象,与以往只针对特定 VOCs 的分析研究不同,本研究采用非靶标分析 策略探究口呼气组分与鼻呼气组分的差异。分析结果表明,由于氨主要源自口腔环境释放, 口呼气氨的含量高于鼻呼气,这解释了在口呼气内氨加合分子离子所占比例更高的现象。进 一步根据元素组成的分析结果,发现鼻呼气内极性化合物的占比更高,推测可能由于人体鼻 呼气湿度低于口呼气湿度,减少了极性化合物在鼻腔内的滞留,表明采集鼻呼气可能更有利 于分析极性化合物组分。同时,应考虑呼气内源性组分是否受口腔内 VOCs 释放的影响,避 免产生错误结果。后续研究还需进一步基于更大样本量,以精准定性和定量分析口呼气与鼻 呼气的组分为目标,更加系统且深入地探索两种呼气样本类型间的差异性组分及其来源,为 进一步明确合适的呼气方式应用场景和优化 SESI-HRMS 呼气检测方法提供更多的理论依 据。

参考文献:

- Sas V, Cherecheş-Panţa P, Borcau D, et al. Breath Prints for Diagnosing Asthma in Children[J]. Journal of clinical medicine, 2023, 12(8): 2831.
- [2] Slingers G, Goossens R, Janssens H, et al. Real-time selected ion flow tube mass spectrometry to assess short- and long-term variability in oral and nasal breath[J]. Journal of Breath Research, 2020, 14(3): 036006.
- [3] Wang T, Pysanenko A, Dryahina K, et al. Analysis of breath, exhaled via the mouth and nose, and the air in the oral cavity[J]. Journal of Breath Research, 2008, 2(3): 037013.
- [4] Drabińska N, Flynn C, Ratcliffe N, et al. A literature survey of all volatiles from healthy human breath and bodily fluids: the human volatilome[J]. Journal of Breath Research, 2021, 15(3): 034001.
- [5] 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.
- [6] Blanco F G, Vidal-de-Miguel G. Breath Analysis by Secondary Electro-Spray Ionization -Mass Spectrometry to Interrogate Biologically Significant Metabolites Non-Invasively[J]. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2021, 53(4): 825-837.
- [7] Sani S N, Zhou W, Ismail B B, et al. LC-MS/MS Based Volatile Organic Compound Biomarkers Analysis for Early Detection of Lung Cancer[J]. Cancers, 2023, 15(4): 1186.
- [8] Yi Z, Dong S, Wang X, et al. Exploratory study on noninvasive biomarker of silicosis in exhaled breath by solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry

analysis[J]. International Archives of Occupational and Environmental Health, 2023, 96(6): 857-868.

- [9] Foster W M, Jiang L, Stetkiewicz P T, et al. Breath isoprene: temporal changes in respiratory output after exposure to ozone[J]. Journal of Applied Physiology, 1996, 80(2): 706-710.
- [10] Ferrandino G, Orf I, Smith R, et al. Breath Biopsy Assessment of Liver Disease Using an Exogenous Volatile Organic Compound-Toward Improved Detection of Liver Impairment[J]. Clinical and translational gastroenterology, 2020, 11(9): e00239.
- [11] Cheng N-Y, Chuang H-C, Shie R-H, et al. Pilot Studies of VOC Exposure Profiles during Surgical Operations[J]. Annals of Work Exposures and Health, 2018, 63(2): 173-183.
- [12] Thrall K D, Woodstock A D. EVALUATION OF THE DERMAL ABSORPTION OF AQUEOUS TOLUENE IN F344 RATS USING REAL-TIME BREATH ANALYSIS AND PHYSIOLOGICALLY BASED PHARMACOKINETIC MODELING[J]. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 2002, 65(24): 2087-2100.
- [13] Vardoulakis S, Giagloglou E, Steinle S, et al. Indoor Exposure to Selected Air Pollutants in the Home Environment: A Systematic Review[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(23): 8972.
- [14] Fenske J D, Paulson S E. Human Breath Emissions of VOCs[J]. Journal of the Air & amp; Waste Management Association, 1999, 49(5): 594-598.
- [15] Mochalski P, King J, Klieber M, et al. Blood and breath levels of selected volatile organic compounds in healthy volunteers[J]. The Analyst, 2013, 138(7): 2134-2145.
- [16] 杜睿,张羽玲,曾嘉发,等. 超高分辨质谱研究离子源内气体氛围对电喷雾电离呼出气的影响[J].分析化学,47:916-924.
- [17] Sukul P, Trefz P, Kamysek S, et al. Instant effects of changing body positions on compositions of exhaled breath[J]. Journal of Breath Research, 2015, 9(4): 047105.
- [18] Shrivastava A, Gupta V. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods[J]. Chronicles of Young Scientists, 2011, 2(1): 21-25.
- [19] Kessner D, Chambers M, Burke R, et al. ProteoWizard: open source software for rapid proteomics tools development[J]. Bioinformatics (Oxford, England), 2008, 24(21): 2534-2536.

- [20] Chen T, Zhang H, Liu Y, et al. EVenn: Easy to create repeatable and editable Venn diagrams and Venn networks online[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2021, 48(9): 863-866.
- [21] Pang Z, Zhou G, Ewald J, et al. Using MetaboAnalyst 5.0 for LC–HRMS spectra processing, multi-omics integration and covariate adjustment of global metabolomics data[J]. Nature Protocols, 2022, 17(8): 1735-1761.
- [22] Wishart D S, Guo A, Oler E, et al. HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(D1): D622-D631.
- [23] Son H D, An J G, Ha S Y, et al. Development of Real-time and Simultaneous Quantification of Volatile Organic Compounds in Ambient with SIFT-MS (Selected Ion Flow Tube-Mass Spectrometry)[J]. Journal of Korean Society for Atmospheric Environment, 2018, 34(3): 393-405.
- [24] Yu Z, Liu C, Niu H, et al. Real time analysis of trace volatile organic compounds in ambient air: a comparison between membrane inlet single photon ionization mass spectrometry and proton transfer reaction mass spectrometry[J]. Analytical Methods, 2020, 12(35): 4343-4350.
- [25] Liu C, Zeng J, Sinues P, et al. Quantification of volatile organic compounds by secondary electrospray ionization-high resolution mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2021, 1180: 338876.
- [26] Pereira J A M, Porto-Figueira P, Taware R, et al. Unravelling the Potential of Salivary Volatile Metabolites in Oral Diseases. A Review[J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2020, 25(13): 3098.
- [27] Roslund K, Lehto M, Pussinen P, et al. On-line profiling of volatile compounds produced in vitro by pathogenic oral bacteria[J]. Journal of Breath Research, 2019, 14(1): 016010.
- [28] Smith D, Wang T, Pysanenko A, et al. A selected ion flow tube mass spectrometry study of ammonia in mouth- and nose-exhaled breath and in the oral cavity[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2008, 22(6): 783-789.
- [29] Song J, Li M, Fan X, et al. Molecular Characterization of Water- and Methanol-Soluble Organic Compounds Emitted from Residential Coal Combustion Using Ultrahigh-Resolution Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry[J]. Environmental Science & Compound & Compou

- [30] Paczesny D, Rapiejko P, Weremczuk J, et al. Pomiary temperatury powietrza w jamach nosa i jamie ustnej[J]. Otolaryngologia Polska, 2007, 61(5): 864-867.
- [31] Ge D, Zhou J, Chu Y, et al. Distinguish oral-source VOCs and control their potential impact on breath biomarkers[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2022, 414(6): 2275-2284.