

# 基于呼气分析的疾病诊断技术研究进展及 标准化需求

张文权<sup>1,2</sup>, 冯璐璐<sup>2</sup>, 叶子弘<sup>1</sup>, 龚晓云<sup>2</sup>

(1. 中国计量大学生命科学学院, 浙江 杭州 310018;

2. 中国计量科学研究院前沿计量科学中心, 国家市场监督管理总局技术创新中心(质谱), 北京 100029)

**摘要:** 呼气中挥发性有机物的组成及含量变化与人体生理状态的改变密切相关。人体代谢产生的一些特征性生物分子(如疾病标志物)会随着呼气排出体外。通过准确检测呼气中的疾病标志物, 可有效监测相关疾病的发生与发展过程。现代呼气分析技术的快速发展为疾病的临床诊断和病程监测提供了快速、非侵入性的检测手段, 如电子鼻传感器技术、气相色谱-串联质谱法、选择离子流管质谱法、质子转移反应质谱法和萃取电喷雾电离质谱法等。近年来, 已针对多种疾病开展了用于临床诊疗的呼气生物标志物筛选与研究。然而, 不同研究得出的疾病标志物在种类、含量及诊断敏感性、特异性方面存在较大差异。可比性差、缺乏标准等因素严重制约了相关科学研究及行业的发展。本文总结和归纳了人体呼气中挥发性有机物的检测技术, 探讨了呼气疾病标志物的研究进展, 并从标准化角度对呼气采样流程、分析仪器及呼气标准物质等方面面临的问题进行分析与展望, 旨在为基于呼气的疾病诊断研究提供借鉴和参考。

**关键词:** 呼气; 挥发性有机物(VOCs); 质谱分析; 疾病标志物; 临床诊断; 标准化

中图分类号: O657.63 文献标志码: A 文章编号: 1004-2997(2026)01-0042-16

DOI: 10.7538/zpxb.2025.0065 CSTR: 32365.14.zpxb.2025.0065

## Advances in Breath Analysis-Based Disease Diagnosis Technology and Standardization Requirements

ZHANG Wen-quan<sup>1,2</sup>, FENG Lu-lu<sup>2</sup>, YE Zi-hong<sup>1</sup>, GONG Xiao-yun<sup>2</sup>

(1. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China; 2. Technology Innovation Center of Mass Spectrometry for State Market Regulation, Center for Advanced Measurement Science, National Institute of Metrology, Beijing 100029, China)

**Abstract:** The composition and content of volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath are closely related to change in the human physiological state. Some biosignature molecules generated by human metabolism, including disease marker molecules, are expelled from the body via exhaled breath. By accurately detecting disease markers in exhaled breath, the onset and progression of relevant diseases can be effectively monitored. The rapid development of modern breath analysis techniques, including electronic nose (E-nose) sensor systems, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS), proton transfer reaction

mass spectrometry (PTR-MS), and extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS), has provided rapid, non-invasive detection methods for disease diagnosis and progression monitoring. Among these techniques, E-nose sensor systems are characterized by portability and rapid screening capabilities. GC-MS serves as the gold standard for offline analysis due to its strong qualitative and quantitative capabilities. Real-time online techniques, including SIFT-MS and PTR-MS, are noted for their speed and sensitivity. EESI-MS enables direct analysis of complex samples. In recent years, research on exhaled biomarkers for disease diagnosis and treatment has been conducted on a wide range of diseases. For example, acetone in human exhaled breath can serve as a potential marker for diagnosing diabetes; hydrogen produced in breath after lactose intake is a potential marker for diagnosing gastrointestinal disorders; isotope-labeled carbon dioxide ( $^{13}\text{CO}_2$ ) produced in breath after ingesting  $^{13}\text{C}$ -labeled urea serves as a marker for detecting *Helicobacter pylori* infection. However, there are significant differences in the types, content, diagnostic sensitivity, and specificity of disease markers obtained by different researchers using various methods. Factors such as poor comparability and lack of standardization severely constrain scientific research and the development of related industries. Therefore, standardization requirements are critical in three key areas. Firstly, breath sampling protocols vary significantly. Factors such as collection methods, subject's physiological states, and environmental VOC contamination profoundly impact results and comparability. Secondly, analytical instruments, especially sophisticated mass spectrometers, require reference standards and calibration protocols to ensure consistent performance and inter-laboratory comparability, including addressing instrument background and sensitivity drift. Thirdly, the complexity and instability of breath matrices make the development of reliable reference materials for calibration and quality control extremely challenging, thereby hindering accurate quantification and method validation. This paper summarized detection techniques for VOCs in exhaled breath, discussed advances in breath biomarker research, and analyzed current challenges in standardized sampling procedures, analytical instruments, and reference materials. The perspectives provided herein are intended to serve as a reference for future research on breath-based disease diagnosis.

**Key words:** exhaled breath; volatile organic compounds (VOCs); mass spectrometry analysis; disease biomarkers; clinical diagnosis; standardization

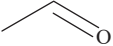

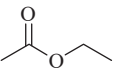



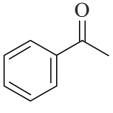

人体呼出的气体中含有复杂的挥发性有机物 (volatile organic compounds, VOCs)<sup>[1]</sup>, 这些在组成和含量上具有显著差异的 VOCs 形成了每个人独特的呼气“指纹”, 能有效反映人体内的新陈代谢及其他生物化学、生物物理的变化过程<sup>[2-4]</sup>。利用人体呼气判断生理状态的最早尝试可追溯至苏格拉底(公元前 460—370 年)时代<sup>[5]</sup>, 当时古希腊医生发现糖尿病患者口中会散发“香甜的气息”。呼气成分检测很早就被认为是针对疾病的诊断方式。

现代人体呼气成分检测技术起源于 1971 年 Pauling 等<sup>[6]</sup>的研究, 他们采用气相色谱技术首次从健康人体呼气中检测出约 250 种 VOCs, 为后续的人体呼气分析奠定了重要基础。2014 年,

Costell 等<sup>[7]</sup>首次对健康人群多种生物样本中的 VOCs 进行系统性综述, 涵盖了呼吸气体、唾液、血液、乳汁、皮肤分泌物、尿液及粪便等 7 类生物基质中检出的 VOCs 成分。2021 年, Drabińska 等<sup>[8]</sup>基于后续研究再次进行总结和归纳, 与 2014 年的报道相比, 呼气中检测出的 VOCs 新增了 900 多种 (共计 1 488 种), 包括一系列醛类、酮类、脂类、腈类和芳香族化合物, 其中具有代表性的 8 种呼气 VOCs 列于表 1。

现代医学通过对疾病致病机理的研究及临床实验, 有力地证明了一些疾病的病程与呼气中的某些成分密切相关, 这些化合物被用作相应疾病的诊断标志物<sup>[9-10]</sup>。例如, 人体呼气中的丙酮可作为诊断糖尿病的潜在标志物<sup>[11-12]</sup>; 摄入乳糖

表1 健康人呼气中 VOCs<sup>[8]</sup>  
Table 1 VOCs in exhaled breath of healthy people<sup>[8]</sup>

CAS号 CAS number	化合物名称 Compound name	分子式 Molecular formula	结构式 Structural formula
75-07-0	乙醛	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O	
64-19-7	乙酸	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	
141-78-6	乙酸乙酯	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	
79-20-9	乙酸甲酯	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	
67-64-1	丙酮	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	
75-05-8	乙腈	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N	
98-86-2	苯乙酮	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	
10152-76-8	烯丙基甲基硫醚	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> S	

后呼气中产生的氢气是诊断胃肠疾病的潜在标志物<sup>[13-14]</sup>；服用<sup>13</sup>C标记的尿素后呼气中产生的同位素标记二氧化碳是判断幽门螺杆菌感染的标志物<sup>[15]</sup>；一氧化氮则是诊断哮喘的潜在标志物<sup>[16]</sup>。

尽管上述研究取得了一定进展，然而基于呼气分析的疾病诊断研究仍面临诸多难题与挑战<sup>[10,17-19]</sup>。一方面，由于呼气中 VOCs 种类繁多、结构复杂且含量低微，对其进行全面、实时、准确的分析极具挑战性；另一方面，呼气 VOCs 的分析易受采样方法、外源污染及分析仪器等多种因素影响。目前，由于缺乏相关规范和标准，尽管疾病标志物检测的数据丰富，但针对同一疾病，不同研究者得到的疾病标志物在种类、含量及诊断敏感性、特异性方面存在较大差异。因此，在标准化条件下开展呼气分析研究显得尤为重要。本文对当前呼气中 VOCs 检测技术的研究现状进行归纳整理，并对呼气分析面临的标准需求进行分析和展望。

## 1 呼气疾病诊断技术研究现状

随着现代分析技术的快速发展，对人体代谢过程中产生的 VOCs 已有了更深入的认识。通过采用高灵敏度气体传感器技术、色谱-质谱联用技术及直接质谱分析技术等，能够系统探究呼气中 VOCs 与疾病之间的潜在关联。这些技术

为表征呼气代谢物的组成及含量提供了重要手段，已成为推动呼气分析研究的核心工具，列于表2。

### 1.1 电子鼻传感器技术

传感器技术是一类以仪器形式扩展人类感官的电子设备，研究人员受人类嗅觉的启发，研发出能识别特定气体分子的气体传感器。目前，气体传感器被普遍定义为可特异性识别单一或有限种类 VOCs 的检测装置<sup>[20]</sup>。近年来，基于气体传感器阵列的电子原型系统及设备的研发，已成为 VOCs 检测与生物标志物识别领域的关键技术发展方向。这类传感器凭借便携性、微型化、成本效益及高度集成化等特点，已成为实现人体代谢 VOCs 检测大规模产业化最具前景的技术路径。借助传感器进行呼气监测，有望进一步拓展诊断能力，实现对大规模人群的早期病理诊断<sup>[21]</sup>。目前，针对呼气中 VOCs 检测的传感器主要包括金属氧化物半导体传感器 (metal oxide sensors, MOS)、电化学传感器 (electrochemical sensor, ECS)、石英晶体微天平传感器 (quartz crystal microbalance sensors, QCMS) 和表面声波传感器 (surface acoustic wave sensors, SAWS) 等。

通常，单个传感器只能检测到一种或几种化合物，使用传感器阵列方式可以扩大检测范围，例如电子鼻传感器 (electronic nose sensor, E-nose)。

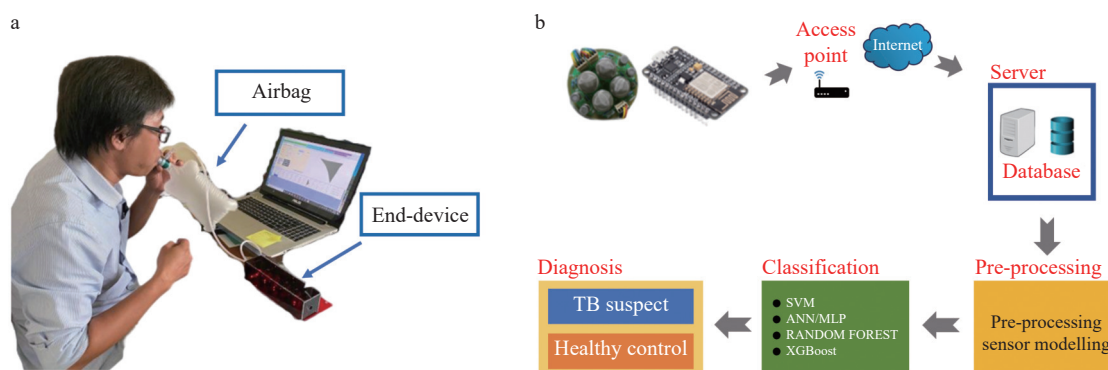
表 2 人体呼气 VOCs 检测技术对比

Table 2 Comparison of human exhaled VOCs detection techniques

分析技术 Analytical technique	检测方法 Detection method	检测范围 Detection range	灵敏度 Sensitivity	化学特异性 Chemical specificity	定性定量能力 Qualitative and quantitative capacity	核心优势 Core advantage	主要劣势及挑战 Disadvantage and challenge
E-nose	实时、 在线	极性/ 极性	nmol/mol	非特异性	定性能力弱	非侵入、快速便携、 成本低	灵敏度、 选择性不足
GC-MS	预分离、 离线	极性/ 极性	pmol/mol~nmol/mol	高	定性定量能力强	高灵敏度、 定性和定量分析	无法实时、 在线检测
SIFT-MS	实时、 在线	极性/ 极性	pmol/mol~nmol/mol	高	直接绝对定量	宽动态范围、 实时多目标定量	预设目标化合物、 难以发现未知物
PTR-MS	实时、 在线	极性/ 弱极性	nmol/mol	中~高	直接绝对定量	含氧VOCs响应强、 无需除水	对非极性VOCs 检测能力弱、 覆盖度有限
EESI-MS	实时、 在线	极性/ 弱极性	pmol/mol~nmol/mol	中	定量能力有限 (依赖校准)	抗基质干扰能力强、 无需除水	定量能力差、 商业化程度弱

E-nose 这一概念由 Persaud 和 Dodd 于 1982 年提出<sup>[22]</sup>, 并在 1987 年之后得到广泛应用<sup>[23]</sup>。通常, E-nose 是由样品输送系统、挥发性有机化合物检测系统和数据处理系统三部分组成。样品输送系统负责收集样品并将其送入检测系统, 可能包括预处理步骤以提高挥发性有机化合物的检测率和质量。检测系统通常由单一传感器组成阵列, 这些传感器的工作原理、信号处理、优势和

局限性在 Wojnowski 等的研究中有所详述<sup>[24]</sup>。如果呼气中的某些 VOCs 被传感器阵列中某一特定类型的传感器检测到, 该传感器会对其产生响应, 例如 ECS 通过电极上的电化学反应将化学信息转化为电信号<sup>[25]</sup>。不同传感器之间的响应模式存在差异, 最终检测系统对这些响应所产生的数据进行分析。典型的 E-nose 检测装置示意图和数据采集与处理流程图示于图 1<sup>[26]</sup>。

图 1 E-nose 检测装置示意图和数据采集与处理流程图<sup>[26]</sup>Fig. 1 Schematic diagram of E-nose detection device and flow chart of data acquisition and processing<sup>[26]</sup>

针对发病机制复杂的疾病(例如肺癌), E-nose 设备通过先进传感器阵列与复杂算法的整合, 能够提高诊断效率与准确性, 展现出作为一线筛查工具的潜力<sup>[27]</sup>。Shang 等<sup>[28]</sup>开发了一种便携式无线呼气传感器测试系统, 该系统集成了传感器电子元件、呼气采样、数据处理, 以及由纳米粒子结构化学电阻传感界面衍生的传感器阵列, 用于检测人体呼气中与肺癌生物标志物相关的挥发性有机化合物, 检出限低至 6 nmol/mol。Hu 等<sup>[29]</sup>利用自组装具有高气体灵敏度和光响应性的黑

磷(black phosphorus, BP)与二维碳化物和氮化物的异质结构复合物, 在光调节下制备了基于 BP/Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>Tx 的光激活虚拟传感器阵列, 并将其进一步组装成即时气体传感平台; 最后通过机器学习算法实现对呼气样本的检测与识别, 45 名健康人和心脏病患者呼气中 VOCs 的检测准确率达到 69.2%。

E-nose 技术在呼气分析中最具吸引力的特质在于其非侵入性、快速、便捷及成本效益潜力, 使其在疾病的早期筛查中前景广阔。然而,

该方法在实际应用中仍存在一定的局限性。首先,尽管多阵列传感器能够对多种 VOCs 进行定性分析,但受传感器检测能力的限制,难以深入解析复杂呼气样本的成分。其次,长期接触 VOCs 及环境因素会影响传感器材料的性能,导致灵敏度下降和检测结果不稳定。在需要明确生物标志物或病理机制的研究中,E-nose 需与其他技术联用,这在一定程度上限制了其作为独立诊断工具的能力。目前,绝大多数基于 E-nose 技术的呼气诊断研究尚处于实验室或早期临床研究阶段,获得正式临床认证的产品数量较少。未来,随着更高性能新型传感器的研发以及人工智能识别模型的不断发展,E-nose 有望在疾病诊断与健康管理中发挥越来越重要的作用。

## 1.2 气相色谱-质谱联用技术

气相色谱-质谱(GC-MS)作为人体呼气 VOCs 检测领域应用最广泛的技术,因其卓越的分离与鉴定能力,被视为呼气 VOCs 分析的“金标准”。该技术结合气相色谱的优越分离能力与质谱的高灵敏度优势,以惰性气体作为流动相,利用各组分在固定相和流动相之间的分配系数差异实现不同组分的高效分离,分离后的组分进入质谱入口,通过电子轰击离子源产生的高能电子束(约 70 eV)轰击样品分子,完成化合物的离子化及分析鉴定<sup>[30]</sup>。借助 GC-MS 强大的分离和多组分鉴定能力,可实现对呼气样本中复杂成分的精确识别与定量分析,示于图 2<sup>[31-32]</sup>。1971 年,Pauling 首次采用 GC-MS 法在人体呼气中检测出 250 种 VOCs<sup>[6]</sup>。当前,多数研究通常先采用 GC-MS 技术完成初始的定性定量分析,再将其数据作为基准,与自研装置的检测灵敏度进行

比较。

随着人工智能和深度数据分析等新技术的不断涌现,基于 GC-MS 法检测呼气 VOCs 的相关研究也在持续发展。Rudnicka 等<sup>[33]</sup>使用 Mann-Whitney U 检验、判别函数分析、因子分析及人工神经网络等数据分析方法,对 GC-MS 采集的肺癌患者与健康人群对照组的呼气检测数据进行深度解析,筛选出 7 种潜在诊断标志物(包括丙酮、乙酸甲酯和异戊二烯等),该方法可实现肺癌患者与健康人群的有效区分。Schleich 等<sup>[34]</sup>采用 GC-MS 技术检测 276 名哮喘患者的呼气,发现了 7 种潜在诊断标志物,随后使用全二维气相色谱(comprehensive two-dimensional gas chromatography, GC×GC)串联高分辨飞行时间质谱对另外 245 名患者的呼气样本进行重复验证,证明壬醛、1-丙醇、2-己酮及己烷这 4 种 VOCs 可有效区分各种类型的支气管炎。凭借 GC-MS 强大的定性分析能力,该技术特别适用于对目前尚未发现明确呼气标志物的疾病(如肺癌)进行筛查与诊断。

与 E-nose 相比,GC-MS 具有超高灵敏度与痕量检测能力的显著优势。然而,GC-MS 仅能分析范围较窄的挥发性、热稳定性化合物,对于含有大量水蒸气或二氧化碳干扰的样本,则高度依赖复杂且耗时的前处理过程。此外,GC-MS 检测到的未知物质图谱经常出现分子离子缺失或丰度较低的情况,这会降低通过 NIST 库进行样品识别的置信度,进而制约 GC-MS 技术对呼气成分的定性能力。目前,通过热脱附等前处理装置对成分复杂的呼气样品进行预分离,可显著提高检测的准确性和灵敏度,但该过程会延长检

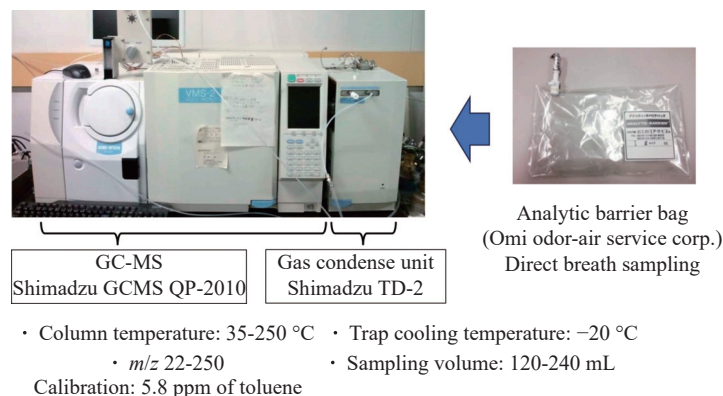


图 2 呼气采样和 GC-MS 分析流程<sup>[31]</sup>

Fig. 2 Exhaled gas sampling and GC-MS analysis procedure<sup>[31]</sup>

测时间,不利于大量样本的高通量分析,无法满足临床实时监测的需求。同时,由于GC-MS设备体积庞大、操作复杂,阻碍了其在临床场景的广泛应用。随着GC×GC技术的成熟<sup>[35]</sup>以及微型化便携式GC-MS装置的持续发展,GC-MS技术有望广泛应用于呼气临床实时监测领域。

### 1.3 选择离子流管质谱技术

选择离子流管质谱(selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS)是一种基于质量选择试剂离子对样品混合物中痕量分子进行化学电离的分析技术,起源于Adams和Smith在1976年为测量陆地电离层和星际气云中发生的离子分子反应动力学而设想的SIFT技术。Veronica Bierbaum与导师Charles DePuy被认为是SIFT技术的先驱之一<sup>[36]</sup>,他们率先将该技术应用于气相离子分子反应的研究。随着该技术的进一步发展,Smith和Spanel于1996年详细阐述了SIFT技术的细节及其在环境(包括湿度较高的空气)VOCs分析中的应用<sup>[37]</sup>。

SIFT技术通过低压空气中微波或射频放电产生特定试剂离子,如 $\text{H}_3\text{O}^+$ 、 $\text{NO}^+$ 和 $\text{O}_2^+$ 。这些试剂离子经四极杆质量选择器进行精确质量筛选后进入漂移管,与由氦气或氮气引入的分析物发生分子离子反应,生成的分析物离子由四极杆质谱仪检测<sup>[10]</sup>,示于图3。根据试剂离子与被分析物分子发生离子-分子反应的动力学参数,进入流动管的气体流量以及产物离子信号与试剂离子信号的比值,可对空气混合物中被分析物进行定量分析<sup>[38]</sup>。为实现更多极性化合物的检测,研究人员进一步开发了可以产生 $\text{O}^-$ 、 $\text{OH}^-$ 、 $\text{O}_2^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ 和 $\text{NO}_3^-$ 等阴离子的Voice200装置,该

装置不仅提高了VOCs检测的特异性,还可实现多种挥发性无机物的分析<sup>[39]</sup>。最初开发使用的SIFT-MS逐步发展为体积更小、便于运输的仪器,并已实现商品化。目前,这些设备已应用于基础研究,包括环境空气分析<sup>[40-41]</sup>、食品科学<sup>[42]</sup>和临床医学等多个领域。

SIFT-MS技术在疾病分群及疾病诊断标志物筛选方面展现出作为快速检测工具在呼吸样本诊断中的潜力。Tsou等<sup>[43]</sup>采用SIFT-MS法对148名经组织学确诊的肺癌患者和168名健康志愿者的呼气样本进行分析,基于已有研究中检测出的116种VOCs,利用XGBoost机器学习算法建立了基于VOCs定量分析结果的肺癌预测模型。该模型考虑了呼气和环境VOCs等背景干扰情况,使其对肺癌预测的准确度、灵敏度、特异性分别达到92%、96%和88%。Yoshie等<sup>[44]</sup>收集了45例乳腺癌患者和51例非乳腺癌对照组的呼气样本,通过建立多重逻辑回归模型区分这2类人群,结果发现,3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇、乙醇胺和壬酸乙酯的组合可有效区分乳腺癌患者与对照组。Karen等<sup>[45]</sup>收集了哮喘患儿、囊性纤维化患儿及健康人的55份呼气样本,对质谱数据采用19种预处理方式,通过无监督分类和有监督分类技术对样本进行分群,评估了不同数据预处理技术与分类技术的差异。Annalisa等<sup>[46]</sup>招募了68名接受保守治疗的慢性肾病患者和54名健康志愿者,采用SIFT-MS技术分析受试者呼气中的VOCs,通过受试者工作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线发现,三甲胺、丙酮、氨和二甲基硫醚可用于区分这2类人群;同时还发现,与呼气中三甲胺浓

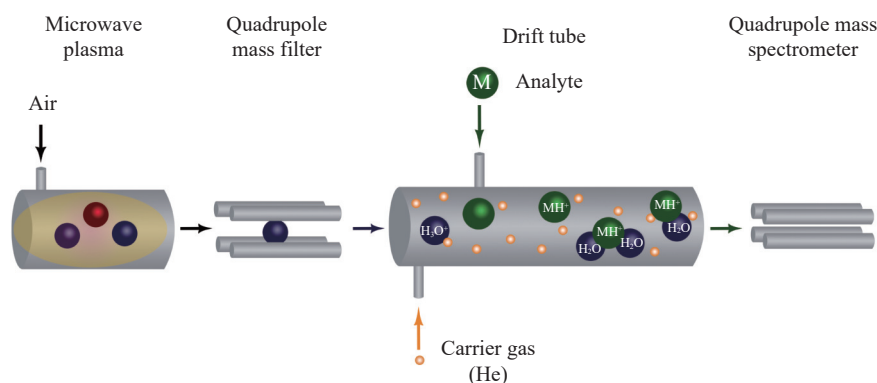


图3 SIFT工作原理示意图<sup>[10]</sup>

Fig. 3 Schematic diagram of SIFT working principle<sup>[10]</sup>

度较低的受试者相比,浓度高于 26 nmol/mol 的受试者罹患慢性阻塞性肺病的风险高出 6.11 倍。

SIFT-MS 技术凭借快速、实时、绝对定量和无需色谱分离的优势,成为呼气分析的理想工具之一<sup>[47-48]</sup>。然而,该技术主要依赖几种特定前体离子实现目标物的离子化,对某些化合物(如高电子亲和力的卤代烃、部分大分子或高极性化合物)的离子化效率较低,化学覆盖范围相对有限,因此通常被用于靶向呼气分析。其次,当呼气中存在多种结构相似或与反应产物离子相似的化合物时,该方法的选择性不足,难以识别呼气中的未知物,需预先设定目标化合物及其特征离子进行监测。目前,通过将 SIFT-MS 技术与前处理装置结合,有利于提高该方法的检测灵敏度并拓宽其检测范围,相关技术正处于逐步开发阶段<sup>[49]</sup>。

#### 1.4 质子转移反应质谱技术

质子转移反应质谱(proton transfer reaction mass spectrometry, PTR-MS)技术由 SIFT-MS 技术发展而来,当前广泛应用的 PTR-MS 于 20 世纪 90 年代末由奥地利因斯布鲁克大学的 Lindinger 及其合作者开发<sup>[50]</sup>。与 SIFT-MS 技术不同,PTR-MS 仪器通常由离子源、漂移管、离子接口和质量分析器 4 个部分组成。PTR-MS 取消了选择特定离子的质量筛选器,采用一种空心阴极放电源,能够在离子源内高效生成  $\text{H}_3\text{O}^+$ 。此外, PTR-MS 使用较短的漂移管取代流动管,并且不依赖载气输送试剂离子,而是将气体样品直接注入漂移管<sup>[51-52]</sup>。 $\text{H}_3\text{O}^+$  离子可以与质子亲和能高于水(691 kJ/mol)的 VOCs 发生质子转移反应生成产物离子<sup>[53]</sup>。

与 SIFT-MS 技术相比, PTR-MS 技术无需使用四极杆对试剂离子进行质量筛选,因此可注入更高浓度的试剂离子参与反应。此外, PTR-MS 以空气作为载气将样品送入质谱,而 SIFT-MS 通常使用质量较轻的氦气,这使得 PTR-MS 中  $\text{H}_3\text{O}^+$  离子的计数率更高,进而提高了分析灵敏度。PTR-MS 技术的另一优势是质子转移反应过程中释放的热能较低,从而减少了产物离子的碎裂。因此,产物离子的质荷比可作为许多重要大气 VOCs 的独特标识符<sup>[54]</sup>,这进一步提高了 PTR-MS 在 VOCs 检测中的准确性和可靠性。

为进一步提高目标化合物分析的准确性,研究人员将高分辨质量分析系统引入到 PTR-MS,该装置可以在 100 ms 至几秒钟内对各种 VOCs 进行准确分析<sup>[55]</sup>。2008 年, Ionicon 公司与 Tofwerk 公司合作研发出基于飞行时间质谱(time of flight mass spectrometry, TOF MS)技术的新型 PTR-MS 仪器<sup>[56]</sup>,标志着质子转移反应飞行时间质谱(proton transfer reaction time of flight mass spectrometry, PTR-TOF MS)技术的正式问世。该仪器能够以高质量分辨率测量低至几十 pmol/mol 的 VOCs,质量范围超过  $1 \times 10^5$  u。质量分辨率和灵敏度的显著提升,使 PTR-TOF MS 具备了精确的物种鉴定能力,这不仅满足了对气相分子研究的实际需求,还拓展了研究者通过仪器获取化学信息的深度和广度。PTR-TOF MS 工作原理图及呼气成分在线分析流程示于图 4<sup>[10,48,57]</sup>。

由于大多数有机物分子的质子亲和能均大于 732.2 kJ/mol,因此 PTR-MS 装置能够检测包括非极性和极性分析物在内的 VOCs,使得该技

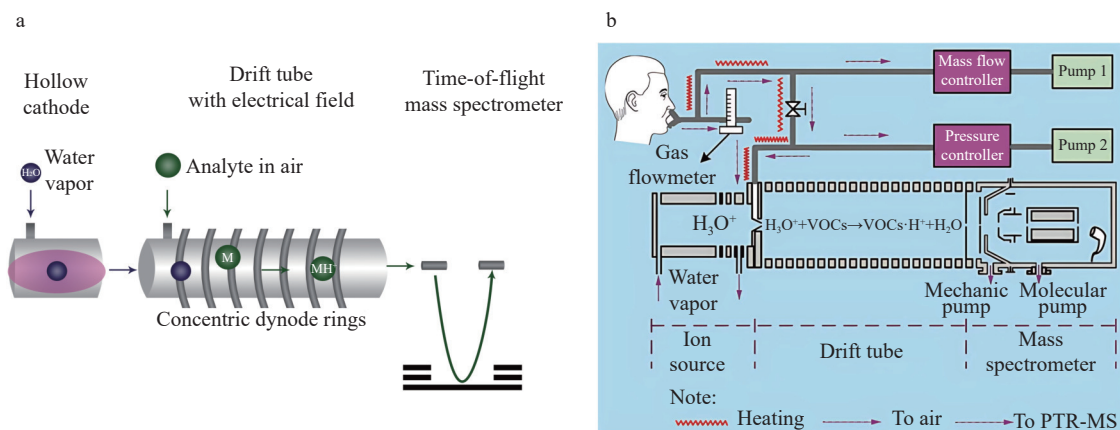


图 4 PTR-TOF MS 工作原理示意图(a)<sup>[10,57]</sup>和 SIFT-MS 呼气在线分析示意图(b)<sup>[48]</sup>

Fig. 4 Schematic diagrams of PTR-TOF MS working principle (a)<sup>[10,57]</sup> and SIFT-MS breath analysis (b)<sup>[48]</sup>

术在环境监测(包括大气化学和室内环境污染)、食品质量控制、化学战剂与爆炸物检测、药物代谢研究等领域应用广泛。近年来, PTR-MS 凭借其高灵敏度与快速检测等优势被应用于呼气成分分析与疾病诊断研究。Jia 等<sup>[58]</sup>采用 PTR-MS 装置检测了 504 名不同年龄段健康成年人呼气中的 VOCs, 发现了丙酮、乙醛、乙腈、乙醇、异戊二烯、甲醇、丙醇、苯酚和甲苯等 9 种特征 VOCs, 并评估了不同年龄段及不同性别之间呼气中 VOCs 的差异。结果显示, 在男性群体中, 某些化合物的平均挥发性有机化合物水平较高, 且丙醇和甲醇的浓度随年龄增长显著增加。Xu 等<sup>[59]</sup>发现, 呼气中的乙醛可用于呼吸机相关性肺炎(ventilator associated pneumonia, VAP)的快速筛查, 通过插管取样采集了 42 名 VAP 患者和 32 名对照组的呼气样本, 采用 PTR-MS 进行检测, 灵敏度和特异度分别为 71.4%、84.4%, 曲线下面积(AUC)为 0.796。Fink 等<sup>[60]</sup>利用 PTR-TOF MS 技术分别对各 30 名 1 型糖尿病(type1 diabetes mellitus, DM T1)和 2 型糖尿病(type2 diabetes mellitue, DM T2)患者进行呼气中 VOCs 分析, 同时监测 2 组患者从餐前到餐后 3~4 h 范围内的血糖。根据血糖浓度变化, 从 500 多个质谱峰中筛选出与血糖浓度变化具有较强相关性的 VOCs, 包括吡啶、丙酮、甲醛、苯酚和丙酸, 其中吡啶与血糖水平的相关性最高。

PTR-MS 技术依赖高效生成的  $H_3O^+$  进行目标化合物的离子化和快速实时分析, 可以忽略呼气样本中的水蒸气干扰而实现直接分析。然而, 依赖单一前体离子  $H_3O^+$  的电离机制存在固有局限, 无法有效电离质子亲和力低的化合物(如烷烃、烯烃、芳香烃、卤代烃等), 部分化合物(如某些酯类、大分子)在质子化后可能发生裂解产生碎片离子, 干扰母离子识别和定量。为进一步提高 PTR-MS 的检测灵敏度和特异性, Bao 等<sup>[61]</sup>开发了新型光诱导多离子化源, 该源包含质子转移反应、电荷转移反应、单光子离子化和光电子撞击离子化 4 种离子化过程, 通过增加离子透镜部件和多电离过程, 成功检测到常规 PTR-MS 难以检测到的 VOCs 物种, 有效扩展了检测范围。此外, 不同化合物可能产生相同质荷比的质子化信号, 仅依靠低分辨率 PTR-MS 难以实现复杂呼气样本的分析。目前, 通过结合高分辨 PTR-TOF

MS 的精确质量数检测, 以及串联质谱的结构解析, 有望进一步提升该方法的选择性, 实现呼气复杂样本中同分异构体的区分。

### 1.5 萃取电喷雾离子化质谱技术

萃取电喷雾离子化质谱(extractive electrospray ionization mass spectrometry, EESI-MS)法由陈焕文等<sup>[62]</sup>首次提出, 用于研究和表征复杂液体基质中的化合物, 是常规电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)技术的延伸。在常规 ESI 过程中, 待测物被直接注入 ESI 源中离子化, 但 ESI 源对样品基质的耐受性较差, 易产生显著的离子抑制效应。因此, 通常需要对样品进行多步预处理以降低基质效应, 才能将处理过的样品引入真空中进行电离、质量分析与检测<sup>[63]</sup>。相比之下, 在 EESI 过程中, 分析物首先通过雾化器形成气溶胶, 随后气溶胶与 ESI 产生的带电液滴发生碰撞和电荷交换, 最终使得分析物被离子化。这种设计使雾化与电离过程在空间和时间上实现分离, 在无需对样品进行任何化学修饰或前处理的情况下可实现分析物的直接高效电离。典型的 EESI-MS 电离反应过程示于图 5。

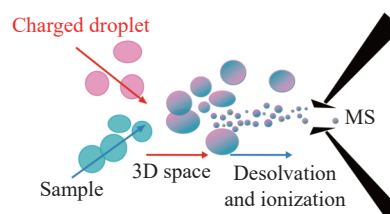


图 5 EESI-MS 电离反应过程<sup>[63]</sup>

Fig. 5 EESI-MS ionization reaction process<sup>[63]</sup>

为适应不同状态样品(如固体、液体、气体)的分析需求, EESI 技术在其基础原理上衍生出多种改进技术, 显著扩展了 EESI 的应用范围和分析能力。中性解吸萃取电喷雾电离(neutral desorption extractive electrospray ionization, ND-EESI)利用氮气或氦气等惰性气体吹扫样品进行解吸附, 释放的样本可直接转移至 EESI 源实现离子化。这种方式能够处理极其复杂的基质(如血液样品), 且因分析物可以不断地从块状样品中释放出来而不会造成严重的灵敏度损失。同时, 惰性气体吹扫不会改变重要样品的化学性质, 并且能够最大程度地减少样品使用量<sup>[64]</sup>。内部萃取电喷雾电离(internal extractive electrospray

ionization, iEESI) 将带电溶剂直接引入样品内部, 溶剂在扩散过程中与目标分析物发生相互作用, 随后分析物与溶剂的混合物在样品内部形成的电场梯度驱动下向质谱仪入口方向迁移。在

这个过程中, 带电液滴在质谱仪入口前形成稳定的电喷雾羽流, 从而实现分析物离子化。因此, iEESI 技术更适用于大体积样品(如环境中污染物)的检测<sup>[63]</sup>。上述 2 种技术的装置原理图示于图 6。

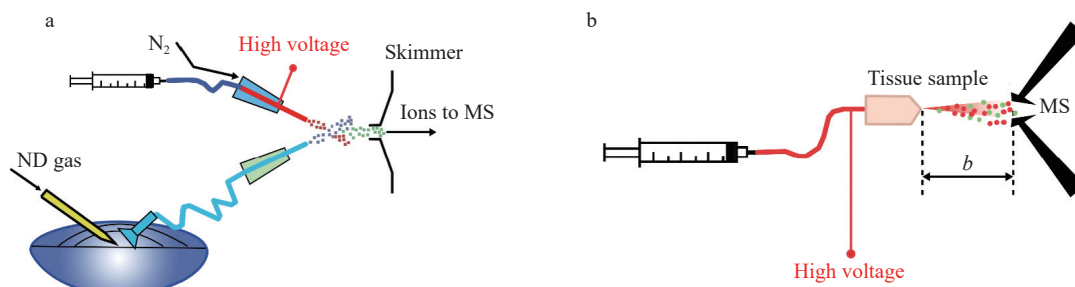


图 6 ND-EESI-MS(a)<sup>[64]</sup>和 iEESI-MS(b)<sup>[63]</sup>的装置原理图

Fig. 6 Schematic diagrams of ND-EESI-MS device (a)<sup>[64]</sup> and iEESI-MS device (b)<sup>[63]</sup>

2007 年, 陈焕文等<sup>[65]</sup>首次使用 EESI 与 TOF MS 技术结合的商业装置对人体呼气进行质谱分析, 成功检测到呼气中与人体生命活动相关的有机物质。近年来, 通过检测呼气中 VOCs 进行疾病诊断的研究逐渐增多, 尤其是在生物标志物发现和疾病诊断方面。Zuo 等<sup>[66]</sup>采用 EESI-MS 评估呼气中的 VOCs 是否可作为肺癌的特异性诊断标志物, 发现肺癌患者呼气中的丁二烯、乳酸、四氢生物蝶呤和 *N*-苯乙酰谷氨酰胺与健康对照组和肺部感染组存在显著差异。Wu 等<sup>[67]</sup>利用 EESI-MS 技术分析呼气, 探索其在肝衰竭无创诊断和实时监测中的应用。通过检测 24 名健康者、20 名慢性乙型肝炎患者和 20 名肝衰竭患者的呼气样本, 发现肝衰竭患者与健康者之间存在 22 个显著差异的代谢物, 其中 8 种被鉴定为潜在标志物; 同时, 肝衰竭与慢性乙型肝炎患者之间存在 4 个显著差异的代谢物。

EESI-MS 技术无需样品前处理即可对各种复杂基质样本进行快速分析, 且 EESI 离子源可与多种质谱仪联用, 实现实时在线检测。当前, EESI-MS 技术的局限性主要体现在其离子化机制主要适用于极性分子, 对弱极性、非极性分子的检测灵敏度较低。此外, 由于离子化过程中存在显著的离子抑制效应, 该方法在呼气 VOCs 定量分析方面仍面临较大挑战, 通常需依赖内标或外部校准方法改善。与其他质谱技术(GC-MS、SIFT/PTR-MS)相比, EESI-MS 目前仍处于实验室研发和早期应用阶段。未来, 随着复合离子化

技术的不断突破、标准化方法的建立、以及与更小型化/高性能质谱仪的集成, EESI-MS 有望从实验室走向更广阔的应用场景, 其在精准医疗和深度呼气组学研究中的价值将日益凸显。

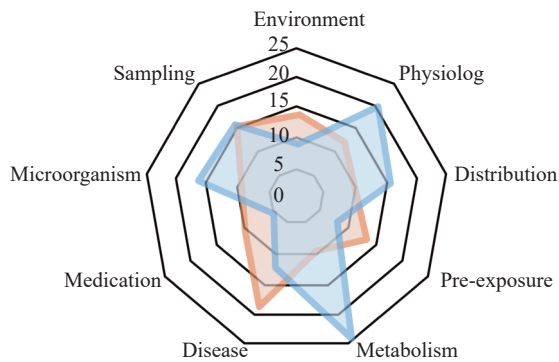
## 2 呼气分析的标准化需求

目前, 呼气分析在临床诊断中的应用日趋广泛。然而, 由于呼气采样方式的不同、分析仪器性能和状态的不同, 以及缺乏呼气标准品等多种因素的影响, 导致不同实验室获得的诊断标志物测量结果之间的可比性较差<sup>[10,68]</sup>。因此, 基于呼气分析的疾病诊断面临规范化和标准化这一巨大挑战。

### 2.1 呼气采样的标准化

呼气分析的首要操作是采样, 这一环节直接影响分析结果的一致性和可比性, 是标准化至关重要的一环。采样环节需要考虑的因素主要包括样本采集方式、患者的生理状况和环境 VOCs 污染等, 示于图 7<sup>[19,68]</sup>。

**2.1.1 样本采集方式** 常用的样本采集和收集方式包括气袋采样、热解吸管采样和在线采样等。其中, 气袋采样法首先让受试者将呼气吹入具有确定体积的采样袋中, 再对收集的样本进行逐一测试和分析。该方法具有成本低、易操作等特点, 适用于大量呼气样本的离线采集<sup>[69]</sup>。但气袋对 VOCs 的吸附作用、气袋背景气以及采样地点不同等对分析结果的影响仍需进一步评估。热解吸管法通过管内填充的吸附材料实现



注：彩色区域反映了 2 个不同时间点潜在 VOC 生物标志物的浓度

图 7 影响人体呼气 VOCs 动态特性的关键内在和外在因素

Fig. 7 Key intrinsic and extrinsic factors responsible for the dynamic nature of human exhaled breath VOC profiles

采样,适用于多种 VOCs 的采样与分析<sup>[70]</sup>。离线采样方式通常难以反映出呼气中 VOCs 的动态特性,容易得到片面结果。随着呼气疾病诊断应用需求的增加,在线采样凭借通用性高、快速诊断等特点而备受关注。Zenobi 等<sup>[10]</sup>认为,在线呼气分析可作为第一级诊断工具部署在医院等场所,用于患者的初步诊断。然而,正如 Beauchamp 等<sup>[71-72]</sup>所指出,在线呼气分析的独立研究结果之间的可比性尚不明确。考虑到目前在线呼气分析技术尚不成熟且缺乏标准,未来基于该方法的分析还需在分析通量及标准化等方面持续改进。

**2.1.2 患者的生理状况** 患者的生理状况是影响呼气分析结果的关键因素之一,在采样前需谨慎考虑。Miekisch 等<sup>[73]</sup>认为,人体呼气中 VOCs 的组成与浓度具有显著的动态特征,通常与患者的活动及即时的生理状况相关,影响因素主要包括吸烟、饮食、药物、临床干预、测试前的禁食和休息等。例如,吸烟者呼气中的丙酮含量明显高于非吸烟者<sup>[74]</sup>,健康人饭后 4~6 h 内呼气中的丙酮含量也会显著升高<sup>[75]</sup>。吸烟或饮食不仅影响人体的代谢途径,还容易引入外源 VOCs 污染,导致被试者呼气成分受到干扰。此外,服用药物也会对呼气成分产生显著影响。Benjamin 等<sup>[17]</sup>发现,患者服用镇痛药后 30 min 内,呼气中乙腈、乙醛、苯并吡喃、苯、己醛烯等 VOCs 含量随时间显著变化。因此,在呼气检测中需充分考虑这些问题,通过规范测试前的饮食、休息、

用药等环节,减少患者因生理状况差异给呼气分析带来的影响,确保测试结果的一致性。

**2.1.3 环境 VOCs 污染** 环境 VOCs 对呼气采样过程存在潜在污染风险。Harshman 等<sup>[76]</sup>认为,在一定情况下,背景污染物可能占呼气检测信号的 70% 以上。实际上,在诸多研究中,背景样本未作为对照与呼气样本同步采集检测,仅凭借呼气样本产生的单一信号进行判断<sup>[77-79]</sup>,这无疑存在误判风险。为确保分析结果的准确性,呼气研究需在同一地点同步收集呼气样本和背景样本,以便更严格地校正呼气样本的测量结果,并精准评估呼气中的 VOCs 信号。由于 VOCs 污染可能产生在样品收集与分析的多个环节,因此,确保呼气样本与背景样本经过一致的收集和处理过程是非常重要的。值得注意的是,通过离线采样方法收集的样本通常来自多个不同采样点,因此更需要评估背景气的影响。目前,全球多个研究团体考虑建立正常人呼气参考数据库,通过定量指标明确呼气中 VOCs 的参考范围,从而有效区分呼气与背景气。通过在全球范围内对比不同团体的研究结果,有望推进可靠、标准化采样流程的建立,为确立呼气 VOCs 的正常浓度范围提供更强有力的支撑。

## 2.2 分析仪器参考标准

不同分析仪器检测结果的可比性一直是标准化进程的重要一环。传统的气体测量方法主要包括 GC、气体传感器、激光光谱技术及由传感器阵列组成的电子鼻传感器等<sup>[80]</sup>,但这些方法仅适用于特定挥发性成分的检测,且检测灵敏度有限。GC-MS 法作为呼气 VOCs 分析的“金标准”,通常可为其他方式的呼气分析提供重要参考。然而,由于许多 VOCs 具有吸附性强、化学稳定性差等特点,在线分析是呼气分析的首选方式。现代质谱技术具有分析速度快、分辨率高、结果准确等优点,其超高灵敏度及各类离子化技术为痕量、非挥发性化学成分测量提供了极大的便利。其中,高分辨质谱法可精确测定 VOCs 的元素组成,有效区分具有相近分子质量的化合物,从而实现 VOCs 的高特异性测量和准确识别,提高呼气疾病诊断的可靠性。

当前,基于高分辨质谱的呼气分析在质量控制和绝对量化方面仍缺乏标准化流程。首先,现代质谱技术通常采用敞开式离子源对呼气

VOCs 进行离子化和快速分析,因此,气体样本的输送被视为质量控制的第一个关键环节。Zenobi 等<sup>[81]</sup>设计了一种用于呼气直接分析的气体输送系统,可通过加热和加湿的方式模拟真实

呼气体,并能将单一组分或多组分标准气体引入质谱中进行分析,示于图 8。进一步评估表明,该系统可用于监测仪器的稳定性,并识别呼气测量过程中的技术异常值。

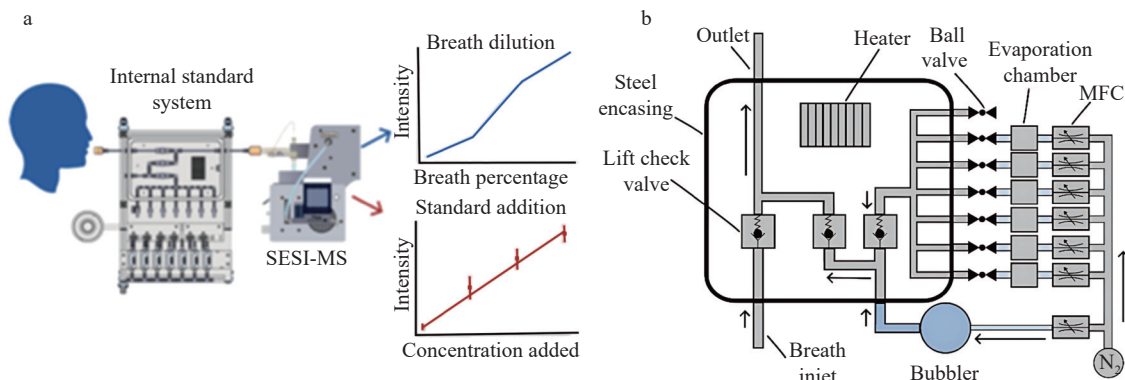


图 8 通过内部标准气体添加系统在线检测呼气成分流程示意图(a),内部气体标准添加系统俯视图(b)<sup>[81]</sup>  
Fig. 8 Schematic diagram of the process of online detection of breath composition by internal standard gas dosing system (a), top view of the internal gas standard dosing system (b)<sup>[81]</sup>

除气体输送部分外,分析仪器也需在标准条件下运行。考虑到仪器污染或环境因素可能导致背景变化,或影响方法的灵敏度与特异性,需要使用者定期对仪器进行校准和验证。此外,不同厂家质谱仪检测结果的可比性也需要进行比对和评估。通常情况下,不同厂家质谱仪的离子源装置、离子传输系统和质量分析器等都各具特点,这为标准化流程的推进带来了巨大挑战。检测仪器的标准化探索需要各团体、各实验室之间开展合作,前提是要制定高度标准化的呼气分析流程。因此,定义标准化的分析工具和测量流程是当前亟待完成的任务,需要呼气分析领域研究者的共同努力。

### 2.3 呼气标准物质

由于呼气成分具有复杂性和不稳定性,相关标准物质的研发已成为呼气分析领域的一大难题。从疾病标志物的统计结果来看,大多数疾病标志物由多种 VOCs 组成,极少存在特异性极强的单一标志物。为获取准确的分析结果,通常需要使用标准气混合物对仪器进行校准,以判断仪器状态并确保呼气分析结果的一致性。

如果在此过程中仪器背景发生明显变化,可能会对实验结果产生影响,导致批次效应。因此,呼气标准物质的研制及仪器的定期标准势必成为保证测量结果准确的重要环节。然而,人体呼气作为一种复杂的气态分散系统,除种类繁

多、含量低微的 VOCs 外,还含有大量水汽和不同尺寸的气溶胶液滴等成分,这使得呼气标准物质的制备非常困难<sup>[82]</sup>。首先,VOCs 气体分子在收集装置和气体管路上的吸附以及气溶胶液滴的冷凝,都可能导致标准物质浓度的改变,使其与样本中的浓度难以匹配;同时,成分稳定性差还会带来储存问题。其次,在呼气这种复杂的体系中,同分异构体的存在或化学反应等因素的干扰会对最终定量结果的准确性带来不可忽略的影响。因此,使用气体混合物校准时,需要考虑不同化合物之间的干扰。此外,呼气中检测到的许多化合物(例如氨基酸)具有极低的饱和蒸气压,获取可用于校准这类化合物的呼气标准物质具有极大的挑战性。

Fowler 等<sup>[83]</sup>通过热解吸技术对样品进行分离和回收,生成可用于评估系统适用性及纠正系统分析偏差的呼气混合质控样品。混合质控样品含有呼气样本复杂的 VOCs 基质,适用于离线 GC-MS 分析。该方法的缺点是难以控制混合质控样品中待测物的浓度,以及避免多次热解吸过程中 VOCs 在捕集阱中的积累问题。Zenobi 等<sup>[81]</sup>开发的气体输送系统可用于精确添加标准气,从而提高呼气分析的定量准确性和数据质量。在解决呼气标准物质缺乏等问题前,研究人员可采用目标物标准气体进行评估与验证,以提高呼气分析结果的准确性和重复性。

### 3 结论

呼气分析是现代医学领域的研究热点, 呼气中的特征 VOCs 作为疾病标志物为临床诊断提供了一种快速、便捷且非侵入式的检测方式。通过对人体呼气进行在线与离线分析, 可在短时间内连续监测代谢异常、病程发展及药物代谢等情况, 为疾病的临床诊断和治疗提供有价值的信息。目前, 呼气分析技术在多种疾病的诊断中已取得显著进展, 发现了醇、醛、酮、烷烃、烯烃以及芳香类化合物等多种类型的标志物。然而, 从疾病标志物的统计结果来看, 针对某一疾病特异性极强的单一标志物极少, 往往需要以多种 VOCs 的组合作为判断依据。此外, 疾病标志物含量也为疾病诊断提供了重要参考, 常被用于区分健康对照组与患者组。然而, 由于标准化流程的缺失, 对于同一疾病, 不同分析方法或实验室得到的结果可比性较差, 目前大多数疾病尚未出现公认的可用于临床诊断的单一标志物或组合标志物, 这已成为制约呼气分析在临床诊断应用的障碍。

随着在线、高灵敏 VOCs 分析技术的持续发展, 以及大数据、多组学信息的不断拓展, 用于疾病诊断的呼气分析标准化工作越来越受到重视。鉴于呼气成分及含量易受多种因素干扰, 未来标准化工作需要重点关注以下几个方面: 1) 制定标准化采样流程, 评估采样方法、患者生理状况和环境 VOCs 等因素对呼气分析结果的影响, 确保采样环节的可靠性和一致性; 2) 制定用于呼气 VOCs 分析的仪器参考标准, 尤其是针对高灵敏度和高分辨率的质谱分析方法, 监测由于仪器污染或者环境因素导致的仪器背景和灵敏度变化; 3) 研制用于呼气分析的相关标准物质, 解决典型疾病标志物筛选和量值溯源的难题。在线呼气分析技术及其标准化工作的不断推进, 将为疾病的临床诊治以及应对未来可能大规模爆发的呼吸系统传染病疫情提供必要的战略技术储备, 也为一些常态化的检测工作提供快速、便捷、可靠的方法。

#### 参考文献:

[1] RAHIMPOUR E, KHOUBNASABJAFARI M, JOUYBAN-GHARAMALEKI V, JOUYBAN A. Non-volatile compounds in exhaled breath condensate: review

of methodological aspects[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, 410(25): 6 411-6 440.

- [2] FENSKE J D, PAULSON S E. Human breath emissions of VOCs[J]. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 1999, 49(5): 594-598.
- [3] SCHEIDELER L, MANKE H G, SCHWULERA U, INACKER O, HÄMMERLE H. Detection of nonvolatile macromolecules in breath. A possible diagnostic tool?[J]. *The American Review of Respiratory Disease*, 1993, 148(3): 778-784.
- [4] HORVÁTH I, BARNES P J, LOUKIDES S, STERK P J, HÖGMAN M, OLIN A C, AMANN A, ANTUS B, BARALDI E, BIKOV A, BOOTS A W, BOS L D, BRINKMAN P, BUCCA C, CARPAGNANO G E, CORRADI M, CRISTESCU S, de JONGSTE J C, DINH-XUAN A T, DOMPELING E, FENS N, FOWLER S, HOHLFELD J M, HOLZ O, JÖBSIS Q, van de KANT K, KNOBEL H H, KOSTIKAS K, LEHTIMÄKI L, LUNDBERG J, MONTUSCHI P, van MUYLEM A, PENNAZZA G, REINHOLD P, RICCIARDOLO F L M, ROSIAS P, SANTONICO M, van der SCHEE M P, van SCHOOTEN F J, SPANEVELLO A, TONIA T, VINK T J. A European respiratory society technical standard: exhaled biomarkers in lung disease[J]. *The European Respiratory Journal*, 2017, 49(4): 1 600 965.
- [5] SHARMA A, KUMAR R, VARADWAJ P. Smelling the disease: diagnostic potential of breath analysis[J]. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2023, 27(3): 321-347.
- [6] PAULING L, ROBINSON A B, TERANISHI R, CARY P. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1971, 68(10): 2 374-2 376.
- [7] de LACY COSTELLO B, AMANN A, AL-KATEB H, FLYNN C, FILIPIAK W, KHALID T, OSBORNE D, RATCLIFFE N M. A review of the volatiles from the healthy human body[J]. *Journal of Breath Research*, 2014, 8(1): 014 001.
- [8] DRABIŃSKAN, FLYNN C, RATCLIFFE N, BELLUOMO I, MYRIDAKIS A, GOULD O, FOIS M, SMART A, DEVINE T, COSTELLO B L. A literature survey of all volatiles from healthy human breath and bodily fluids: the human volatilome[J]. *Journal of Breath Research*, 2021, doi: 310.1088/1752-7163/abf1d0.21Apr.2021,034001.
- [9] TREZZI J P, VLASSIS N, HILLER K. The role of metabolomics in the study of cancer biomarkers and in

- the development of diagnostic tools[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2015, 867: 41-57.
- [10] BRUDERER T, GAISL T, GAUGG M T, NOWAK N, STRECKENBACH B, MÜLLER S, MOELLER A, KOHLER M, ZENOBI R. On-line analysis of exhaled breath focus review[J]. *Chemical Reviews*, 2019, 119(19): 10 803-10 828.
- [11] RYDOSZ A. Sensors for enhanced detection of acetone as a potential tool for noninvasive diabetes monitoring[J]. *Sensors*, 2018, 18(7): 2 298.
- [12] AFREEN S, ZHU J. Rethinking EBAD: evolution of smart noninvasive detection of diabetes[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2019, 118: 477-487.
- [13] SHRESTHA A, PRODHAN U K, MITCHELL S M, SHARMA P, BARNETT M P G, MILAN A M, CAMERON-SMITH D. Validity of a portable breath analyser (AIRE) for the assessment of lactose malabsorption[J]. *Nutrients*, 2019, 11(7): 1 636.
- [14] MAO X, TAN Y, YE H, YUAN T, PENG Y, ZHENG P. Photoacoustic spectroscopy-based breath analysis for SIBO[J]. *ACS Sensors*, 2023, 8(12): 4 728-4 736.
- [15] SOM S, MAITY A, BANIK G D, GHOSH C, CHAUDHURI S, DASCHAKRABORTY S B, GHOSH S, PRADHAN M. Excretion kinetics of <sup>13</sup>C-urea breath test: influences of endogenous CO<sub>2</sub> production and dose recovery on the diagnostic accuracy of helicobacter pylori infection[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406(22): 5 405-5 412.
- [16] RISCASSI S, CORRADI M, ANDREOLI R, MACCARI C, MERCOLINI F, PESCOLLDERUNGG L, CAFFARELLI C. Nitric oxide products and aldehydes in exhaled breath condensate in children with asthma[J]. *Clinical & Experimental Allergy*, 2022, 52(4): 561-564.
- [17] LÖSER B, GRABENSCHRÖER A, PUGLIESE G, SUKUL P, TREFZ P, SCHUBERT J K, MIEKISCH W. Changes of exhaled volatile organic compounds in post-operative patients undergoing analgesic treatment: a prospective observational study[J]. *Metabolites*, 2020, 10(8): 321.
- [18] HERBIG J, BEAUCHAMP J. Towards standardization in the analysis of breath gas volatiles[J]. *Journal of Breath Research*, 2014, 8(3): 037 101.
- [19] HANNA G B, BOSHIER P R, MARKAR S R, ROMANO A. Accuracy and methodologic challenges of volatile organic compound-based exhaled breath tests for cancer diagnosis: a systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Oncology*, 2019, 5(1): e182815.
- [20] LIU K, LIN M, ZHAO Z, ZHANG K, YANG S. Rational design and application of breath sensors for health-care monitoring[J]. *ACS Sensors*, 2025, 10(1): 15-32.
- [21] HASHOUL D, HAICK H. Sensors for detecting pulmonary diseases from exhaled breath[J]. *European Respiratory Review*, 2019, 28(152): 190 011.
- [22] PERSAUD K, DODD G. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose[J]. *Nature*, 1982, 299(5 881): 352-355.
- [23] CALVINI R, PIGANI L. Toward the development of combined artificial sensing systems for food quality evaluation: a review on the application of data fusion of electronic noses, electronic tongues and electronic eyes[J]. *Sensors*, 2022, 22(2): 577.
- [24] WOJNOWSKI W, DYMERSKI T, GĘBICKI J, NAMIEŚNIK J. Electronic noses in medical diagnostics[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2019, 26(1): 197-215.
- [25] SANKAR K, KUZMANOVIĆ U, SCHAUS S E, GALAGAN J E, GRINSTAFF M W. Strategy, design, and fabrication of electrochemical biosensors: a tutorial [J]. *ACS Sensors*, 2024, 9(5): 2 254-2 274.
- [26] HENDRICK H, HIDAYAT R, HORNG G J, WANG Z H. Non-invasive method for tuberculosis exhaled breath classification using electronic nose[J]. *IEEE Sensors Journal*, 2021, 21(9): 11 184-11 191.
- [27] SAINI A, YADAV N. A new paradigm of E-nose technology for the non-invasive and early lung cancer diagnostics[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2025, 512: 162 155.
- [28] SHANG G, DINH D, MERCER T, YAN S, WANG S, MALAEI B, LUO J, LU S, ZHONG C. Chemiresistive sensor array with nanostructured interfaces for detection of human breaths with simulated lung cancer breath VOCs[J]. *ACS Sensors*, 2023, 8(3): 1 328-1 338.
- [29] HU J, QIAN H, HAN S, ZHANG P, LU Y. Light-activated virtual sensor array with machine learning for non-invasive diagnosis of coronary heart disease[J]. *Nano-Micro Letters*, 2024, 16(1): 274.
- [30] AMIRAV A, NEUMARK B, ELKABETS O, YAKOVCHUK A. Cold EI-the way to improve GC-MS and increase its range of applications[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2025, doi: <https://doi.org/10.1002/mas.21928>.
- [31] SAKUMURA Y, KOYAMA Y, TOKUTAKE H, HIDA T, SATO K, ITOH T, AKAMATSU T, SHIN W. Diagnosis by volatile organic compounds in exhaled breath

- from lung cancer patients using support vector machine algorithm[J]. *Sensors*, 2017, 17(2): 287.
- [32] SU R, YANG T, ZHANG X, LI N, ZHAI X, CHEN H. Mass spectrometry for breath analysis[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2023, 158: 116-823.
- [33] RUDNICKA J, KOWALKOWSKI T, BUSZEWSKI B. Searching for selected VOCs in human breath samples as potential markers of lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2019, 135: 123-129.
- [34] SCHLEICH F N, ZANELLA D, STEFANUTO P H, BESSONOV K, SMOLINSKA A, DALLINGA J W, HENKET M, PAULUS V, GUISSARD F, GRAFF S, MOERMANS C, WOUTERS E F M, van STEEN K, van SCHOOTEN F J, FOCANT J F, LOUIS R. Exhaled volatile organic compounds are able to discriminate between neutrophilic and eosinophilic asthma[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2019, 200(4): 444-453.
- [35] MONDELLO L, CORDERO C, JANSSEN H G, SYNOVEC R E, ZOCCALI M, TRANCHIDA P Q. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Nature Reviews Methods Primers*, 2025, 5: 7.
- [36] SMITH D, ŠPANĚL P, DEMARAIS N, LANGFORD V S, McEWAN M J. Recent developments and applications of selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS)[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2025, 44(2): 101-134.
- [37] ŠPANĚL P, SMITH D. Selected ion flow tube: a technique for quantitative trace gas analysis of air and breath[J]. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 1996, 34(6): 409-419.
- [38] MILLIGAN D B, FRANCIS G J, PRINCE B J, McEWAN M J. Demonstration of selected ion flow tube MS detection in the parts per trillion range[J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 79(6): 2 537-2 540.
- [39] SMITH D, McEWAN M J, ŠPANĚL P. Understanding gas phase ion chemistry is the key to reliable selected ion flow tube-mass spectrometry analyses[J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(19): 12 750-12 762.
- [40] PERKINS M J, LANGFORD V S. Standard validation protocol for selected ion flow tube mass spectrometry methods applied to direct headspace analysis of aqueous volatile organic compounds[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(24): 8 386-8 392.
- [41] La NASA J, MODUGNO F, COLOMBINI M P, DEGANI I. Validation study of selected ion flow tube-mass spectrometry (SIFT-MS) in heritage science: characterization of natural and synthetic paint varnishes by portable mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2019, 30(11): 2 250-2 258.
- [42] CASTADA H Z, WICK C, TAYLOR K, JAMES HARPER W. Analysis of selected volatile organic compounds in split and nonsplit Swiss cheese samples using selected-ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS)[J]. *Journal of Food Science*, 2014, 79(4): C489-C498.
- [43] TSOU P H, LIN Z, PAN Y, YANG H, CHANG C, LIANG S, WEN Y, CHANG C, CHANG L, YU K, LIU C, KENG L, LEE M R, KO J C, HUANG G, LI Y. Exploring volatile organic compounds in breath for high-accuracy prediction of lung cancer[J]. *Cancers*, 2021, 13(6): 1 431.
- [44] NAKAYAMA Y, HANADA M, KODA H, SUGIMOTO M, TAKADA M, TOI M. Breast cancer detection using volatile compound profiles in exhaled breath *via* selected ion-flow tube mass spectrometry[J]. *Journal of Breath Research*, 2023, 17(1): 016 006.
- [45] SEGERS K, SLOSSE A, VIAENE J, BANNIER M A G E, van de KANT K D G, DOMPELING E, van EECKHAUT A, VERCAMMEN J, VANDER HEYDEN Y. Feasibility study on exhaled-breath analysis by untargeted selected-ion flow-tube mass spectrometry in children with cystic fibrosis, asthma, and healthy controls: comparison of data pretreatment and classification techniques[J]. *Talanta*, 2021, 225: 122 080.
- [46] ROMANI A, MARRONE G, CELOTTO R, CAMPO M, VITA C, CHIARAMONTE C, CARRETTA A, Di DANIELE N, NOCE A. Utility of SIFT-MS to evaluate volatile organic compounds in nephropathic patients' breath[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 10 413.
- [47] BELLUOMO I, BOSHIER P R, MYRIDAKIS A, VADHWANA B, MARKAR S R, SPANEL P, HANNA G B. Selected ion flow tube mass spectrometry for targeted analysis of volatile organic compounds in human breath[J]. *Nature Protocols*, 2021, 16(7): 3 419-3 438.
- [48] LANGFORD V S, DRYAHINA K, ŠPANĚL P. Robust automated SIFT-MS quantitation of volatile compounds in air using a multicomponent gas standard[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2023, 34(12): 2 630-2 645.
- [49] BELLUOMO I, WHITLOCK S E, MYRIDAKIS A, PARKER A G, CONVERSO V, PERKINS M J, LANGFORD V S, ŠPANĚL P, HANNA G B. Combin-

- ing thermal desorption with selected ion flow tube mass spectrometry for analyses of breath volatile organic compounds[J]. *Analytical Chemistry*, 2024, 96(4): 1 397-1 401.
- [50] TAUCHER J, LAGG A, HANSEL A, VOGEL W, LINDINGER W. Methanol in human breath[J]. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 1995, 19(5): 1 147-1 150.
- [51] ZHAN X, DUAN J, DUAN Y. Recent developments of proton-transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS) and its applications in medical research[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2013, 32(2): 143-165.
- [52] YUAN B, KOSS A R, WARNEKE C, COGGON M, SEKIMOTO K, de GOUW J A. Proton-transfer-reaction mass spectrometry: applications in atmospheric sciences[J]. *Chemical Reviews*, 2017, 117(21): 13 187-13 229.
- [53] ZHANG X, FRANKEVICH V, DING J, MA Y, CHINGIN K, CHEN H. Direct mass spectrometry analysis of exhaled human breath in real-time[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2025, 44(1): 43-61.
- [54] de GOUW J, WARNEKE C. Measurements of volatile organic compounds in the earth's atmosphere using proton-transfer-reaction mass spectrometry[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2007, 26(2): 223-257.
- [55] ROMANO A, DORAN S, BELLUOMO I, HANNA G B. High-throughput breath volatile organic compound analysis using thermal desorption proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2018, 90(17): 10 204-10 210.
- [56] JORDAN A, HAIDACHER S, HANEL G, HARTUNGEN E, MÄRK L, SEEHAUSER H, SCHOTTKOWSKY R, SULZER P, MÄRK T D. A high resolution and high sensitivity proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometer (PTR-TOF-MS)[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2009, 286(2/3): 122-128.
- [57] ZOU X, WANG H, GE D, LU Y, XIA L, HUANG C, SHEN C, CHU Y. On-line monitoring human breath acetone during exercise and diet by proton transfer reaction mass spectrometry[J]. *Bioanalysis*, 2019, 11(1): 33-40.
- [58] JIA Z, ONG W Q, ZHANG F, DU F, THAVASI V, THIRUMALAI V. A study of 9 common breath VOCs in 504 healthy subjects using PTR-TOF-MS[J]. *Metabolomics*, 2024, 20(4): 79.
- [59] XU W, ZOU X, DING Y, ZHANG J, ZHENG L, ZUO H, YANG M, ZHOU Q, LIU Z, GE D, ZHANG Q, SONG W, HUANG C, SHEN C, CHU Y. Rapid screen for ventilator associated pneumonia using exhaled volatile organic compounds[J]. *Talanta*, 2023, 253: 124 069.
- [60] FINK H, MAIHÖFER T, BENDER J, SCHULAT J. Indole as a new tentative marker in exhaled breath for non-invasive blood glucose monitoring of diabetic subjects[J]. *Journal of Breath Research*, 2022, doi: 210.1088/1752-7163/ac4610.7Jan.2022.
- [61] BAO X, LIANG Q, ZHANG Q, ZOU X, HUANG C, SHEN C, CHU Y. Increased sensitivity in VOC detection by using a novel photoinduced multiple ionization mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2025, 97(8): 4 473-4 480.
- [62] CHEN H, VENTER A, COOKS R G. Extractive electrospray ionization for direct analysis of undiluted urine, milk and other complex mixtures without sample preparation[J]. *Chemical Communications*, 2006(19): 2 042-2 044.
- [63] QIN M, QIAN Y, HUANG L, ZHONG C, LI M, YU J, CHEN H. Extractive electrospray ionization mass spectrometry for analytical evaluation and synthetic preparation of pharmaceutical chemicals[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14: 1 110 900.
- [64] LI X, HU B, DING J, CHEN H. Rapid characterization of complex viscous samples at molecular levels by neutral desorption extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Nature Protocols*, 2011, 6(7): 1 010-1 025.
- [65] DR H C, WORTMANN A, ZHANG W, DR R Z P. Rapid *in vivo* fingerprinting of nonvolatile compounds in breath by extractive electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2007, 46(4): 580-583.
- [66] ZUO W, BAI W, GAN X, XU F, WEN G, ZHANG W. Detection of lung cancer by analysis of exhaled gas utilizing extractive electrospray ionization-mass spectroscopy[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2019, 15(4): 633-646.
- [67] WU X, ZHANG J, YAN X, ZHU Y, LI W, LI P, CHEN H, ZHANG W, CHENG N, XIANG T. Characterization of liver failure by the analysis of exhaled breath by extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS): a pilot study[J]. *Analytical Letters*, 2021, 54(6): 1 038-1 054.
- [68] CHOU H, GODBEER L, ALLSWORTH M, BOYLE B, BALL M L. Progress and challenges of developing volatile metabolites from exhaled breath as a biomarker platform[J]. *Metabolomics*, 2024, 20(4): 72.

- [69] LI Q, FU X, XU K, HE H, JIANG N. A stability study of carbonyl compounds in Tedlar bags by a fabricated MEMS microreactor approach[J]. *Microchemical Journal*, 2021, 160: 105-111.
- [70] WESTPHAL K, DUDZIK D, WASZCZUK-JANKOWSKA M, GRAFF B, NARKIEWICZ K, MARKUSZEWSKI M J. Common strategies and factors affecting off-line breath sampling and volatile organic compounds analysis using thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry (TD-GC-MS)[J]. *Metabolites*, 2022, 13(1): 8.
- [71] BEAUCHAMP J. Inhaled today, not gone tomorrow: pharmacokinetics and environmental exposure of volatiles in exhaled breath[J]. *Journal of Breath Research*, 2011, 5(3): 037-103.
- [72] BEAUCHAMP J, KIRSCH F, BUETTNER A. Real-time breath gas analysis for pharmacokinetics: monitoring exhaled breath by on-line proton-transfer-reaction mass spectrometry after ingestion of eucalyptol-containing capsules[J]. *Journal of Breath Research*, 2010, 4(2): 026-006.
- [73] MIEKISCH W, SCHUBERT J K, NOELDEG-SCHOMBURG G F E. Diagnostic potential of breath analysis-focus on volatile organic compounds[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2004, 347(1/2): 25-39.
- [74] ZHANG X, REN X, ZHONG Y, CHINGIN K, CHEN H. Rapid and sensitive detection of acetone in exhaled breath through the ambient reaction with water radical cations[J]. *The Analyst*, 2021, 146(16): 5 037-5 044.
- [75] MIEKISCH W, SUKUL P, SCHUBERT J K. Diagnostic potential of breath analysis-Focus on the dynamics of volatile organic compounds[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2024, 180: 117-977.
- [76] HARSHMAN S W, PITSCH R L, DAVIDSON C N, LEE E M, SCOTT A M, HILL E M, MAINALI P, BROOKS Z E, STRAYER K E, SCHAEUBLIN N M, WIENS T L, BROTHERS M C, DRUMMOND L A, YAMAMOTO D P, MARTIN J A. Evaluation of a standardized collection device for exhaled breath sampling onto thermal desorption tubes[J]. *Journal of Breath Research*, 2020, 14(3): 036-004.
- [77] NOWAK N, ENGLER A, THIEL S, STÖBERL A S, SINUES P, ZENOBI R, KOHLER M. Validation of breath biomarkers for obstructive sleep apnea[J]. *Sleep Medicine*, 2021, 85: 75-86.
- [78] SHARMA R, ZANG W, ZHOU M, SCHAFFER N, BEGLEY L A, HUANG Y, FAN X. Real time breath analysis using portable gas chromatography for adult asthma phenotypes[J]. *Metabolites*, 2021, 11(5): 265.
- [79] SUKARAM T, APIPARAKOON T, TIYARAT-TANACHAI T, ARIYASKUL D, KULKRAISRI K, MARUKATAT S, RERKNIMITR R, CHAITEERAKIJ R. VOCs from exhaled breath for the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Diagnostics*, 2023, 13(2): 257.
- [80] 李杨, 李庆运, 徐楚婷, 阮慧文, 赵琨, 花磊, 李海洋. 基于呼出气挥发性有机物检测的肺癌筛查技术研究进展[J]. *分析化学*, 2022, 50(2): 183-197.
- LI Yang, LI Qingyun, XU Chuting, RUAN Huiwen, ZHAO Kun, HUA Lei, LI Haiyang. Research progress of lung cancer screening technology based on detection of exhaled volatile organic compounds[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2022, 50(2): 183-197(in Chinese).
- [81] WÜTHRICH C, KÄSER T, ZENOBI R, GIANNOUKOS S. Internal standard addition system for online breath analysis[J]. *Analytical Chemistry*, 2024, 96(27): 10 871-10 876.
- [82] WANG C C, PRATHER K A, SZNITMAN J, JIMENEZ J L, LAKDAWALA S S, TUFEKCI Z, MARR L C. Airborne transmission of respiratory viruses[J]. *Science*, 2021, 373(6 558): eabd9149.
- [83] AHMED W, WILKINSON M, FOWLER S J. Generating pooled quality control samples of volatile organic compounds[J]. *Journal of Breath Research*, 2024, doi: 10.1088/1752-7163/ad7977.

(收稿日期: 2025-05-25; 修回日期: 2025-07-07)