

呼吸气体的直接质谱分析

王海东¹ 潘素素¹ 张燕¹ 屈颖¹ 韩超² 陈焕文^{1*}(¹ 东华理工大学 / 江西省质谱科学与仪器重点实验室 江西南昌 330013 ;² 温州出入境检验检疫局 浙江温州 325027)

摘要 呼吸气体携带重要的人体生理 / 病理状态的信息, 且具有非侵入性、无创、方便、连续可得等特点, 受到相关研究人员越来越多的重视。呼吸气体的检测在代谢组学、临床医学、安全卫生等领域中具有重要意义。同传统的色谱质谱检测技术相比, 直接质谱分析技术在呼吸气体的检测中具有高灵敏度、高选择性、低损耗的特点, 真正达到了实时在线、原位活体分析的要求。本文介绍了质子转移反应质谱(PTR-MS)、选择离子流动管质谱(SIFT-MS)以及电喷雾萃取电离质谱(EESI-MS)三种直接质谱分析方法的原理及其在呼吸气体检测中的应用实例, 并展望了呼吸气体检测的应用前景和发展方向。

关键词 呼吸气体 ; 质子转移反应质谱 ; 选择离子流动管质谱 ; 电喷雾萃取电离质谱

中图分类号 TH843

Analysis of Breathing Gas by Direct Mass Spectrometry Techniques

Wang Haidong¹, Pan Susu¹, Zhang Yan¹, Qu Ying¹, Han Chao², Chen Huanwen^{1*}(¹ East China Institute of Technology, Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation, Jiangxi Nanchang 330013; ² Wenzhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau of P.R.C, Zhejiang Wenzhou 325027)

Abstract Breathing gas is receiving more and more attentions from researchers for the important physiological/pathological information it carries, and its non-invasive, conveniently and continuously available nature. Detection of breathing gas is very important in studying the mechanism of human metabolism, clinical medicine, health and safety. Compared to traditional chromatography-mass spectrometry detection, direct mass spectrometric analysis for detecting breathing gas is a real-time, online and in-vivo technique with high sensitivity and low-loss requirements. In this article, we reviewed three kinds of direct mass spectrometry techniques: proton transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS), selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS), and the extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS) with their applications breathing gas detection. We also discussed the prospects and development of breathing gas detection.

Key words Breathing gas; PTR-MS; SIFT-MS; EESI-MS

在现代医学研究中, 血液、尿液和其它人体体液因携带有反应人体生理 / 病理状态的信息, 而广泛应用于疾病的诊断与治疗监控^[1-4]。然而, 血液取样是一种损伤性、侵入性的取样方法, 不能频繁采集, 且会给被检者带来一定的痛苦和不便; 尿液取样与血液取样相比, 虽然无损、方便, 但周期较长, 而且存在个人隐私问题^[5,6]。

人体呼吸气体携带大量的生理 / 病理信息, 且作为非侵入性样品, 具有取样简便、连续可得等特点, 在临床诊断和代谢组学研究中发挥着日益重要的作用。西医中最初提出呼吸气体包含着分子信息观点的是希腊医药之父 Hippocrates, 他认为这些分子信息反映着人体生理状况是否正常^[7]。然而, 当人体出现口气、身臭、病室之气等明显现象时, 一般均为危重病症候。为了分析并判断病情, 现在的

呼吸诊断主要根据病理及生理改变寻找一种或几种与疾病高度相关的呼吸气体成分, 即生物标志物 (biomarker)。

小分子物质(乙醇、一氧化氮、丁烷、丙酮等)作为人体呼吸气体中的重要成分, 它的存在和含量常常和人体健康有密切关系^[8]。人体机体的代谢机理研究方面, 如通过对呼吸气体中的¹³C 苯丙氨酸来研究健康成人苯丙氨酸的代谢过程^[9]; 通过对呼吸气体中乙醇分子的监控来研究乙醇在机体内的代谢规律。在临床医学方面, 呼吸气体中的小分子物质的出现及其含量与很多疾病密切相关。如, 在肺癌的早期诊断和高危人群的筛选, 呼吸气体中烃类及烃类衍生物含量的测定, 为肺癌的临床诊断提供了可能的依据^[10]; 呼出气中 NO 含量与哮喘症相关^[11-13]; 呼吸气体中异戊二烯含量与精神分裂症相关^[14]等

收稿时间 2013-08-19

基金资助 江西省科技支撑计划项目(2010BSA10200)、国家质检总局科技项目(2011IK248)和浙江省科技厅公益项目(2011C23120)资助

作者简介 王海东(1985-)男, 内蒙古赤峰人, 讲师, 有机质谱分析

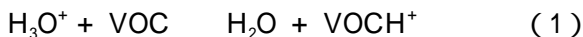
通信作者 陈焕文(1973-)男, 江西兴国人, 教授, 从事分析化学研究

等。综上所述,呼吸气体检测具有重要的研究价值,不但能够推动科学研究发展,而且可以服务于人类生存和健康,有望成为一种新型临床检测手段^[15-20]。

质谱法因其灵敏度高、特异性好、响应速度快等优点在呼吸气体分析检测中得到了广泛的应用。由于呼吸气体中含有大量的挥发性有机化合物(VOCs)^[21],所以传统检测呼吸气体的质谱方法以气相色谱质谱联用(GC-MS)为主,但是这种方法耗时费力,不能满足实时在线检测的需求^[22]。此外,在采样或浓缩过程中还可能造成样品污染或损失从而对检测结果产生干扰^[23]。随着科学技术的发展,直接质谱技术在呼吸气体检测方面得到了广泛的重视,如质子转移反应质谱(PTR-MS)和选择离子流动管质谱(SIFT-MS),以及近几年新兴的电喷雾萃取电离质谱(EESI-MS)。这些质谱分析方法无需对样品进行分离、富集、衍生化等前处理过程,从而避免了样品污染和损耗,真正实现了呼吸气体实时、在线检测分析。

1 质子转移反应质谱(PTR-MS)

质子转移反应质谱(PTR-MS)是由Lindinger等人^[24,25]结合化学电离源技术与流动漂移管模型技术而提出的一种基于质子转移反应的软电离质谱技术。目前,质子转移反应质谱(PTR-MS)主要应用于实时在线检测气体样品中痕量可挥发性的有机化合物(VOCs)。其详细原理已有许多相关报道^[25-27],示意图见图1。简单地说,纯净的水蒸气经过空心阴极放电电离源产生质子化的水分子(H_3O^+), H_3O^+ 经过放电区域后进入漂移管,在漂移管中 H_3O^+ 与待测的VOCs样品发生碰撞,由于大多数VOCs质子亲和势大于水, H_3O^+ 与VOCs发生质子转移反应, H_3O^+ 将质子转移给待测VOCs使其离子化,离子化的VOCs再经过质谱进行分析检测。质子转移反应公式见(1)。



质子转移反应质谱(PTR-MS)凭借其实时在线监测能力,高灵敏度,检测速度快,测量不需要定标,无须复杂前处理过程等优势在呼吸气体中可挥发性小分子检测分析方面得以广泛应用。

在一项临床医学的研究中,Wehinger等人^[28]利用PTR-MS技术对原发性肺癌患者以及健康志愿者的呼吸气体样本进行了检测。研究过程中,发现原发性肺癌患者的样本中,质荷比为31(质子甲醛)和43(异丙醇的碎片离子)质谱峰明显高于健

康志愿者。原发性肺癌患者中甲醛和异丙醇浓度明显高于对照组健康志愿者,原发性肺癌患者分别为7.0ppbv和244.1ppbv,健康志愿者分别为3.0ppbv和94.1ppbv。这项研究通过呼吸气体中甲醛和异丙醇的监测,能够明显的将原发性肺癌患者与健康人群区分开来,为临床诊断提供一种新的方法。

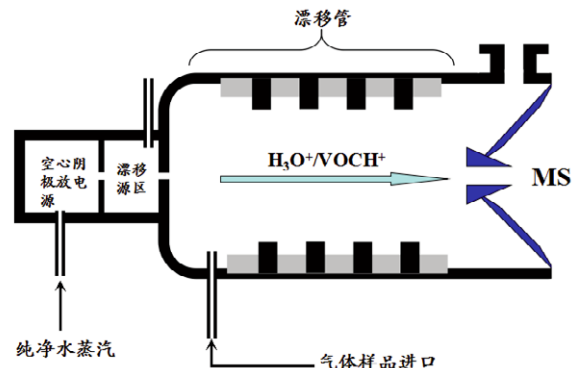


图1 质子转移反应质谱原理示意图

Fig.1 Schematic diagram of principle of PTR-MS

Kohl等人^[29]将PTR-MS技术应用于肾病生物标志物的定性分析方面。该实验对肾功能不全患者及健康志愿者的呼吸气体样本进行了分析,发现肾病患者样本中质荷比为114的质谱峰丰度明显高于肾功能正常志愿者,研究人员推测该化合物为肾病生物标志物肌酐,同时利用PTR-TOF-MS正离子模式下测得该化合物质谱峰为114.1035,确定此化合物为肌酐。通过PTR-MS对呼吸气体中肾病生物标志物进行定性定量分析从而对肾功能进行诊断将是今后临床医学的一种重要方法。

2 选择离子流动管质谱(SIFT-MS)

选择离子流动管质谱(SIFT-MS)是另一种由Smith等人^[30]提出的相对比较新的直接检测质谱技术,主要用来实时在线检测呼吸气体和空气中痕量可挥发性有机化合物(VOCs),其详细原理在很多文献当中都有过报道^[27,30-32],示意图见图2。实验过程中,水蒸气和空气经过微波放电电离源产生 H_3O^+ , NO^+ , O_2^+ 三种初级试剂离子,然后经过第一个四级杆进行质量分离选择,选择的初级试剂离子被高流速的惰性载气流带入流动管中,与流动管中的待测VOCs样品发生分子离子反应。待测VOCs样品会根据质子亲和势与 H_3O^+ 发生质子转移反应,如公式(1);如果需要选择的初级试剂离子为 NO^+ , O_2^+ ,则待测VOCs样品会依据电离能与其发生电荷转移反应,如公式(2)。离子化的待测VOCs样品会进入

下一个四级杆质量分析器进行质量分离检测。

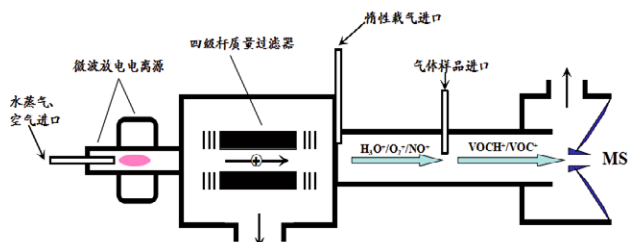


图2 选择离子流动管质谱原理示意图

Fig.2 Schematic diagram of principle of SIFT-MS

选择离子流动管质谱(SIFT-MS)除了实时的分析检测能力外,其在呼吸气体检测领域还有其他一些优势,在实验过程中有三种可选择的试剂离子,这样不但可以提高仪器的检测能力,而且呼吸气体中小分子与不同的初级试剂离子反应得到不同的质谱图,从而对其中生物标志物进行明确的定性分析。

Dryahina 等人^[33]利用 SIFT-MS 对肠道疾病的潜在小分子生物标志物戊烷进行研究,实验过程中选择质荷比(m/z)为 42 和 72 的两个质谱峰为特征离子对克罗恩病患者、溃疡性结肠炎患者以及健康志愿者呼出气中戊烷进行了定量分析。通过计算结果发现,克罗恩病(114ppbv)和溃疡性结肠炎患者(84ppbv)呼出气中戊烷浓度要明显高于健康志愿者(40ppbv)。这种方法为非侵入性炎症肠道疾病的预防与检查技术提供了坚实的实践基础。

Turner 等人^[34]采用 SIFT-MS 对 30 位健康志愿者(19 位男性,11 位女性)进行为期六个月呼出气中乙醇和乙醛的监测,实验测得正常人呼出气中乙醇浓度在 0 到 1663ppb 之间,平均值为 450ppb,乙醛浓度在 0 到 104ppb 之间,平均值为 41ppb,背景环境中的乙醇大概为 50ppb,但是几乎没有检测到环境中的乙醛。这些利用 SIFT-MS 获得的健康志愿者呼出气体数据为后期临床诊断奠定了一定的理论基础。

3 电喷雾萃取电离质谱(EESI-MS)

电喷雾萃取电离质谱(EESI-MS)^[35-40]是常压快速质谱分析技术的一种,具有现代质谱技术高灵敏度、高特异性的特点,克服了传统质谱技术需要对样品进行预处理的障碍,提高了分析效率。更重要的是,EESI 的样品引入和电离是相对独立的,中性样品(如生命体)无需直接接触高压电和化学试剂,

十分安全,能够满足原位活体实时在线分析的需求。在 EESI-MS 中,溶剂(如水或甲醇等)在一个 ESI 的试剂通道中,在高电压作用下产生带电荷的试剂离子,形成 EESI 中的试剂通道,样品在样品通道中通过高压载气(N_2)的作用而被雾化,形成微小的不带电荷的中性液滴,如图 3(a)。实验时,这两个独立通道喷雾后产生的微小液滴在质谱仪的入口前的三维空间内进行交叉碰撞,在极短时间内发生在线液-液微萃取,从而使样品中待测物被溶剂萃取并离子化,所形成的待测物离子被引入到质谱检测器中进行质量分析,得到相应的质谱图^[41-43],如图 3(b)。

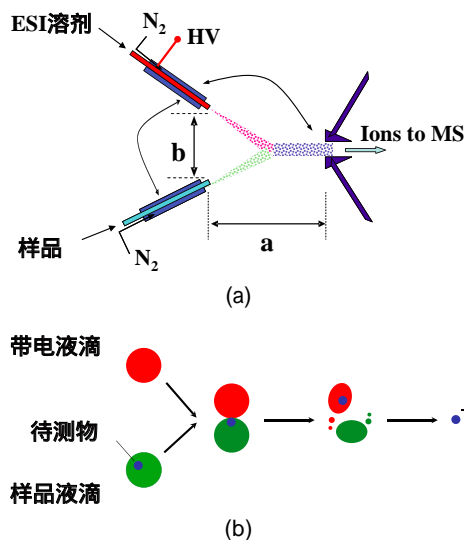


图3 电喷雾萃取电离质谱原理示意图

(a) 电喷雾萃取电离源装置示意图 (b) 电喷雾萃取电离源液滴-液滴碰撞萃取示意图

Fig.3 Schematic diagram of principle of typical EESI-MS

(a) Schematic diagram of device about EESI

(b) Schematic diagram of extraction between droplets

同 PTR-MS 及 SIFT-MS 相比,EESI-MS 在呼吸气体检测方面最大的优势就是不仅能检测其中含有的挥发性分子,还能够检测非挥发性分子,EESI 通过与 TOF-MS 耦合首次检测到呼吸气体中含有的少量非挥发性分子(如尿素和葡萄糖)这些非挥发性物质携带有更多的生命过程或生理/病理状态的信息,是真正能够反映人体健康状态的标志物^[36,44]。

EESI 耦合商品化 LTQ-MS,能在 1s 内快速获得呼吸气体样品指纹谱图。对中医确诊为阴虚/阳虚证患者和健康人的呼吸气体进行活体 EESI-MS 分析,结合主成分分析(PCA)方法,对阴虚、阳虚、阴阳两虚和健康人群的指纹谱图进行区分(图 4)。采用随机选取未知人群呼吸气体样本进行验证,结

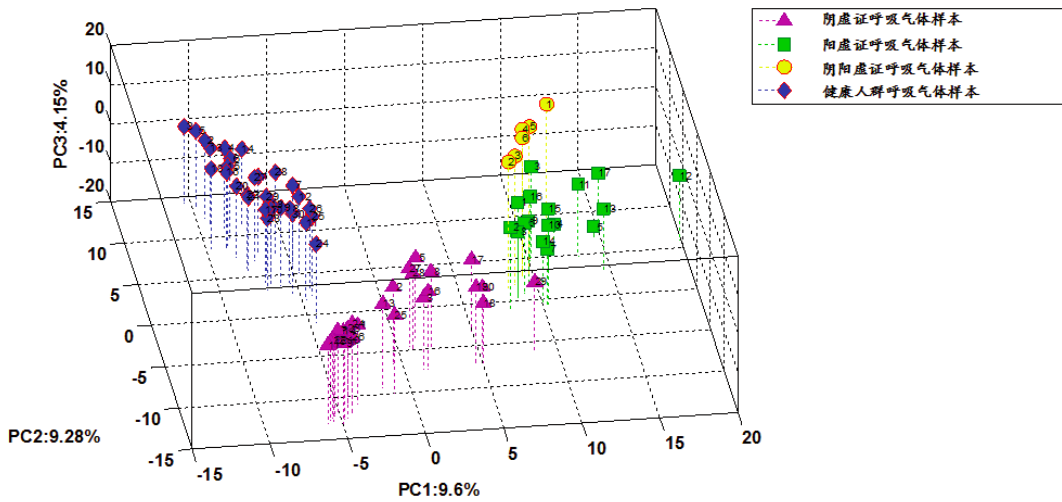


图4 阴虚 / 阳虚证和健康志愿者的 EESI-MS 呼吸气体指纹谱图的 PCA 三维得分结果

Fig. 4 Three-dimensional plots of the principal component analysis (PCA) result for breath samples from yin/yang/yin and yang deficiency syndrome volunteers

果匹配。EESI 耦合高分辨质谱或者结合多级串联质谱分析,还可对指纹谱图中发现的任何感兴趣组分进行分子式和结构鉴定,既满足了快速检测的需要,又确保了测量结果的可靠性。

由于呼吸气体中一些物质(如乙腈、一氧化氮等)的质子亲和势低,较难质子化,而且含量较低,无法采用常规的分析测试技术(如气相色谱法、气相色谱-质谱联用法)进行原位、实时、灵敏、在线检测。EESI-MS 能够通过分子-离子反应和离子-离子反应,提高分析的选择性和可靠性,实现呼吸气体中痕量成分的快速、灵敏检测。

EESI-MS 应用于呼吸气体中乙腈分子的检测具有灵敏度高、精密度好、分析速度快、特异性强等特点,并且能够承受呼吸气体中复杂基体的影响,适合于呼吸气体中痕量乙腈的直接定量检测^[45]。采用银离子为试剂离子,在优化的实验条件下,结合多级串联质谱,有效地获得了人体呼吸气体中乙腈含量的信息。对气相乙腈的检出限为 5.71pL/L,线性范围为 76.4 ~ 1910pL/L。以两名健康志愿者呼吸气体为实例,实际检测了其中乙腈的含量分别为 134.49、104.40pL/L,相对标准偏差(RSD)分别为 6.3%、7.2%。通过考察人体吸烟后呼吸气体中乙腈含量的变化情况,发现吸烟后 1-2 小时内呼吸气体中乙腈含量达到峰值,约 4 小时回到初始水平,具体时间因个人体质不同而有所差异。研究还发现,不同于以往报道的其它有机小分子,乙腈在呼吸系统内不是采取简单扩散方式排出体外,而是在某种蛋白协同作用下通过易化扩散方式进行代谢。

以专一性的一氧化氮(NO)清除剂 PTIO 作为吸收剂,采用 EESI-MS 技术对人体呼吸气体中的 NO 进行了快速检测。通过考察吸烟后 10 小时内人体呼吸气体中 NO 浓度(FeNO)的变化,发现吸烟后 FeNO 立即下降,在降至最低点前(约 30min)会回升,约 1h 降至最低点,3h 后 FeNO 恢复到正常水平(如图 5 所示)。采用同样方法,对阴虚 / 阳虚证患者和健康人的 FeNO 进行对比,发现阴虚 / 阳虚证患者的 FeNO 明显高于正常人。

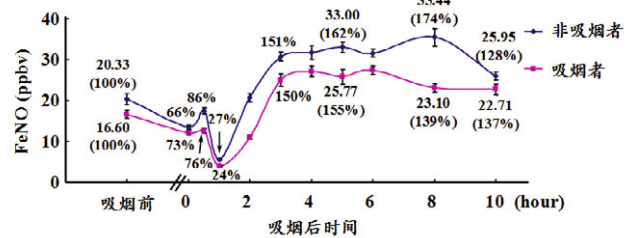


图5 吸烟前和吸烟后 10 小时内 FeNO 的变化。数据点取平均(括号内为相对基线的百分比)

Fig. 5 Dynamic changes of NO levels in the exhaled breath of 20 volunteers (both of the smokers and non-smokers) before and within 10 hours after smoking. Data are expressed as mean values (percentage of baseline)

EESI-MS 灵敏度高、精密度好、分析速度快、特异性强,能够承受呼吸气体中复杂基体的影响,快速获得呼吸气体指纹谱图,且适用于呼吸气体中痕量乙腈和 NO 的直接定性定量检测,也可为呼吸气体中其它小分子物质的检测提供新思路,是活体代谢组学和临床诊断研究的一种有效实用的分析手段。

综上所述, PTR-MS、SIFT-MS 和 EESI-MS 三种软电离直接质谱分析技术都能够对人体呼吸气体进行直接、快速分析, 满足实时、在线的检测要求, 但是他们也有各自的特点。三种直接质谱技术比较见表 1。

4 展望

呼吸气体中含有大量生理 / 病理信息, 与人体健康息息相关。对呼吸气体的检测可以为机理研究、临床诊断及卫生监控提供参考, 在医学和分析研究领域中有举足轻重的地位。现已有很多方法用于分析呼吸气体, 检测手段也从传统的呼出气体收集、冷凝逐渐向实时、在线、无损方面发展, 省去繁琐的样品收集过程及样品的前处理过程, 不仅可以提高分析检测效率, 更重要的是对人体无侵害, 降低检测和治疗带给病人的疼痛感。

目前, 在呼吸气体的实际检测过程中, 大多技术需要将样品收集带回实验室进行分析。质谱技术凭借其高灵敏度、高特异性, 在呼吸气体检测方面有很大的应用空间。尤其是新兴的一些离子化技术的诞生, 如质子转移反应质谱 (PTR-MS)、选择离子流动管质谱 (SIFT-MS) 和电喷雾萃取电离技术 (EESI) 等。这些技术不需要样品的前处理, 是一种软电离技术, 极易小型化, 且对人体无侵害, 在与人体相关的一些检测中占有技术优势, 有望广泛应用于人体呼吸气体的实时、在线、快速检测。对这些检测技术和仪器的商品化、普适化, 是这个领域的重要发展方向之一。小型化的仪器不但可以满足无需样品预处理的呼吸气体的高灵敏度、实时分析检测的要求, 还可以方便患者在就近范围内进行简单的检测, 并及时就医。对呼吸气体的检测, 更好的服务于早期疾病的诊断、高危人群的筛查和环境卫生的监控, 保障了人体健康及人类生存的良好环境, 降低疾病死亡率。

呼吸气体实时在线检测借助于分析科学领域的各种高端检测手段和分析技术, 推动了生命科学研究的发展, 并致力服务于医学。因此, 呼吸气体检测逐渐成为介于医学、生命科学、分析学科领域之间的一个研究热点。

参考文献

- [1] Xu G M, Chen B, Liu G Z, et al. Rapid analysis of acetone in human plasma by derivatization desorption electrospray ionization. *Analyst*, 2010, 135(9): 2415-2419
- [2] Hodavance M S, Ralston S J, Peiczler J. Beyond blood sugar: the potential of NMR-based metabolomics for type 2 human diabetes, and the horse as a possible model. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, 387(2): 533-537
- [3] Zhou Z Q, Jin M, Ding J H, et al. Rapid detection of atrazine and its metabolite in raw urine by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Metabolomics*, 2007, 3(2): 101-104
- [4] Li X, Fang X, Yu Z, et al. Direct quantification of creatinine in human urine by using isotope dilution extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.*, 2012, 748: 53-57
- [5] Wu J, Pungaliya P, Kraynov E, et al. Identification and quantification of osteopontin splice variants in the plasma of lung cancer patients using immunoaffinity capture and targeted mass spectrometry. *Biomarkers*, 2012, 17(2): 125-133
- [6] 丁健桦, 陈焕文, 黄艳红, 等. 呼吸气体的原位电喷雾萃取电离质谱分析及其应用. 2009 年传统医药国际科技大会 2009
- [7] Risby T H, Solga S F. Current status of clinical breath analysis. *Appl. Phys. B*, 2006, 85(2-3): 421-426
- [8] 李冀, 姚哲刚, 王平. 呼吸气体诊断系统的最新进展 [J]. *中国医疗器械杂志*, 2000, 24(6): 335-341
- [9] 严惟力, 蒋义斌, 孙旭, 等. ¹³C 苯丙氨酸呼气试验检测健康成人苯丙氨酸代谢 [J]. *复旦学报(医学版)*, 2004, 31(4): 406-408
- [10] 应可净, 黄强. 呼吸气体检测在肺癌早期诊断中的应用 [J]. *国际呼吸杂志*, 2006, 26(2): 143-145
- [11] Puckett J L, Taylor R W E, Leu S Y, et al. Clinical patterns in asthma based on proximal and distal airway nitric oxide categories. *Respiratory Research*, 2010, 11(1): 1-30
- [12] 任旭斌, 刘春涛, 黄玉芳, 等. 呼出气一氧化氮检测对支气管哮喘的诊断价值 [J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2009, 8(4): 322-326
- [13] 刘传合, 李硕, 陈育智. 支气管哮喘的无创性检查及其临床意义 [J]. *实用诊断与治疗杂志*, 2005, 19(9): 658-660
- [14] 张泉水, 夏莉, 刘晋洪, 等. 精神分裂症呼出气体中的异戊二烯研究 [J]. *四川精神卫生*, 2008, 21(2): 77-79
- [15] 赵美萍, 张晨. 人体呼出气中挥发性有机化合物的检测方法 [J]. *化学进展*, 2010, 22(1): 140-147
- [16] 王青萍, 杨国政, 高丽丽, 等. 呼出气冷凝液成分检测: 新的无创性呼吸道炎症检测方法 [J]. *中国基层医药* 2007, 14(1): 160-161
- [17] Bajtarevic A, Ager C, Pienz M, et al. Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath. *BMC Cancer*, 2009, 9(1): 348
- [18] Armuzzi A, Candelli M, Zocco M A, et al. Breath testing for human liver function assessment. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2002, 16(12): 1977-1996
- [19] Basanta M, Jarvis R M, Xu Y, et al. Non-invasive metabolomic analysis of breath using differential mobility spectrometry in patients with chronic obstructive pulmonary disease and healthy smokers. *Analyst*, 2010, 135(2): 315-320
- [20] Kharitonov S A, Barnes P J. Exhaled Biomarkers. *Chest*, 2006, 130(5): 1541-1546
- [21] Phillips M, Herrera J, Krishnan S, et al. Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.*, 1999, 729(1-2): 75-88
- [22] Dixon E, Clubb C, Pittman S, et al. Solid-phase micro-extraction and the human fecal VOC metabolome. *PLoS one*, 2011, 6:e18471
- [23] Thekedar B, Oeh U, Szymczak W, et al. Influences of mixed expiratory sampling parameters on exhaled

- volatile organic compound concentrations. *J. Breath. Res.*, 2011, 13(1): 016001
- [24] Lindinger W, Hansel A, Jordan A. Proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS): on-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels. *Chem. Soc. Rev.*, 1998, 27: 347-375
- [25] Lindinger W, Hansel A, Jordan A. Online monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) medical applications, food control and environmental research. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.*, 1998, 173: 191-241
- [26] Hansel A, Jordan A, Holzinger R, et al. Proton transfer reaction mass spectrometry-online trace gas analysis at the ppb level. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.*, 1995, 149-150: 609-19
- [27] Smith D, Španěl P. Direct, rapid quantitative analyses of BVOCs using SIFT-MS and PTR-MS obviating sample collection. *Trends. Analyt. Chem.*, 2011, 30: 945-59
- [28] Wehinger A, Schmid A, Mechtcheriakov S, et al. Lung cancer detection by proton transfer reaction mass-spectrometric analysis of human breath gas. *Int. J. Mass Spectrom.*, 2007, 265: 49-59
- [29] Kohl I, Beauchamp J, Cakar-Beck F, et al. First observation of a potential non-invasive breath gas biomarker for kidney function. *J. Breath. Res.*, 2013, 7(1): 017110
- [30] Smith D, Španěl P. The novel selected-ion flow tube approach to trace gas analysis of air and breath. *Rapid Commun Mass Spectrom.*, 1996, 10: 1183-1198
- [31] Španěl P, Smith D. Progress in SIFT-MS: breath analysis and other applications. *Mass Spectrom. Rev.*, 2011, 30: 236-267
- [32] Španěl P, Smith D. Selected ion flow tube: a technique for quantitative trace gas analysis of air and breath. *Med. Biol. Eng. Comput.*, 1996, 34: 409-419
- [33] Dryahina K, Španěl P, Pospíšilová V, Sovová K, Hrdlička L, Machková N, Lukáš M, Smith D. Quantification of pentane in exhaled breath, a potential biomarker of bowel disease, using selected ion flow tube mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.*, 2013, 27(17): 1983-1992
- [34] Turner C, Španěl P, Smith D. A longitudinal study of ethanol and acetaldehyde in the exhaled breath of healthy volunteers using selected-ion flow-tube mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.*, 2006, 20(1): 61-68
- [35] Ding J H, Yang S P, Liang D P, et al. Development of extractive electrospray ionization ion trap mass spectrometry for in vivo breath analysis. *Analyst.*, 2009, 134(10): 2040-2050
- [36] Chen H W, Wortmann A, Zhang W H, et al. Rapid In Vivo Fingerprinting of Nonvolatile Compounds in Breath by Extractive Electrospray Ionization Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, 46(4): 580-583
- [37] Chen H W, Venter A, Cooks R G. Extractive electrospray ionization for direct analysis of undiluted urine, milk and other complex mixtures without sample preparation. *Chem. Commun.*, 2006, 42(19): 2042-2044
- [38] Chen H W, Zenobi R. Direct Analysis of Living Objects by Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Chimia.*, 2007, 61(12): 843-843
- [39] Gu H W, Xu N, Chen H W. Direct analysis of biological samples using extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS). *Anal. Bioanal. Chem.*, 2012, 403(8): 2145-2153
- [40] Chen H W, Gamez G, Zenobi R. What can we learn from ambient ionization techniques? *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2009, 20(11): 1947-1963
- [41] Zhou Y M, Ding J H, Zhang X, Chen H W. Ion-ion reactions for charge reduction of biopolymer at atmospheric pressure ambient. *Chin. Chem. Lett.*, 2007, 18(1): 115-117
- [42] Chen H W, Hu B, Zhang X. Principle and Application of Ambient Mass Spectrometry for Direct Analysis of Complex Samples. *Chinese J. Anal. Chem.*, 2010, 38(8): 1069-1088
- [43] Chen H W, Venter A, Cooks R G. Extractive electrospray ionization for direct analysis of undiluted urine, milk and other complex mixtures without sample preparation. *Chem. Commun.*, 2006, (19): 2042-2044
- [44] 陈焕文, 丁健桦, 任玉林, 等. 基于电喷雾萃取电离质谱分析的原位活体检测技术. *质谱学报*, 2007, 28(增刊): 3-5
- [45] Li M, Ding J H, Gu H W, et al. Facilitated Diffusion of Acetonitrile Revealed by Quantitative Breath Analysis Using Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Sci. Rep.*, 2013, 3: 1205