

健康人体足部挥发性物质形成及分析研究进展

陈长坡¹, 李宁², 徐生瑞¹, 胡宗杰²

(1.河南师范大学 化学化工学院, 河南 新乡 453007; 2.河南邦尼生物工程有限公司, 河南 新乡 453001)

摘要:人体足部产生的挥发性物质分析及其形成机制研究,在法医学、疾病诊断、香水及除臭剂开发和吸血昆虫生态学研究方面都具有重要的科学意义和应用前景.综述了足部挥发性物质的形成机制、取样及分析方法,并对现已发现的足部挥发性物质进行了总结,以期促进足部挥发性物质的深入研究,并为足部除臭化学品及相关材料的研发提供参考.

关键词:足部气味;分析;微生物菌群;气质联用

中图分类号:Q-3

文献标志码:A

人体产生的挥发性物质分析及其形成机制研究,在法医学^[1]、疾病诊断^[2-3]、香水及除臭剂开发^[4]和吸血昆虫生态学研究^[5-6]方面都具有重要的科学意义和应用前景.关于人体皮肤、呼出气体以及尿液中的挥发性气体组分的系统研究有大量文献报道^[7-8],但多数研究仅限于探究其中挥发性气体的化学组成,也有尝试通过分析找到人们臆想中的人类性信息素^[9].对人体皮肤微生物介导的香水成分的转化^[10]以及设计新型除臭日化妆品,得到了日用化学品公司的关注.随着研究工作的扩展和深入,一门研究人体挥发性物质及其潜在应用的新兴学科-挥发物组学(volatolomics)应运而生^[11-12].

研究发现,传播登革热的伊蚊^[13]和传播疟疾的按蚊^[14-15]等吸血昆虫是通过嗅觉定位和选择宿主的.通过对人体释放的挥发性物质的分析,可确定哪些成分可被吸血昆虫嗅觉器官识别,从而为创制新型控制吸血昆虫的药物提供理论依据.

由于人体生理代谢的复杂性及皮肤表面微生态的多样性,对人体释放的挥发性物质及其形成机制进行研究面临较大的挑战^[5,16-17].同时,此类挥发性物质产生量少,种类繁多,并易受环境因素如饮食^[18]、疾病状态^[19]等影响而发生变化,增加了分析的难度^[20].皮肤表面微生态在个体间存在较大差异,而皮肤微生物构成已知对人体气味有直接影响^[21].外源性物质如环境污染物^[22]、护肤品、香水等也会对人体挥发性有机物的分析产生干扰.受试个体的种族^[23]及单核苷酸多态性^[24]对人体释放的挥发性有机物也有影响.

虽然学术界对人体皮肤、腋下、口腔等部位释放的挥发性物质进行了比较系统的研究,但对足部挥发性有机物的成分及形成机制报道的不多,鲜见国内在这方面的研究结果.本文对足部挥发性有机物形成、取样分析方法及相关应用进行综述,以期引起相关领域研究人员的关注,并为足部臭味控制、除臭化学品的开发以及相关鞋垫及鞋材等新产品的开发提供借鉴.

1 足部挥发性物质的形成

虽然脚臭问题很常见,但相关的专用、特异性的足部除臭产品却很少见,最常用的是使用止汗剂、广谱抗菌素或使用香料掩盖脚臭^[25].究其原因还是人们对引起足部臭味的微生态产生气味的机制知之甚少.因此,确定足部的微生态并对其产生臭味的机制进行研究,将为足部臭味的控制及相关新产品的研究开发提供依据.足部分泌物的主要来源是小汗腺,其分泌的汗液中含无机盐、维生素、葡萄糖、乳酸、尿素和氨基酸,加上微

收稿日期:2019-03-27;修回日期:2019-04-15.

基金项目:国家自然科学基金(U1604285)

作者简介(通信作者):陈长坡(1967-),男,河南方城人,河南师范大学教授,博士,主要研究方向为核酸药物化学、生物缀合物化学,E-mail:andychen2005@163.com.

生物降解的老化的角质层,为足部微生物的生长提供了良好的生长环境^[26-27].

足部各个部位的不同物理化学条件,不但影响相应部位的细菌的数量,同时也影响臭味产生的速度.值得一提的是 Marshall 等^[28]在二十多年前进行的足部皮肤表面微生物研究,作者考察了足部臭味与足部微生物菌群的关系,发现葡萄球菌(*Staphylococci*)和好氧棒状细菌(*Coryneformbacteria*)与足部臭味的关联.进一步对酯酶、蛋白酶及可降解足部角质层的酶及足部微生物进行的筛选表明,足部微生物的密度与足部臭味呈正相关.对 60 个受试个体的足部微生物进行培养,发现足背皮肤微生物数量约为 10^3 cfu/cm²,足底和脚趾间的皮肤的微生物数量分别约为 10^5 cfu/cm²、 10^7 cfu/cm².表明足部的气味主要是从足底和脚趾间释放出来的.

健康成人足部微生态主要由革兰氏阳性菌属如棒状杆菌属、短杆菌属、葡萄球菌属和微球菌属的微生物组成(表 1).通过对脚臭程度不同的受试者的研究发现,具有蛋白降解能力的鸟肠球菌(*Kytococcus sedentarius*)存在于 60%受试者足部^[29],其数量与足部臭味直接相关,这一细菌也是点状角化松解病的致病菌,其可在足底形成点状侵蚀点并发出恶臭^[30].从健康人体足部分离得到的一些鸟肠球菌菌株可有效降解主要由角质蛋白组成的足底硬皮组织,降解产生的多肽和氨基酸可在原位作为足部臭味物质的前体.虽然目前尚未有基于离体培养的足部微生态结构全貌的系统研究,但随着高通量 DNA 测序技术的商业化,为足部微生态研究提供了更多有用的信息.DNA 测序结果表明足部占主导地位的微生物种属和基于培养的研究结果并无差别,葡萄球菌属、棒状菌属和微球菌属仍被确定是足部皮肤表面占主导地位的微生物^[31-32].

表 1 文献报道的构成足部微生态的主要微生物种类^[28-32]

Tab.1 Main microbials of foot microbiota reported in literatures^[28-32]

链球菌属	微球菌属	鸟肠球菌属	棒状细菌属	芽孢菌属
<i>S. epidermidis</i>	<i>B. epidermidis</i>	<i>K. sedentarius</i>	<i>C. minutissimum</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>S. capitis</i>				
<i>S. aureus</i>				
<i>S. lugdunensis</i>				
<i>S. saprophyticus</i>				
<i>S. caprae</i>				
<i>S. cohnii</i>				

挥发性脂肪酸,特别是异戊酸被认为是引起足臭的主要成分^[33-35].有研究证明,从人腋窝分离出的葡萄球菌可将包括 L-亮氨酸在内的氨基酸转化为异戊酸等挥发性支链脂肪酸^[35],人体足部挥发性支链脂肪酸也是通过这一机制形成的^[30],异戊酸形成的生化机制见图 1.由 L-甲硫氨酸代谢形成的挥发性硫化物甲硫醇也曾被认为与足部臭味相关,拥有这一生物转化能力的是短杆菌属的微生物;体外培养的鸟肠球菌也可以产生甲硫醇,但目前尚未发现此类挥发性硫化物与足臭直接关联的证据.现有的研究表明,足臭的强度与足部微生物的数量,pH 的升高及足底角质层不平滑等成正相关^[28].

为研究足部微生物代谢与足部臭味的关系,Ara 等^[33]将收集的足部汗液经灭菌处理,经温育后未发现臭味的增加,而未经灭菌处理的足部汗液经温育后则可产生强烈的臭味,表明足部皮肤表面的微生物代谢产生的挥发性物质是足臭的根源.作者利用气相色谱和人体嗅觉识别技术确认了异戊酸是足臭的主要成分,并发现表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)通过分解足部汗液中的亮氨酸产生异戊酸,受试者足底枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)可增加足臭强度.进一步的研究发现,表皮葡萄球菌和枯草芽孢杆菌中的亮氨酸脱氢酶的活性与异戊酸的生产相关,脱氢酶抑制剂如柠檬醛,可显著降低上述微生物产生异戊酸的活性.这些工作为开发靶点特异性足部除臭药物开辟了新的途径.

足部微生态系统是一个相互依赖又相互制约的复杂体系,James 及其同事^[35]系统地研究了健康人体足部异味的微生物学和生物化学机制.作者首先确定了异戊酸是足部臭味的主要贡献者.对从 3 位健康志愿者足部分离出的 77 个菌株用选择培养基进行培养,发现棒状细菌(*Corynebacterium*)20 株、微球菌(*Micrococcus*)15 株、鸟肠球菌(*Kytococcus*)17 株、葡萄球菌(*Staphylococcus*)15 株.本研究发现足部硬化的角质层可被足部微生物降解产生氨基酸和多肽,链球菌可将其中的 L-亮氨酸代谢为异戊酸,而某些短杆菌、微球菌及

鸟肠球菌可同时代谢异戊酸和其他微生物产生的短链脂肪酸.因此,足部臭味形成是多种微生物相互依赖又相互制约的动态过程.作者利用角质蛋白酶与链球菌构建了离体足部臭味形成模型,可用于新型足部除臭剂的研究与开发.Harker 及其合作者^[37]对健康成人的足底和足背各个部位微生物的组成及相应的气味物质进行了系统研究,结果发现足底微生物的种类和数量显著高于足背,微生物的数量和相应部位释放的挥发性物质呈正相关,足部臭味的主要成分异戊酸在足底不同部位的量的差异是由相应部位的微生物的数量不同引起的.尽管足底微生物菌群由包括葡萄球菌、棒状细菌及其他球菌组成,但足底不同部位的葡萄球菌的数量与相应部位释放的异戊酸的量成正相关.

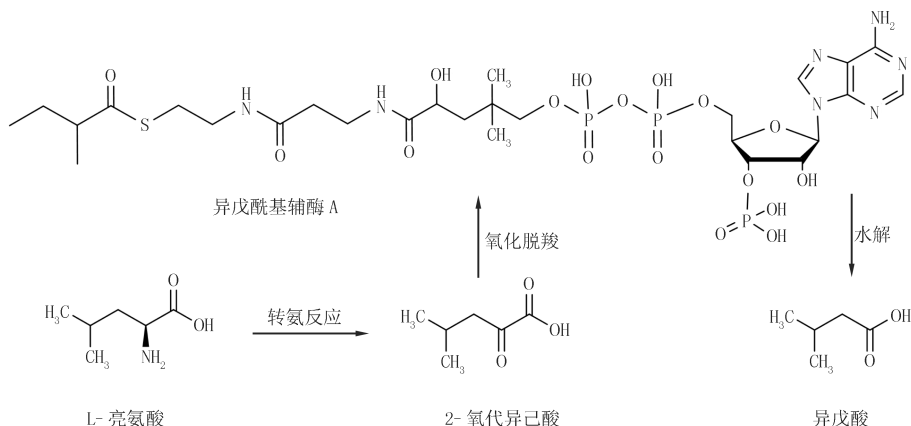


图 1 金黄色葡萄球菌转化 L-亮氨酸为异戊酸的生化机制^[36]

Fig.1 Metabolism of L-leucine to isovaleric acid by staphylococci^[36]

有研究报道,皮肤微生物菌群在人体对吸血昆虫的吸引方面具有重要作用.作者提取人体足部的新鲜汗液,发现其对吸血昆虫并无吸引力,而将新鲜汗液留置培养后,组成汗液的有机物被转化为气味物质并被吸血昆虫识别,从而吸引吸血昆虫,而灭菌的新鲜汗液留置后也不能产生被昆虫识别的挥发性物质^[15].

2 足部挥发性物质的采样及分析方法

已有多种采样方法被用于人体皮肤挥发性物质的研究^[38-39],最常用的方法是溶剂提取法,该法用有机溶剂从汗液中提取挥发性有机物,或将汗液吸附到脱脂棉片中,再用有机溶剂如正己烷、二氯甲烷、乙醚等进行提取.该法的不足之处是一些非挥发性的有机物也被提取出来,对后续的气相色谱分析产生影响.另一个常用的方法是使用动态顶空吸附技术,该法首先将挥发性物质吸附到纱布或脱脂棉中,再使用气流将挥发性物质转移到装有吸附填料的吸附阱中.此法存在以下潜在的问题:1)作为中间吸附材料的纱布或脱脂棉不能将全部的挥发性物质转移到吸附阱中;2)纱布或脱脂棉难免带入外源性的污染物,为此人们开发了将挥发性物质直接收集到吸附阱的方法;3)被吸附的挥发性物质需要用溶剂洗出,浓缩后进行气相色谱分析,浓缩时小分子量的易挥发物可能随溶剂挥发而流失^[38].

近年来发展的固相微萃取(SPME)技术最早用于监控空气中的污染物,现也被用于培养细胞或微生物培养物及人体皮肤释放的挥发性有机物的检测^[40].由于 SPME 技术操作简单、灵敏度高且不需使用有机溶剂,可有效吸附挥发性动植物信息化学物质,经热解吸后直接向气相色谱进样.但在人体皮肤释放的挥发性有机物研究方面,人们仍习惯于使用中间吸附剂如棉纱或脱脂棉先吸收汗液,再通过 SPME 方法二次吸附后进样.Dormant 等^[39]尝试将 SPME 的吸附剂直接接触足部皮肤对足部挥发性物质取样分析,并与文献报道的其他方法进行了比较,未发现取样方法对分析结果的显著影响.

文献报道的收集气味前对皮肤表面的处理方法有较大的差异.通常对受试对象取样前一天的饮食、个人卫生及洗涤剂 and 香水的使用都有一定的要求,但有的研究报告中对此并无要求^[41].部分研究工作中的规定比较严格,如要求被取样的个体在取样前几天避免食用辛辣及大蒜等^[42].在大多数情况下,都禁止受试对象在取样前数日使用除臭剂、香水及肥皂等,并对取样部位用自来水或橄榄油皂进行清洁^[43].为了收集足够的

待测样品,有报道在取样前要求受试者进行一定量的运动以排出足够的汗液^[26,44].

多种不同的分析方法都曾用于人体释放的挥发性物质的检测^[45].固相微萃取与气相色谱-质谱联用(SPME-GC-MS)是检测人体释放的挥发性有机物的最常用技术^[4,46-47].此外,气相-傅里叶变换红外光谱(GC-FTIR)^[48-49]、激光光谱^[50]、高效液相色谱(HPLC)^[51]、选择离子流管质谱(SIFT-MS)^[52]、液相色谱-串联质谱(LC-MS)^[53]、质子转移反应质谱 PTR-MS^[54]、选择性试剂离子化-飞行时间质谱(selective reagent ionization-MS, SRI-TOF-MS)等^[55]也用于人体挥发性物质的检测.利用化学传感器^[41]探测人体挥发性有机物是近期研究的热点.

虽然关于人体释放的挥发性物质的分析有大量文献报道,但取样和分析方法千差万别,很少有关于取样及分析方法的对比研究,因此很难避免错误结果的出现,有必要对皮肤预处理程序、采样方法及分析方法进行对比研究,以保证不同机构研究结果的可比性和可靠性.

3 足部挥发性物质的主要成分

目前已检测到的人体挥发性物质有近 2 000 种^[7-8].虽然人们在研究人体腋窝、呼出气体、前臂和手、头皮及整个身体挥发性有机物的过程中,发现挥发性醛、短链脂肪酸、氨和硫化物都对不愉快的气味有贡献,但由于氨和硫化物的含量较低,且与饮食有很高的相关性,因此普遍认为短链脂肪酸是足部臭味的主要成分.已报道的足部挥发性物质见表(表 2).

表 2 已报道的足部主要挥发性物质

Tab.2 Foot volatile compounds reported in literatures

样本	检测方法	检出化合物	参考文献
21~65 岁女性 6 人、男性 6 人,聚二甲基硅酮贴膜吸附取样	热解吸 GC-MS	乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、异戊酸、己酸、吡啶、3-甲基吡啶	[35, 37]
118 名日本成年男性,棉垫吸附取样	GC-MS	乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、2-甲基丙酸、2,3-丁二酮	[56]
20~30 岁女性 96 人,汗液	GC	乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸、己酸、辛酸、癸酸	[33]
女性 2 人、男性 4 人,平均年龄 38.2 岁,脱脂棉吸附取样	HS-SPME-GC-MS	乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸、己酸、异己酸、辛酸	[4]
25~30 岁男性 10 人,索氏提取器提取穿过袜子中有机物、汗液	GC-MS	乙酸、丁酸、异丁酸、异戊酸、己酸、辛酸、壬酸、癸酸	[25]
女性 4 人,男性 7 人,袜子	SHS-MCC-GC-MS	氨、丁酸、二甲基二硫、二甲基三硫	[57]
4~45 岁女性 12 人,男性 14 人,溶剂抽提(法国室内取样,布基纳法索田野取样)	HS-SPME-GC-MS 及接触 SPME-GC-MS	乙酸乙酯、乙酸十八烷醇酯、己醛、辛醛、辛酸、壬烷、壬醛、壬酸、癸烷、癸醛、癸酸、十一烷、十一醛、 γ -辛内酯、十二烷、十二醛、十三烯、十三醛、十四烷、十四烯、十五烷、十五烯、十六烷、十六烯、十六烷酸甲酯、十七烷、十八烷酸甲酯、 α -蒎烯、鲨烯、苯并噻唑、(E)-2-庚醛、(E)-2-癸烯醛、(E)-2-十一烯醛、柠檬烯、(E)-2-辛烯醛、苯甲醛、(E)-2-壬烯醛、(E,E)-2,4-壬二烯醛、二乙基二硫、6-甲基-5-庚烯-2-酮、牦牛儿基丙酮、lilial 等.	[39]

虽然很早以前就有人发现人体汗液中短链脂肪酸的存在,但直到 Amooore 在研究人嗅觉障碍的过程中,才首次确认异戊酸是引起脚臭的主要成分^[34].Kanda 等^[25]利用 GC-MS 对从臭汗症(bromidrosis)患者的袜子和足底提取物进行了分析,证实异戊酸是主要的足部臭味物质.作者将收集的新鲜汗液与足底提取物一起孵育后进行 GC-MS 分析,发现其成分与臭汗症受试者在 35 °C 及 50%湿度下运动 30 min 后足部汗液的成分一致.有趣的是,无足臭的受试者的足部提取物与新鲜汗液孵育后并没有臭味物质释放,一旦将孵育后的混合物酸化,则迅速释放出与臭汗症受试者足部相似的气味.作者认为混合物中的短链脂肪酸以金属盐的形式存在,无挥发性,酸化后短链脂肪酸即可释放而被感知.这一现象的形成机制值得进一步深入研究,从而为开发新的足部除臭剂提供依据.Games 及其合作者^[35]利用液体固相微萃取(SPME)仅检测到了丁酸、异丁酸

和异戊酸等3种短链脂肪酸,而利用乙醚抽提法采样分析,除检测到上述3种物质外,同时检测到了吡啶、3-甲基吡啶及结构未确证的挥发性硫代物。以上结果表明,足部挥发性有机物的提取方法可显著影响检测结果。

基于前期的研究结果,Ara及其合作者^[33]利用气相色谱技术对人体足部汗液总脂肪酸中乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸、己酸、辛酸、癸酸进行了定量分析,发现这些短链脂肪酸分别占汗液中总脂肪酸的85.1%、7.7%、1.9%、0.8%、2.3%、0.5%、0.4%、0.1%和1.4%。同样发现异戊酸是引起脚臭的主要成分,同时乙酸和异丁酸对脚臭也有贡献,是酸性气味的主要成分。为了深入研究足部气味与其化学成分的关系,Hara等^[56]以日本成年男性为研究对象,使用GC-MS和主观评价方法,发现在95%有足臭的受试者的足部提取物中含有异丁酸和2,3-丁二酮,后者是引起足部酸性不愉快气味的化学物质,其同时可以增强异戊酸的臭味。Dormont等^[39]使用溶剂抽提、顶空固相微萃取(HS-SPME)、接触SPME及动态顶空技术对来自欧洲和非洲的受试者的足部挥发性物质进行了分析,只检测到了辛酸、壬酸和癸酸,未发现被普遍认为是脚臭主要成分的短链脂肪酸如异戊酸、丁酸等,作者检测到的其他近20种挥发性有机物并未见在其他文献中报道。作者同时发现,接触SPME技术可在3min内完成快速取样,可用于野外取样,使用此方法得到的野外样品与使用传统的HS-SPME法在实验室取得的样品相比,其中挥发性有机物的分析结果基本一致。该研究为研究野外吸血昆虫寻靶与足部气味的关系及相关疾病的预防提供了新的思路。Denawaka等^[57]使用静态顶空-多毛细管柱气相色谱-离子迁移谱技术对11名志愿者穿过的袜子进行了分析,从中检出了氨、二甲基二硫、二甲基三硫和丁酸等挥发性物质,由于样品中杂质干扰异戊酸的检测,无法确定样品中异戊酸的含量。统计分析表明,氨、二甲基二硫与足部臭味具有相关性。

4 足部挥发性物质分析的应用

传统上除臭日用品及防臭鞋材的效果评价大多采用人工评价方法,由于随机挑选的评价人员对评价标准认知差异,特别是个体间嗅觉对气味物质的敏感性的差异,影响评价结果的可靠性和可重复性。使用通用的仪器设备如常用的GC-MS技术可以部分解决这一问题。Caroprese等^[4]使用顶空-固相微萃取GC-MS技术,通过定量分析方法考察了足部除臭剂不同配方对足部汗液中短链脂肪酸含量的影响,发现受试的足部除臭剂可显著降低异戊酸的量从而降低足部的臭味,为新型足部除臭剂的量化评价提供了依据。

植物精油是香料的重要成分,研究植物精油与足部微生态结构的相互作用,可为研究开发足部除臭产品提供依据。一方面精油中的化合物具有抗菌活性,可抑制微生物的繁殖从而减少挥发性有机物的产生;另一方面,足部微生物可能对精油中的化合物进行生物催化转化从而改变精油的品质。Orchard等^[58]选择构成足部微生态的典型微生物,考察了119种植物精油的抗菌活性,发现不同来源的植物精油具有协同的抗菌活性,为利用组合植物精油治疗和预防臭汗症提供了新的思路。

5 结语与展望

足部汗腺分泌的汗液及皮肤表面的老化组织,为微生物的生长和繁殖提供了良好的环境。微生物代谢产生的挥发性物质如异戊酸是足部臭味的主要成分。在足部气味分析取样方面,现多采用中间材料吸附后通过溶剂提取或SPME等中间步骤,再利用GC或GC-MS对样品进行分析,此过程难以避免样品的污染、降解或氧化。因此研究开发简单有效的直接取样方法,不但可以提高结果的可靠性,同时也为不同研究机构的分析结果的横向比较奠定基础。

中医认为“脚为精气之根”。随着经济的发展,人们对足部健康也提出了更高的要求。传统的细菌培养技术与新一代基因测序技术的结合,将为足部微生态研究注入新的活力^[59];近年来群体感应(quorum sensing)被广泛应用于抗感染、环境保护等领域并取得了重要进展^[60];以环二核苷酸为代表的微生物第二信使在介导微生物代谢、致病性、毒力等方面发挥着重要作用^[61];皮肤微生态的形成、发展及免疫调节的最新研究结果,将为足臭的生物防治提供新的途径^[62];高灵敏度GC-MS,LC-MS的普及,使发现更多的足部产生的挥发性物质成为可能。这些新的研究成果和研究方法在足部挥发性气体形成及足部臭味控制方面的应用,有望促进本领域的技术进步和产业发展。

参 考 文 献

- [1] Woitke L, Dressler J, Babian C. Individual human scent as a forensic identifier using mantrailing[J]. *Forensic Sci Int*, 2018, 282: 111-121.
- [2] Beccaria M, Mellors T R, Petion J S, et al. Preliminary investigation of human exhaled breath for tuberculosis diagnosis by multidimensional gas chromatography-Time of flight mass spectrometry and machine learning[J]. *J Chromatogr B-Anal Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1074: 46-50.
- [3] Turner C. Techniques and issues in breath and clinical sample headspace analysis for disease diagnosis[J]. *Bioanalysis*, 2016, 8: 677-690.
- [4] Caroprese A, Gabbanini S, Beltrami C, et al. HS-SPME-GC-MS analysis of body odor to test the efficacy of foot deodorant formulations[J]. *Skin Res Technol*, 2009, 15: 503-510.
- [5] Takken W, Verhulst N O. Chemical signaling in mosquito-host interactions; the role of human skin microbiota[J]. *Curr Opin Insect Sci*, 2017, 20: 68-74.
- [6] Schaber C L, Katta N, Bollinger L B, et al. Breathprinting reveals malaria-associated biomarkers and mosquito attractants[J]. *J Infect Dis*, 2018, 217: 1553-1560.
- [7] Costello B d L, Amann A, Al-Kateb H, et al. A review of the volatiles from the healthy human body[J]. *J Breath Res*, 2014, 8: 014001. DOI: 10.1088/1752-7155/8/1/014001.
- [8] Amann A, Costello B d L, Miekisch W, et al. The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva[J]. *J Breath Res*, 2014, 8: 034001. DOI: 10.1088/1752-7155/8/3/034001.
- [9] Mostafa T, El K G, Hassan A. Pheromones in sex and reproduction; do they have role in humans? [J]. *J Sex Med*, 2017, 14: S90-S90.
- [10] Behan J M, Macmaster A P, Perring K D, et al. Insight into how skin changes perfume[J]. *International J Cosmet Sci*, 1996, 18: 237-246.
- [11] Broza Y Y, Mochalski P, Ruzsanyi V, et al. Hybrid volatolomics and disease detection[J]. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 54: 11036-11048.
- [12] Broza Y Y, Vishinkin R, Barash O, et al. Synergy between nanomaterials and volatile organic compounds for non-invasive medical evaluation[J]. *Chem Soc Rev*, 2018, 47: 4781-4859.
- [13] Bernier U R, Kline D L, Barnard D R, et al. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 2. Identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*) [J]. *Anal Chem*, 2000, 72: 747-756.
- [14] Verhulst N O, Umanets A, Weldegergis B T, et al. Do apes smell like humans? The role of skin bacteria and volatiles of primates in mosquito host selection[J]. *J Exp Biol*, 2018, 221: jeb185959. DOI: 10.1242/jeb.185959.
- [15] Omolo M O, Njiru B, Ndiege I O, et al. Differential attractiveness of human foot odours to *Anopheles gambiae* Giles sensu strict (Diptera: Culicidae) and variation in their chemical composition[J]. *Acta Trop*, 2013, 128: 144-148.
- [16] Charpentier M J E, Barthes N, Proffit M, et al. Critical thinking in the chemical ecology of mammalian communication: roadmap for future studies[J]. *Funct Ecol*, 2012, 26: 769-774.
- [17] Duffy E, Morrin A. Endogenous and microbial volatile organic compounds in cutaneous health and disease[J]. *Trends Anal Chem*, 2019, 111: 163-172.
- [18] Fischer S, Bergmann A, Steffens M, et al. Impact of food intake on in vivo VOC concentrations in exhaled breath assessed in a caprine animal model[J]. *J Breath Res*, 2015, 9: 047113. DOI: 10.1088/1752-7155/9/4/047113.
- [19] Bijland L R, Bomers M K, Smulders Y M. Smelling the diagnosis; A review on the use of scent in diagnosing disease[J]. *Neth J Med*, 2013, 71: 300-307.
- [20] Pavlou A K, Turner A P. Sniffing out the truth: clinical diagnosis using the electronic nose[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2000, 38: 99-112.
- [21] Verhulst N O, Qiu Y T, Beijleveld H, et al. Composition of human skin microbiota affects attractiveness to malaria mosquitoes[J]. *Plos One*, 2011, 6: e28991. DOI: 10.1371/journal.pone.0028991.
- [22] Defois C, Ratel J, Denis S, et al. Environmental pollutant benzo a pyrene impacts the volatile metabolome and transcriptome of the human gut microbiota[J]. *Frontiers Microbiol*, 2017, 8: 1562. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01562.
- [23] Prokop-Prigge K A, Mansfield C J, Parker M R, et al. Ethnic/racial and genetic influences on cerumen odorant profiles[J]. *J Chem Ecol*, 2015, 41: 67-74.
- [24] Harker M, Carvell A-M, Marti V P J, et al. Functional characterisation of a SNP in the ABCC11 allele-Effects on axillary skin metabolism, odour generation and associated behaviours[J]. *J Dermatol Sci*, 2014, 73: 23-30.
- [25] Kanda F, Yagi E, Fukuda M, et al. Elucidation of chemical compounds responsible for foot malodour[J]. *Brit J Dermatol*, 1990, 122: 771-776.
- [26] Delgado-Povedano M M, Calderon-Santiago M, Luque de Castro M D, et al. Metabolomics analysis of human sweat collected after moderate exercise[J]. *Talanta*, 2018, 177: 47-65.
- [27] Mena-Bravo A, De Luque Castro M D. Sweat: A sample with limited present applications and promising future in metabolomics[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 90: 139-147.

- [28] Marshall J, Leeming J P, Holland K T. The cutaneous microbiology of normal human feet[J]. *J Appl bacteriol*, 1987, 62: 139-146.
- [29] Marshall J, Holland K T, Gribbon E M. A comparative study of the cutaneous microflora of normal feet with low and high levels of odour [J]. *J Appl Bacteriol*, 1988, 65: 61-68.
- [30] Nordstrom K M, McGinley K J, Cappiello L, et al. Pitted keratolysis; the role of *Micrococcus sedentarius*[J]. *Arch Dermatol*, 1987, 123: 1320-1325.
- [31] Costello E K, Lauber C L, Hamady M, et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time[J]. *Science*, 2009, 326: 1694-1697.
- [32] Costello E K, Stagaman K, Dethlefsen L, et al. The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome[J]. *Science*, 2012, 336: 1255-1262.
- [33] Ara K, Hama M, Akiba S, et al. Foot odor due to microbial metabolism and its control[J]. *Can J Microbiol*, 2006, 52: 357-364.
- [34] Amoore J. Specific anosmia and the concept of primary odors[J]. *J Senses Flavor*, 1977, 21: 267-281.
- [35] James A G, Cox D, Worrall K. Microbiological and biochemical origins of human foot malodour[J]. *Flavour Frag J*, 2013, 28: 231-237.
- [36] Longshaw C M, Wright J D, Farrell A M, et al. *Kytococcus sedentarius*, the organism associated with pitted keratolysis, produces two keratin-degrading enzymes[J]. *J Appl Microbiol*, 2002, 93: 810-816.
- [37] Stevens D, Cornmell R, Taylor D, et al. Spatial variations in the microbial community structure and diversity of the human foot is associated with the production of odorous volatiles[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2015, 91(1): 1-11. DOI: 10.1093/femsec/fiu018.
- [38] Dormont L, Bessièrè J-M, Cohuet A. Human skin volatiles; a review[J]. *J Chem Ecol*, 2013, 39: 569-578.
- [39] Dormont L, Bessièrè J-M, McKey D, et al. New methods for field collection of human skin volatiles and perspectives for their application in the chemical ecology of human-pathogen-vector interactions[J]. *J Exp Biol*, 2013, 216: 2783-2788.
- [40] Duan C, Shen Z, Wu D, et al. Recent developments in solid-phase microextraction for on-site sampling and sample preparation[J]. *Trends Anal Chem*, 2011, 30: 1568-1574.
- [41] Zhang Z M, Cai J J, Ruan G H, et al. The study of fingerprint characteristics of the emanations from human arm skin using the original sampling system by SPME-GC/MS[J]. *J Chromatogr B-Anal Technol Biomed Life Sci*, 2005, 822: 244-252.
- [42] Harraca V, Ryne C, Birgersson G, et al. Smelling your way to food: can bed bugs use our odour? [J]. *J Exp Biol*, 2012, 215: 623-629.
- [43] Kusano M, Mendez E, Furton K G. Comparison of the Volatile Organic Compounds from Different Biological Specimens for Profiling Potential[J]. *J Forensic Sci*, 2013, 58: 29-39.
- [44] Harshman S W, Pitsch R L, Smith Z K, et al. The proteomic and metabolomic characterization of exercise-induced sweat for human performance monitoring; A pilot investigation[J]. *Plos One* 2018, 13: e0203133. DOI: 10.1371/journal.pone.0203133.
- [45] Jha S K. Characterization of human body odor and identification of aldehydes using chemical sensor[J]. *Rev Anal Chem*, 2017, 36: 20160028. DOI: 10.1515/revac-2016-0028.
- [46] Jha S K, Hayashi K. Molecular structural discrimination of chemical compounds in body odor using their GC-MS chromatogram and clustering methods[J]. *Int J Mass spectrom*, 2017, 423: 1-14.
- [47] Curran A M, Prada P A, Furton K G. The differentiation of the volatile organic signatures of individuals through SPME-GC/MS of characteristic human scent compounds[J]. *J Forensic Sci*, 2010, 55: 50-57.
- [48] Zeng X N, Leyden J J, Lawley H J, et al. Analysis of characteristic odors from human male axillae[J]. *J Chem Ecol*, 1991, 17: 1469-1492.
- [49] Zeng X N, Leyden J J, Spielman A I, et al. Analysis of characteristic human female axillary odors: Qualitative comparison to males[J]. *J Chem Ecol*, 1996, 22: 237-257.
- [50] Wojtas J, Bielecki Z, Stacewicz T, et al. Ultrasensitive laser spectroscopy for breath analysis[J]. *Opto-Electron Rev*, 2012, 20: 26-39.
- [51] Ozeki C, Moro O. A study of the suppression of body odour in elderly subjects by anti-fungal agents[J]. *Inter J Cosmet Sci*, 2016, 38: 312-318.
- [52] Turner C. Potential of breath and skin analysis for monitoring blood glucose concentration in diabetes[J]. *Exp Rev Mol Diagn*, 2011, 11: 497-503.
- [53] Lee S K, Kim D-H, Jin C, et al. Determination of urinary trimethylamine and trimethylamine N-oxide by liquid chromatography-tandem-mass spectrometry using mixed-mode stationary phases[J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2010, 31: 483-486.
- [54] Yao L, Laing R M, Bremer P J, et al. Measuring textile adsorption of body odor compounds using proton-transfer-reaction mass spectrometry[J]. *Text Res J*, 2015, 85: 1817-1826.
- [55] Mochalski P, Unterkofler K, Hinterhuber H, et al. Monitoring of selected skin-borne volatile markers of entrapped humans by selective reagent ionization time of flight mass spectrometry in NO^+ mode[J]. *Anal Chem*, 2014, 86: 3915-3923.
- [56] Hara T, Kyuka A, Shimizu H. Butane-2, 3-dione; the key contributor to axillary and foot odor associated with an acidic note[J]. *Chem Biodivers*, 2015, 12: 248-258.
- [57] Denawaka C J, Fowles I A, Dean J R. Evaluation and application of static headspace- multicapillary column-gas chromatography-ion mobility spectrometry for complex sample analysis[J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1338: 136-148.

- [58] Orchard A, Viljoen A, Van Vuuren S. Antimicrobial essential oil combinations to combat foot odour[J]. *Planta Med*, 2018, 84: 662-673.
- [59] Whelan F J, Surette M G. A comprehensive evaluation of the sl1p pipeline for 16S rRNA gene sequencing analysis[J]. *Microbiome*, 2017, 5: 100. DOI: org/10.1186/s40168-017-0314-2.
- [60] Lemfack M C, Ravella S R, Lorenz N, et al. Novel volatiles of skin-borne bacteria inhibit the growth of Gram-positive bacteria and affect quorum-sensing controlled phenotypes of Gram-negative bacteria[J]. *Syst Appl Microbiol*, 2016, 39: 503-515.
- [61] Opoku-Temeng C, Zhou J, Zheng Y, et al. Cyclic dinucleotide (c-di-GMP, c-di-AMP, and cGAMP) signalings have come of age to be inhibited by small molecules[J]. *Chem Commun*, 2016, 52: 9327-9342.
- [62] Schwarz A, Bruhs A, Schwarz T. The short-chain fatty acid sodium butyrate functions as a regulator of the skin immune system[J]. *J Invest Dermatol*, 2017, 137: 855-864.

Research progress of healthy human foot volatiles origins and analysis

Chen Changpo¹, Li Ning², Xu Shengrui¹, Hu Zongjie²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;
2. Henan Bangni Bioengineering Co. Ltd., Xinxiang 453001, China)

Abstract: The analysis and origins of the volatiles emanated from human foot are of scientific importance and have potential application in forensic medicine, medical diagnosis, development of perfume and deodorant and the ecology of blood-sucking insects. We reviewed the biochemical origins of foot odors, and the sampling and analytical methods and chemical composition of foot odors were summarized. It is expected that the information will promote the in-depth research of foot volatiles and set the foundation for the research and development of foot deodorant and foot-related materials.

Keywords: foot odor; analysis; microbiota; GC-MS

[责任编辑 赵晓华 陈留院]