

# 科技部補助專題研究計畫成果報告 期末報告

## 多重濫用藥物 微量毛髮檢驗之開發

計畫類別：個別型計畫  
計畫編號：NSC 102-2113-M-040-003-  
執行期間：102年08月01日至103年07月31日  
執行單位：中山醫學大學醫學研究所

計畫主持人：張耀仁

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：

1. 公開資訊：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢
2. 「本研究」是否已有嚴重損及公共利益之發現：否
3. 「本報告」是否建議提供政府單位施政參考：否

中華民國 103 年 11 月 04 日

中文摘要：使用毛髮進行用藥分析，近年來越來越受到重視。毛髮具有採樣容易、方便，也不像其他生物檢體容易分解變壞。再加上有別於血液與尿液等生物檢體，具有長時間之檢驗視窗(數月~數年)，可完整記錄受檢者的用藥歷程，並可回溯檢驗。然而，毛髮檢驗卻常有採樣量少與藥物在毛髮中濃度低之問題。因此，提升毛髮檢驗，建立新一代高靈敏之高效能檢驗方法有其必要。特別在鑑識科學上，由於分析結果將作為法庭證據，更需重視定性與定量之可信度。鑑識科學所需要之分析方法，常需同時具有專一性與靈敏度，因此結合層析之分離效果與質譜之鑑定能力之氣相層析質譜(GC/MS)，至今仍是毛髮檢驗主要之方法。然而，GC/MS方法需使用 25-50 mg 或更多之毛髮檢體，且需繁瑣費時之衍生化步驟，限制了毛髮檢驗無法同時分析更多種類之濫用藥物。近年來，液相層析-串聯質譜 (LC-MS/MS)成為了分析血液或尿液等生物檢體中，濫用藥物之重要工具。結合超高液相層析更提升靈敏度選擇性與分析速度。因此，本研究目的希望能發展超靈敏的毛髮分析方法，使用微量之毛髮(毫克，甚至於次毫克)，進行多重藥物之毛髮分析。研究針對常見濫用藥物進行微量毛髮檢驗之方法開發與探討。發展之方法主要為使用 Dansyl chloride (DC)化學衍生化，隨後進行 LC-MS/MS 分析，來提升檢驗之靈敏度。研究結果發現：相較於原態藥物，以 ESI 進行 dansyl chloride 衍生物的偵測，能提高酚類化合物的靈敏度，其中在 MOR 與 THC-COOH 甚至達到 30 倍以上的提升。對於一、二級胺類化合物的偵測也有 5~20 倍的提升效果。然而對無法被衍生的 COC、BZE、K、NK、與 COD 方面，此方法也有 3~5 倍的靈敏度增加，應為 LC 上波寬的窄化與層析條件的優化所導致，進而使得 ESI 之偵測靈敏度較好。因此不論是在於衍生或未衍生的化合物，此方法都有靈敏度上的改進。總之，DC 衍生方式可被應用在毛髮檢體分析中，達成更高靈敏度的偵測結果，將有助於提升濫用藥物的檢驗能力，赫止毒品之蔓延。

中文關鍵詞：毛髮檢驗、濫用藥物、質譜分析

英文摘要：

英文關鍵詞：

# 科技部補助專題研究計畫成果報告

(期中進度報告/期末報告)

## 多重濫用藥物 微量毛髮檢驗之開發

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 102-2113-M-040 -003

執行期間：102 年 08 月 01 日至 103 年 07 月 31 日

執行機構及系所：中山醫學大學 醫學研究所

計畫主持人：張耀仁

計畫參與人員：張元哲、楊祥浩

本計畫除繳交成果報告外，另含下列出國報告，共 1 份：

執行國際合作與移地研究心得報告

出席國際學術會議心得報告

期末報告處理方式：

1. 公開方式：

非列管計畫亦不具下列情形，立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權，一年二年後可公開查詢

2. 「本研究」是否已有嚴重損及公共利益之發現：否 是

3. 「本報告」是否建議提供政府單位施政參考 否 是，\_\_\_\_\_（請列舉提供之單位；本部不經審議，依勾選逕予轉送）

中 華 民 國 103 年 10 月 28 日

## 摘要

使用毛髮進行用藥分析，近年來越來越受到重視。毛髮具有採樣容易、方便，也不像其他生物檢體容易分解變壞。再加上有別於血液與尿液等生物檢體，具有長時間之檢驗視窗(數月~數年)，可完整記錄受檢者的用藥歷程，並可回溯檢驗。然而，毛髮檢驗卻常有採樣量少與藥物在毛髮中濃度低之問題。因此，提升毛髮檢驗，建立新一代高靈敏之高效能檢驗方法有其必要。特別在鑑識科學上，由於分析結果將作為法庭證據，更需重視定性與定量之可信度。

鑑識科學所需要之分析方法，常需同時具有專一性與靈敏度，因此結合層析之分離效果與質譜之鑑定能力之氣相層析質譜(GC/MS)，至今仍是毛髮檢驗主要之方法。然而，GC/MS方法需使用25-50 mg或更多之毛髮檢體，且需繁瑣費時之衍生化步驟，限制了毛髮檢驗無法同時分析更多種類之濫用藥物。近年來，液相層析-串聯質譜 (LC-MS/MS)成為了分析血液或尿液等生物檢體中，濫用藥物之重要工具。結合超高液相層析更提升靈敏度選擇性與分析速度。因此，本研究目的希望能發展超靈敏的毛髮分析方法，使用微量之毛髮(毫克，甚至於次毫克)，進行多重藥物之毛髮分析。研究針對常見濫用藥物進行微量毛髮檢驗之方法開發與探討。發展之方法主要為使用Dansyl chloride (DC)化學衍生化，隨後進行LC-MS/MS分析，來提升檢驗之靈敏度。研究結果發現：相較於原態藥物，以ESI進行dansyl chloride衍生物的偵測，能提高酚類化合物的靈敏度，其中在MOR與THC-COOH甚至達到30倍以上的提升。對於一、二級胺類化合物的偵測也有5~20倍的提升效果。然而對無法被衍生的COC、BZE、K、NK、與COD方面，此方法也有3~5倍的靈敏度增加，應為LC上波寬的窄化與層析條件的優化所導致，進而使得ESI之偵測靈敏度較好。因此不論是在於衍生或未衍生的化合物，此方法都有靈敏度上的改進。總之，DC 衍生方式可被應用在毛髮檢體分析中，達成更高靈敏度的偵測結果，將有助於提升濫用藥物的檢驗能力，赫止毒品之蔓延。

# 1. 前言

毒品成癮已是全球性的議題，在臺灣也是越來越嚴重。雖然早已進入自由與開放的多元化社會中，然而隨著社會進步與經濟發展，層出不窮的新興毒品，吸食人口年輕化，造成家庭社會的重大衝擊。目前國內監獄受刑人中，超過七成皆與毒品相關。前幾年來更因共用針頭，而造成愛滋病感染，更耗費極大的醫療資源。毒品，除了直接危害個人身心健康之外，與一般搶案、槍擊等犯罪事件更存在著密不可分的關係。「濫用藥物檢驗」的功能不僅可作為司法判決的證據外，更希望能對吸毒者產生嚇阻作用，而不敢使用。

使用毛髮進行用藥分析，近年來越來越受到重視。毛髮具有採樣容易、方便，也不像其他生物檢體容易分解變壞。再加上有別於血液與尿液等生物檢體，具有長時間之檢驗視窗(數月~數年)，可完整記錄受檢者的用藥歷程，並可回溯檢驗。然而，毛髮檢驗卻常有採樣量少與藥物在毛髮中濃度低之問題。因此，發展靈敏且可信賴之高效能毛髮檢驗是絕對必需的。特別在鑑識科學上，由於分析結果將作為法庭證據，更需排除可能之誤差。不過，由於毛髮中的毒品濃度通常極為微量(數百 pg/mg hair)，遠遠少於尿液中濃度(數百 ng/ml urine)；同時，取得的毛髮量極為有限，遠遠不如尿液檢體。

鑑識科學所需要之分析方法，常需同時具有靈敏度與專一性，因此結合層析之分離效果與質譜之鑑定能力之氣相層析質譜(GC/MS)，至今仍是毛髮檢驗主要之方法。然而，GC/MS方法需使用 25-50 mg 或更多之毛髮檢體，且需繁瑣費時之衍生化步驟，限制了毛髮檢驗無法同時分析更多種類之濫用藥物。近年來液相層析-串聯質譜 (LC-MS/MS)成為了分析血液或尿液等生物檢體中濫用藥物之重要工具。結合超高液相層析(UPLC)更能提升靈敏度選擇性與分析速度。

本研究針對常見濫用藥物進行毛髮檢驗之方法開發與探討，包含安非他命類 (Amphetamine、Methamphetamine)、(MDMA、MDEA、MDA)、鴉片類 (Morphine、Codeine、6-acetylmorphine)、愷他命類 (Dehydronorketamine、Ketamine、Norketamine)、大麻(THC 與 THC-COOH)等。研究首先發展 LC-MS/MS 分離平台，首先將以個別化合物的標準品溶液，利用三段四極式質譜儀(QQQ 型)之 MRM 掃描模式，進行分析條件最佳化，以建立化合物的 MRM 掃描參數。層析分離部分，以一般的 HPLC 儀器，但使用能達到等同於 UHPLC 效果的 core-shell 管柱來進行多種分析物的分離。隨後進行靈敏度之評估比較，與相關之方法確效，最後進行真實樣本之分析。

## 2. 研究方法

### 2-1 溶劑與藥品

甲醇 (Methanol)，異丙醇 (Isopropanol)，二氯甲烷 (Dichloromethane)，氫水 (Ammonium hydroxide)，醋酸 (Acetic acid)，乙晴 (Acetonitrile)，鹽酸 (Hydrochloric acid)，醋酸乙酯 (Ethyl acetate)，磷酸鹽緩衝溶液 (Potassium dihydrogen phosphate) 皆購買自 MERCK 公司 (Darmstadt, Germany)。甲酸 (Formic Acid)，碳酸氫鈉 (Sodium bicarbonate)、醋酸銨 (Ammonium acetate solution)，碳酸氫銨 (Ammonium bicarbonate)，三氟醋酸 (Trifluoroacetic acid 99 %)、Dansyl Chloride 購買自 Sigma 公司 (MO, USA)。固相萃取管柱 C18-OH (Bond Elut Certify) 購買自 Varian 公司 (CA, USA)。

11 種藥物及代謝物結：安非他命 (Amphetamine, AP)、甲基安非他命 (Methamphetamine, MA)、MDA (3,4-Methylenedioxyamphetamine)、MDMA (3,4-Methylenedioxymethamphetamine)、Ketamine (K)、Norketamine (NK)、嗎啡 (Morphine, MOR)、可待因 (Codeine, COD)、六-乙酰嗎啡 (6-monoacetyl-morphine, 6-AM)、四氫大麻酚 (Tetrahydrocannabinol, THC)、四氫大麻酸 (Tetrahydrocannabinolcarboxylic acid, THC-COOH) 與同位素內標準物 d<sub>5</sub>-AP、d<sub>5</sub>-MA、d<sub>5</sub>-MDA、d<sub>5</sub>-MDMA、d<sub>4</sub>-K、d<sub>4</sub>-NK 及 d<sub>3</sub>-MOR、d<sub>3</sub>-COD、d<sub>3</sub>-6-AM，購買自 Cerilliant 公司 (Texas, USA)。

### 2-2 儀器：

離子阱式質譜儀：LCQ™ classic (Finnigan MAT; San Jose, CA, USA)。分析前針對甲醇中常見背景 diisooctyl phthalate (增塑劑) m/z 413 作其 base peak 之 autotune，以達到 m/z 200 ~ 600 較好之平均感度。霧化溫度為 450°C，三段四極柱式串聯質譜儀：為美商應用生命系統 (Applied Biosystems) 公司之 API300。

為考慮流量與偵測速度，層析管柱在 LCQ classic 上我們使用使用層析管柱為及 Phenomenex Gemini C18 110A 150×4.60 mm，充填顆粒大小為 10 μm，在 API3000 則採用 Phenomenex Luna C18, 50 X 4.6 mm，充填顆粒大小為 5 μm，前端搭配 Phenomenex Security Guard C18 4 × 2.0 mm，延長管柱使用壽命。液相層析系統：使用兩個 Shimadzu LC-10AD (高壓混合)，接受由 SCL-10Avp 之控制。

### 2-3 Dansyl chloride 衍生化方法

Dansyl chloride 試劑溶液配製：Dansyl chloride (粉狀) 保存在 -20°C，配製溶液濃度為 1 mg/mL 溶在 Acetone 中，保存於 -20°C 下。

衍生化過程：稀釋不同濃度化合物工作溶液，取出 100 μL 以 45°C 氮氣吹乾，再加入 Dansyl chloride 50 μL 與 Sodium bicarbonate 50 μL，震盪混合 1 分鐘，再以 70°C 下衍生 5 分鐘。

### 2-4 LC-MS/MS 方法建立

層析條件移動相 A 為 99.5% isopropanol + 0.5% formic acid，移動相 B 為 99.5% H<sub>2</sub>O + 0.5% formic acid。流速固定至 1 ml/min，進入 2.6 mL 之混合器混合。離子阱式質譜儀之層析溶劑梯度程式如下：溶劑 A 在 1-18 分鐘由 10% 到 95%，平衡時間 10min。先以 full scan 掃

描模式 ( 質量視窗  $m/z = 200-600$  ) 偵測, 以確定各待測物母離子層析上出現時間, 並加以分區段 ( segment ), 再以建立好之SRM資料套入分別區段掃描偵測。三段四極柱式質譜儀之層析溶劑梯度程式如下: 分析時溶劑梯度則從1% 溶劑A在2-10分鐘從 5% 提升至95%, 平衡時間 5min, 依建立好之標準品最強離子對(定量離子)建立所有離子 MRM 程式掃描, 確定層析上出現時間, 再依各待測物訊號出現時間分割segment, 以各segment輸入其時間內標準物與內標準物之定性與定量離子。

## 2-5 偵測方法確效性評估

### a. 最低偵測極限 (Limit of detection, LOD) 評估

偵測極限 (LOD) 是指該檢驗方式所能偵測分析物之最低濃度能獲得符合要求之層析圖, 以待測物測得訊號與背景值訊號之比值大於等於 3 為 LOD, 待測物與背景值訊號之比值大於等於 10 時為該待測物之定量偵測極限 (Limit of quantitation; LOQ)。

此實驗取 25 mg 的毛髮浸泡於 0.1 M Phosphate buffer(pH 5.0)的試劑中, 加入各標準品, 45 °C 浸泡 18 小時, 隨後以 SPE 萃取及進行衍生化反應, 每次打入 10  $\mu$ L 進入 LC/MS/MS 分析, 將所得訊號去預估方法偵測極限。以  $S/N \geq 3$  定義為最低偵測極限;  $S/N \geq 10$  定義為最低定量極限。

### b. 建立檢量線

檢量線之建立為定量重要的依據, 而檢量線的點數應至少五點以上, 範圍之最低濃度最好大於三倍的方法偵測極限, 並且檢量線範圍能涵蓋分析物濃度範圍。線性相關係數  $r^2$  值最好大於 0.995。先將 MA、AP、MDA、MDMA、MDEA、K、NK 之標準品配製成濃度, 為 30、60、100、300、1000  $\mu$ g/mg 之濃度, 再加入內標準品 300  $\mu$ g/mg, 而 MOR、COD、6-AM、COC、BZE 之標準品配製成濃度, 為 100、200、400、800  $\mu$ g/mg 之濃度, 氮氣吹乾後, 加入 EA 50  $\mu$ L 回溶, 每次打入 10  $\mu$ L 進入 LC/MS/MS 分析, 在多重反應監測模式(Multiple reaction monitoring,MRM)下偵測。

### c. 精密度 (Precision) 與準確度 (Accuracy) 評估

為建立分析結果的可信度, 避免人為操作或儀器誤差的變動差異, 因而取低 (0.2  $\mu$ g/mg)、中 (1.0  $\mu$ g/mg)、高 (10  $\mu$ g/mg) 濃度的標準品, 本實驗方法由低濃度開始依序進行儀器分析, 將所得訊號分別帶入分析方法建立之檢量線, 經過計算得到分析物濃度值 (即理論值) 除以原標準品所添加濃度 (即實際值), 所得之比值為本研究之準確度評估。

而精密度用來表示分析方法的再現性 (reproducibility) 如何, 經過多次重複測定的結果, 若分析數值集中於一狹窄的分佈區域, 表示精密度良好。實驗中評估低 (0.2  $\mu$ g/mg)、中 (1.0  $\mu$ g/mg)、高 (10  $\mu$ g/mg) 各藥物之濃度標準品重複檢驗五次, 統計出平均值 (mean)、標準偏差 (standard deviation, SD), 計算其變異係數 (coefficient of variation, CV%), 所得比值即為精密度評估。

### 3. 結果與討論

#### 3-1 Dansyl Chloride 衍生化--初步探討

為了研究其在質譜訊號呈現的性質，本研究初步以 LCQ 離子阱式質譜儀進行以下工作。首先我們先以 ESI 偵測個別藥物衍生情形，結果發現訊號被衍生基質所影響，無法偵測到所預期的質荷比（圖 2-4），並顯示有差距為  $m/z$  68 ( $\text{NaHCO}_2$ , sodium formate clusters) 的離子團簇圖譜為主。

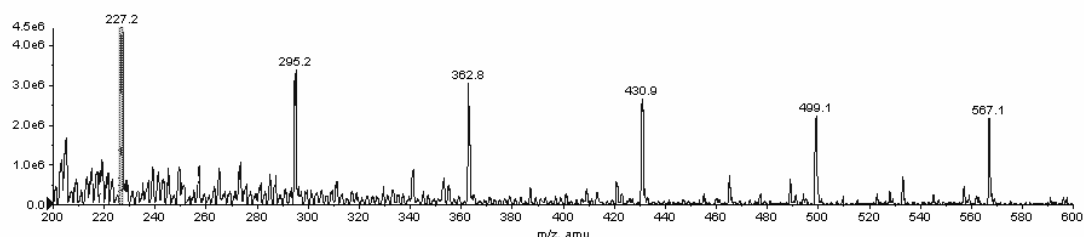


圖 1、DC-6-AM ( $m/z$  561) 衍生後直接注入之 ESI 圖譜

由於 APCI 對鹽類的耐受性較好，為確定 DC 衍生化是否成功，因此我們改以 APCI 離子源偵測，因，其圖譜就能呈現  $m/z = (M+234)$  的衍生後質荷比。在正離子 APCI 全圖譜掃描模式下，分析的所有藥物皆可在正離子 APCI 模式下偵測，衍生化後藥物之圖譜皆以  $[M + 234]$  為主。

完成 APCI 之全圖譜掃描，找到每個分析物強度最佳的分子離子後，找出碰撞後在二次質譜中呈現最強訊號的產物離子，如表 2-1。然而，Cod、K 與 NK 無法衍生上，故呈現其原態標準品裂解離子。其中，可待因在結構上無 DC 衍生化可反應之基團，如：酚類或一、二級胺基團，因此無法衍生，然而，Ketamine 與 nor-Ketamine 雖有一級與二級胺之基團，可能受到立體障礙之影響，經多次嘗試，也無法衍生成功。

表 1、衍生後藥物及代謝物裂解離子表

Name	M.W	After DC derivation	Polarity and transitions in APCI-MS/MS ( $m/z$ ) $\rightarrow$ ( $m/z$ )
Amp	135	368	369.2 $\rightarrow$ 263, 170, 157
MA	149	382	383.2 $\rightarrow$ 277, 170
MDA	179	412	413.5 $\rightarrow$ 263, 163, 170
MDMA	193	426	427.5 $\rightarrow$ 277, 163
THC	314	347	548.3 $\rightarrow$ 299, 313, 362, 492
THC-COOH	344	377	578.3 $\rightarrow$ 532, 560
Mor	285	518	519.4 $\rightarrow$ 501, 285, 267
6-AM	327	560	561.2 $\rightarrow$ 501, 327
Cod	299		300.5 $\rightarrow$ 282, 215, 243, 225
K	237		238.2 $\rightarrow$ 220, 207
NK	223		224.2 $\rightarrow$ 207, 179

#### 3-2 液相層析質譜方法建立

液相層析質譜方法建立採用 Phenomenex Gemini C18 150 $\times$  4.6 mm, Particle size 10  $\mu\text{m}$  之層析管柱。移動相 A 之溶劑本採用 Acetonitrile (polar index = 5.8)，但在實驗後發現其沖提能力不足，在 50 X 4.60 mm, Particle size 5  $\mu\text{m}$  的管柱，100% Acetonitrile 要約 23 分鐘才會沖提出 THC，且波寬持續約三分鐘，因此我們改以極性較低的異丙醇 (iso-propanol, polar index = 3.9)，THC-COOH 即可在 95 % IPA 情形下 3 min 被沖提出來。



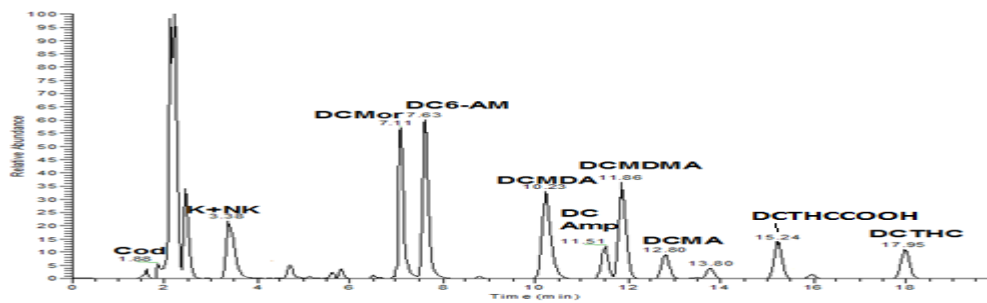


圖 2、Full scan (質量視窗在  $m/z$  400-600) 之 TIC 圖譜

### 3-3 Dansyl Chloride 衍生化之評估

為了達到最好的衍生化靈敏度，所以我們評估了衍生化時間對其訊號強度的關係。我們在衍生化中不同時間點抽出，以 LC-MS/MS 之 SRM 模式評估其訊號值大小，為了避免離子阱式質譜儀之跳動，其各離子訊號值經由可待因訊號值回歸做為內標，針對八種可被衍生化之化合物進行衍生化時間評估 (圖 3)。結果顯示，衍生化在第 8 分鐘時衍生化皆達到最高值的 90% 以上，然而在高溫的鹼性環境下 DC-6-AM 會有部分轉變(conversion)情形，因此將最佳衍生時間定義為 8 分鐘。

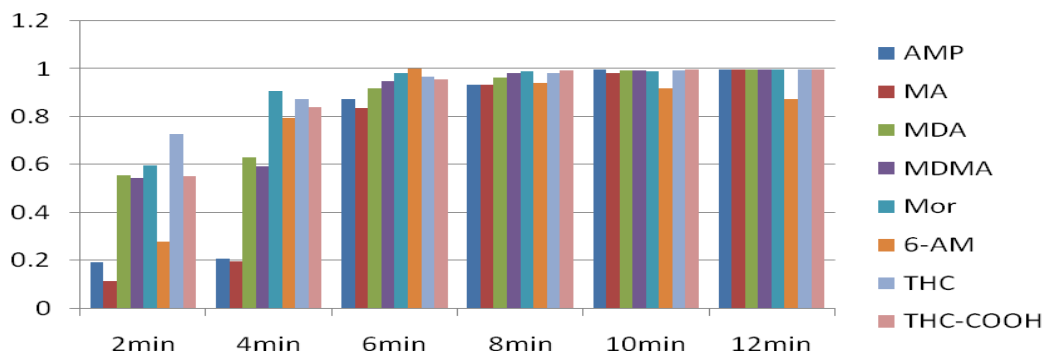


圖 3、衍生化時間與強度關係圖

### 3-4 方法轉移到三段四極式質譜儀

由於在離子阱式 LCQ classic 上，其需要儲存離子、掃描離子等等動作，使得偵測周期時間較久。雖在以衍生化後的 SRM 上的靈敏度不錯，考慮到多重藥物之分析，再加上定量時還要在加入內標定量離子，因此我們將研究轉移到掃描速度較快的三段四極柱式質譜儀。但兩種質譜儀因碰撞原理不同，所呈現的碎裂圖譜也有所差異。

表 2、API 3000 上產物離子掃描結果

	Precursor ion ( $m/z$ )	Collision Energy	Product ions
DC-Amp	369	40	156.4, 220.2, 263.3, 170.4
DC-MA	383	42	156.2, 220.3, 277.2, 170.4
DC-MDA	413	40	156.3, 220.2, 263.2, 170.4
DC-MDMA	427	45	156.3, 220.3, 277.2, 170.4
DC-MOR	519	40	285.5, 268.5, 170.5
DC-6AM	561	40	284.6, 327.5, 268.4
DC-THC	548	45	170.5, 299.6, 313.7, 362.6, 258.4
DC-THC-COOH	578	40	170.5, 326.6, 298.7, 234.3, 227.5

因三段四極柱式質譜儀的質量掃描速度較快，因此 LC 上分離條件可轉移至充填較小的 5 $\mu$ m，50 X 4.6 mm 的 C18 管柱上，以取得更好的層析解析度。且在分離條件上我們也藉由加快溶劑梯度以縮短總分析時間，達到較為環保的分析效果。

圖 2-25 為所建立之 MRM 結果與各種藥物分離之層析時間分布，其波寬皆小於 0.25 min，相較於 10  $\mu$ m 顆粒的管柱(平均波寬為 0.5 min)，層析之峰寬較窄，也藉由梯度提升速度較快，而得到總分析時間的減少。

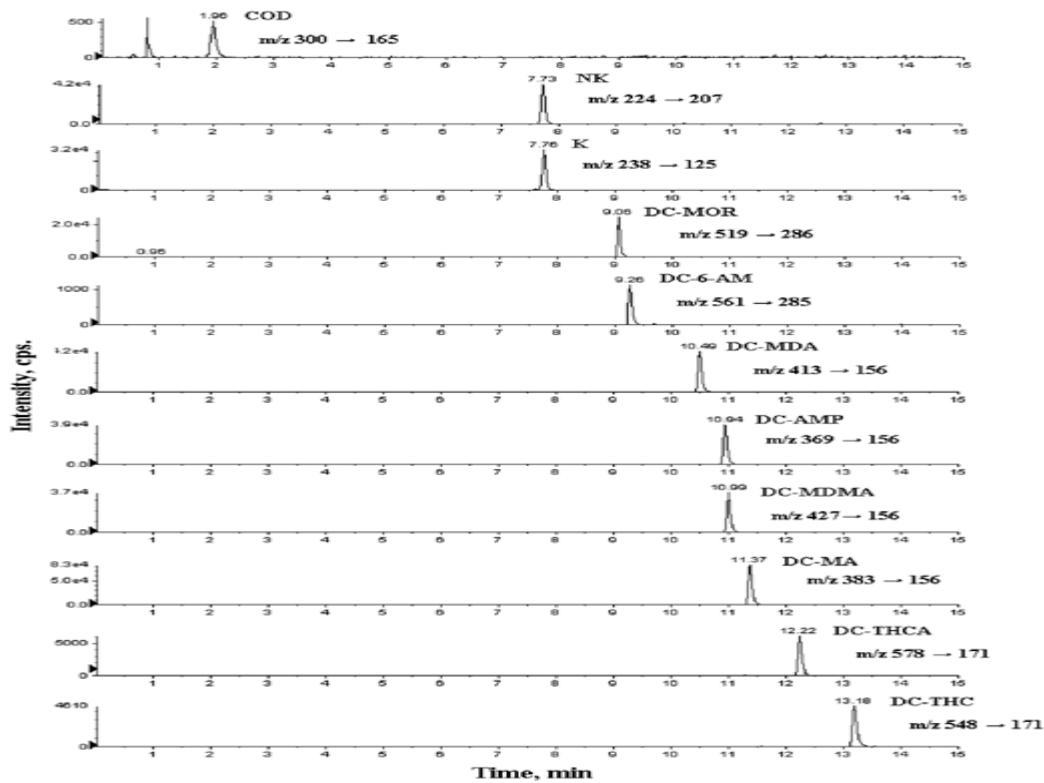


圖 4、標準品 MRM 模式掃描之層析時間分布圖

### 3-5 方法確效評估

#### (一)最低偵測極限評估

偵測極限代表分析方法的靈敏度，偵測極限越低，代表分析方法有越佳的靈敏度。本實驗偵測極限的作法是將標準品個別做不同濃度的稀釋，在 LC/MS/MS 以多重反應監測模式 (MRM) 分析，所得圖譜訊雜比大約等於 3 ( $S/N \geq 3$ )，以這樣的標準視為本研究的最低偵測極限值。

結果發現：DC-AP、DC-MOR、DC-THC-COOH 偵測極限為 1.0 pg/mg，DC-MA、DC-MDA、DC-MDMA 的方法偵測極限為 0.5 pg/mg，DC-6-AM、DC-THC 的方法偵測極限為 5 pg/mg；而在最低定量極限方面，定義為所得質譜圖之訊雜比大約等於 10，約為最低偵測極限的 3-5 倍，DC-AP、DC-MA、DC-MDA、DC-MDMA、DC-MOR、DC-6-AM、DC-THC、DC-THC-COOH 的最低方法定量極限分別為 3.5、3.5、2.8、4.5、10、20、20、10 pg/mg，K、NK、COD 的最低方法定量極限分別為 15、30、150 pg/mg。

經 DC 衍生化後，在 ESI 上方法之靈敏度皆優於原態藥物的結果。相較原態藥物在 APCI 上的改善，化學衍生化的方法在最低偵測極限上皆有改進，且具有 LC-MS 的優點，可廣泛偵測更多種類之藥物，達到高通量、高靈敏度的結果。其中相較於原態藥物在 APCI

的偵測上，MOR 的靈敏度上升了 20 倍，6-AM 與 THC 上升了 12 倍，胺類化合物也有 1.6~5 倍的提升，其中 THC-COOH 更可以在正離子模式下被偵測，而有 5 倍負離子 APCI 下的感度。

## (二) 檢量線建立

檢量線是定量分析時重要的依據，檢量線需要考慮到工作濃度範圍、線性範圍與最低偵測值。本研究在檢量線建立的實驗將 MA、AP、MDMA、MDA、MOR、6-AM、THC、THC-COOH、K、NK，取 30、60、100、300、1000 pg/mg 的濃度，加入 100pg/mg 之內標準品，COD 取 150、300、500、1000、10000 pg/mg 的濃度，加入 200 pg/mg 之內標準品，浸泡與萃取，吹乾後進行衍生，衍生後體積為 100 $\mu$ L，每次打入 10  $\mu$ L 進入 LC/MS/MS 分析，並以多重反應監測模式 (MRM) 進行分析。檢量線之線性相關係數值 ( $R^2$ ) 為 0.9824~0.9987，其中可被衍生之八種分析物之  $R^2$  皆大於 0.98。

## (二) 精密度與準確度評估

精密度代表重覆測量時，其測量值之間變動程度。本實驗以三種濃度做評估：低濃度 0.2 ng/mg、中濃度 5.0 ng/mg、高濃度 10 ng/mg 之藥物標準品，進行準確度與精密度之評估。

### 1. 同日內的精確度和準確度 (Intra-day precision and accuracy)

每個濃度點所得 3 次分析圖譜，算出 3 次分析物濃度值，再換算出標準偏差及變異係數。並將所得標準差除以所得 3 次理論值之算術平均數 (即  $SD/mean$ )，所得比值為本實驗的精密度評估。在低濃度 0.2 ng/mg，精密度除了 DC-6-AM 與 DC-THC 分別為 13.8%、11.4%，其餘藥物的精密度皆於 10% 以下；中濃度 5.0 ng/mg，精密度除了 DC-6-AM 為 10.5%，其餘藥物的精密度皆於 10% 以下，高濃度 10 ng/mg 得到精密度在 10 % 以下，而準確度方面除低濃度 DC-THC 為 10.6%，其餘皆在 10% 的誤差範圍以內。中、高濃度都在 10% 的誤差範圍以內。

### 2. 異日內的精確度和準確度 (Inter - day precision and accuracy)

三個濃度點於五天中逐日各進行一次分析，算出五次分析物濃度值並計算平均值，再換算出標準偏差及變異係數。在低濃度 0.2 ng/mg，精密度除了 DC-MOR、DC-6-AM、DC-THC 分別為 16.4%、19.8% 與 17.4%，其餘藥物的精密度皆於 15% 以下，中濃度 5.0 ng/mg 精密度除了 DC-6-AM 與高濃度 10 ng/mg 得到精密度在 10 % 以下，而準確度方面除低濃度 DC-6-AM 與 DC-THC 為 11.7% 與 13.7，其餘都在 10% 的誤差範圍內，中濃度皆於 10% 的誤差範圍內、高濃度的 DC-THC 為 11.3%，其餘都在 10% 的誤差範圍內。

## 3-6 真實檢體之方法驗證

本研究之檢體來送驗之煙毒嫌疑犯之毛髮，檢體經相同前處理方式浸泡與萃取後，等量分成兩管分別進行 HFBA 衍生 (GC-MS) 與 dansyl chloride 衍生 (LC-MS/MS)，以驗證同一檢體以不同質譜技術分析，能得到一致性的結果。

結果顯示 (表 3)，以 GC-EI/MS 進行分析得到的結果，在 MA 此項目中有 1 個檢體呈陽性，MDMA、MDA 有 4 個檢體呈陽性，K 有 4 個檢體呈陽性，NK 有 1 個檢體呈陽性，MOR 與 6-AM 有 1 個檢體呈陽性。

相較以 dansyl chloride 衍生後的 LC-MS/MS 結果，其定量的結果與 GC-MS 的結果有高度的一致性，其中更在檢體 B 中偵測到 DC-AP 的訊號，在檢體 C 與 D 中偵測到 DC-MA

與 DC-AP 的訊號。檢體 C 中可檢出 DC-MOR 與 DC-6-AM 的訊號，但檢出量低於 GC-MS 之靈敏度，因此無法被 GC-EIMS 所偵測到。

表 3、真實毛髮分析比較結果 (單位: pg/mg)

Subject	Instrument	AP	MA	MDA	MDMA	NK	K	MOR	COD	6-AM
A	GC-MS	N.D.	N.D.	757.1	9622.4	6656.3	16457.2	N.D.	N.D.	N.D.
	LC-MS/MS	N.D.	N.D.	877.7	11015.8	7273.9	18262.7	N.D.	N.D.	N.D.
B	GC-MS	N.D.	165.3	470.4	5282.2	4532.5	22319.0	2149.1	N.D.	3266.2
	LC-MS/MS	19.9	169.6	567.1	5845.6	4800.3	26016.3	1512.6	N.D.	2666.1
C	GC-MS	N.D.	N.D.	320.3	3515.5	5141.6	8400.7	N.D.	N.D.	N.D.
	LC-MS/MS	10.7	20.5	277.0	3929.8	4950.6	8617.9	8.2	N.D.	11.4
D	GC-MS	N.D.	N.D.	292.3	3932.2	4566.4	18039.1	N.D.	N.D.	N.D.
	LC-MS/MS	9.2	47.3	206.4	2872.2	1739.8	13375.5	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.: not detected

#### 4. 成果自評與展望

1. 直接以 ESI 偵測 Dansyl chloride 衍生後之基質，其結果顯示強烈之離子團簇干擾 (NaHCO<sub>2</sub>, sodium formate clusters)，但以 APCI 進行離子化後能去除鹽類之影響，並能顯示出衍生後的離子峰。
2. 在 APCI 下，經 dansyl chloride 衍生的化合物之靈敏度普遍皆優於原態藥物，尤其在具酚類基團之化合物上有良好的靈敏度提升，且衍生化的時間短，可提升在原態藥物偵測時訊號不佳的酚類化合物 (MOR、6-AM、THC、THC-COOH) 的偵測靈敏度。
3. 液相層析方面，以異丙醇作為低極性的移動相代替常使用的甲醇或乙晴，雖造成液相層析中背壓的上升，卻能利用其高沖提能力，縮短低極性的衍生物之沖提時間。
4. 相較於原態藥物，以 ESI 進行 dansyl chloride 衍生物的偵測，能提高酚類化合物的靈敏度，其中在 MOR 與 THC-COOH 甚至達到 30 倍以上的提升。對於一、二級胺類化合物的偵測也有 5~20 倍的提升效果。然而對無法被衍生的 COC、BZE、K、NK、與 COD 方面，此方法也有 3~5 倍的靈敏度增加，應為 LC 上波寬的窄化與層析條件的優化所導致，進而使得 ESI 之偵測靈敏度較好。因此不論是在於衍生或未衍生的化合物，此方法都有靈敏度上的改進。
5. 而經衍生後的 DC-THC-COOH 可在正離子模式下偵測，很適合多重藥物同時偵測。本方法在 THC-COOH 的毛髮中偵測靈敏度目前可符合歐洲方面之要求，但尚未達到美國 SAMSA 之要求。
6. Dansyl chloride 的衍生方式可被應用在毛髮檢體分析中，達成更高靈敏度的偵測結果，將有助於提升濫用藥物的檢驗能力，赫止毒品之蔓延。

## 參考文獻

1. Wu YH, Lin KL, Chen SC, Chang YZ (2008). Integration of GC/EI-MS and GC/NCI-MS for simultaneous quantitative determination of opiates, amphetamines, MDMA, ketamine, and metabolites in human hair. *J. Chromatogr. B.* 870: 192–202.
2. Stanaszek R, Piekoszewski W (2004). Simultaneous determination of eight underivatized amphetamines in hair by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (HPLC-APCI-MS) .*J. Anal. Toxicol.* 20: 77-85.
3. Scheidweiler KB, Huestis MA (2004). Simultaneous quantification of opiates, cocaine, and metabolites in hair by LC-APCI-MS/MS. *Anal. Chem.* 76: 4358-4363.
4. Marquet P (2002). Progress of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical and forensic toxicology. *Therapeut. Drug Monit.* 24: 255-276.
5. Quirke JME, Adams CL, and VenBerkel G (1994). Chemical Derivatization for Electrospray Ionization-Mass Spectrometry. 1. Alkyl halides, Alcohols, Phenols, Thiols, and Amines. *J. Anal. Chem.* 66: 1302-1315.
6. Samuelsson J, Franz A, Stanley BJ, Fornstedt T (2007). Thermodynamic characterization of separations on alkaline-stable silica-based C18 columns: why basic solutes may have better capacity and peak performance at higher pH. *J Chromatogr A.* 1163: 177–189.
7. Anari MR, Bakhtiar R, Zhu B, Huskey S, Franklin RB, Evans DC (2002). Derivatization of ethinylestradiol with dansyl chloride to enhance electrospray ionization: application in trace analysis of ethinylestradiol in rhesus monkey plasma. *Anal. Chem.* 74: 4136-4144.
8. Yamada H, Ikeda-Wada S, Oguri K (1998). A new screening method for amphetamine and methamphetamine using dansyl chloride derivatization and cartridge fluorescence. *Biol. Pharm. Bull.* 21: 778–781.
9. Li WK, Li YH, Li AC, Zhou SL, Weng ND (2005). Simultaneous determination of norethindrone and ethinyl estradiol in human plasma by high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry--experiences on developing a highly selective method using derivatization reagent for enhancing sensitivity. *J. Chromatogr. B* 825: 223-232.
10. Lien GW, Chen CY, Wang GS (2009). Comparison of electrospray ionization, atmospheric pressure chemical ionization and atmospheric pressure photoionization for determining estrogenic chemicals in water by liquid chromatography tandem mass spectrometry with chemical derivatizations. *J. Chromatogr. A* 1216: 956–966.

# 科技部補助專題研究計畫出席國際學術會議心得報告

日期：103 年 10 月 26 日

計畫編號	NSC 102-2113-M-040 -003		
計畫名稱	多重濫用藥物 微量毛髮檢驗之開發		
出國人員姓名	張耀仁	服務機構及職稱	中山醫學大學 醫學研究所
會議時間	103 年 6 月 15 日 至 103 年 6 月 19 日	會議地點	美國-巴爾地摩
會議名稱	(中文) 62 屆 美國質譜學會年會 (英文) 62 <sup>ND</sup> ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics		
發表題目	(中文) 以全自動化連線之固相萃取-液相層析串聯質譜儀 分析 毛髮 中鄰苯二甲酸 (2-乙基己基)酯(DEHP)之代謝物 (英文) Detection of di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human hair by automated online solid phase exaction coupled with LC-MS/MS		

## 一、參加會議經過

為促進質譜技術開發與應用，美國化學學會所屬之質譜學會(American Society of Mass Spectrometry, ASMS) 每年五、六月間會舉辦一次國際性會議。今年在美國-馬里蘭州-巴爾地摩(Baltimore, Maryland, USA) 舉行，時間為 6 月 15 日至 6 月 19 日。

與會者多為世界各國質譜之學者或其研究與工作應用到質譜之相關人士與學生。由於質譜應用極廣，因此相關質譜儀器製造廠商、層析儀器製造領域廠商、相關零組件領域廠商與檢測領域廠商與會人士也不少。大會安排議程

中，除各項儀器之發展與應用領域之技術開發之論文，報告及海報論文外，並有全世界質譜儀各廠牌之廠商前瞻性產品展示和 workshop，提供互相較勁之舞台，已呈現最新儀器發展之詳細介紹與檢驗應用新知。

大會於 6 月 14 日下午舉行歡迎會，在歡迎會之前，即由 Lucinda Cohen (Merck Research Laboratories)與 Ron M. A. Heeren (FOM-AMOLF)進行回顧與導覽演講，講題分別為” Mass Spectrometry in the Pharmaceutical Industry: Everything You Ever Wanted to Know but Were Afraid to Ask 與” Imaging Mass Spectrometry”。相當有趣。接下來四天，即分成八個大議事廳，每天上午與下午各 2 個小時，每講題 20 分鐘，同時進行學術專題演講。而中間 4 個小時為壁報論文發表(每天有 7-800 篇壁報論文發表)與廠商儀器新知研討會，而每天下午 5:45 - 7:00 亦經心安排 12-13 場的 Workshop，針對較非學術之重要議題進行討論，最後一天下午則安排 Rice 大學 Aiden 教授做大會結束演講，講題為 How the Genome Folds，給大家更多的展望空間。

學術專題演講之主題，涵蓋範圍極為廣泛，包含：基礎質譜、儀器發展、與質譜的各項應用，包含蛋白體(Proteomic)、醣蛋白(glycoproteins)、代謝體學 (metabolomics)、酯質體 (Lipidomics)、Carbohydrates、Plant “omics”、Phosphoproteomics in Disease、緊急的環境污染物(Emerging Environmental Contaminants)、藥廠製藥應用之新發展(pharmaceutical applications)、Antibody-Drug Conjugates、質譜影像 (image MS)、毒物學 (toxicology)、鑑識科學應用(Forensic Applications)、食品化學與安全(Food Chemistry and Safety)、離子激化與解離之基礎理論(fundamentals of ion activation and dissociation)、核酸質譜技術 ( nucleic acid mass spectrometry)、與 Bio-Informatics 等等。

**MONDAY**

<b>7:30 AM - 5:00 PM</b>	<b>REGISTRATION</b>
<b>8:30 - 10:30 AM</b>	<p><b>ORAL SESSIONS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• MOA am: Emerging Environmental Contaminants, Exhibit Hall AB, level 1</li> <li>• MOB am: Instrumentation: New Developments in High Resolution and Mass Accuracy to Celebrate Alan Marshall's 70th Birthday, Room 307-308, level 3</li> <li>• MOC am: Nucleic Acids, Room 309-310, level 3</li> <li>• MOD am: Fundamentals: Reactions, Dynamics and Theory of Gas Phase Ions, Room 314-317, level 3</li> <li>• MOE am: Antibodies and Antibody-Drug Conjugates, Ballroom I, level 4</li> <li>• MOF am: H/D Exchange: New Developments in Technology, Ballroom II, level 4</li> <li>• MOG am: Informatics: Protein Identification, Ballroom III, level 4</li> <li>• MOH am: PTMs: Advances in Isolation, Enrichment, Derivatization and Separation, Ballroom IV, level 4</li> </ul>
<b>10:30 AM - 2:30 PM</b>	<p><b>POSTER SESSION AND EXHIBITS</b>, Poster/Exhibit Hall, level 1</p> <p>Monday posters 12:00 – 1:00 pm: <b>Undergraduate students</b> – look for reserved tables to <i>Meet the Experts</i></p>
<b>2:30 - 4:30 PM</b>	<p><b>ORAL SESSIONS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• MOA pm: Polymer- and Packaging-Related Contaminants and Degradants in Consumer Products, Exhibit Hall AB, level 1</li> <li>• MOB pm: Instrumentation: Mini/Portable/Fieldable Mass Spectrometry, Room 307-308, level 3</li> <li>• MOC pm: Ion Mobility: Structures to Celebrate Mike Bowers' 75th Birthday, Room 309-310, level 3</li> <li>• MOD pm: Photoionization, Room 314-317, level 3</li> <li>• MOE pm: Characterization of Biologics and Biosimilars, Ballroom I, level 4</li> <li>• MOF pm: Quantitative Analysis in Drug Discovery and Development, Ballroom II, level 4</li> <li>• MOG pm: Informatics: Protein Quantification, Ballroom III, level 4</li> <li>• MOH pm: Imaging: Biomedical Applications, Ballroom IV, level 4</li> </ul>
<b>4:45 - 5:30 PM</b>	<p><b>AWARD LECTURE</b>, Exhibit Hall AB, level 1</p> <div style="display: flex; align-items: center;">  <div> <p><b>Award for a Distinguished Contribution in Mass Spectrometry</b></p> <p><b>Richard M. Caprioli</b> Vanderbilt University</p> </div> </div>
<b>5:45 - 7:00 PM</b>	<p><b>WORKSHOPS</b> All workshops are located on level 3. There are light refreshments on level 3.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Real World Applications of Photoionization; Room 307-308</li> <li>2. Taming Errors for Peptides with Post-Translational Modifications (organized by Bioinformatics for MS Interest Group); Room 309-310</li> <li>3. Applying Ion Mobility to Biological Problems (organized by Ion Mobility MS Interest Group); Room 314-317</li> <li>4. How to Succeed in Pharma without Really Trying; Room 327</li> <li>5. Discussion on MS Analysis of Oligonucleotides: Methodology and Informatics (organized by DNA/RNA Interest Group); Room 336</li> <li>6. Use of Mass Spectrometry to Overpower Complexity of Biofuels and Petroleum (organized by Energy, Petroleum &amp; Biofuels Interest Group); Room 337</li> <li>7. Getting the Most out of Undergraduate Mass Spectrometry Research (organized by Undergraduate Research in MS Interest Group); Room 338</li> <li>8. ProteomicsDB; Room 339-340</li> <li>9. Working with Federal Agencies to Obtain Research Support. Session I: Counsel and Resources for Interactions with Federal Funding Agencies; Room 341-342</li> <li>10. Systems of Annotation and Reporting Requirements for Lipid Mass Spectrometry (organized by Lipids and Lipidomics Interest Group); Room 343-344</li> <li>11. A State of the Union for Biomarker Translation (organized by Clinical Chemistry Interest Group); Room 345-346</li> <li>12. Antibody Drug Conjugates as Pharmaceutical Agents (organized by Pharmaceuticals Interest Group); Room 347-348</li> <li>13. Roundtable Discussion on Research Challenges in Forensics and Homeland Security (organized by Forensics and Homeland Security Interest Group); Room 349-350</li> </ol>
<b>7:00 - 8:00 PM</b>	<b>DINNER BREAK</b>
<b>AFTER 8:00 PM</b>	<b>CORPORATE HOSPITALITY SUITES</b> , Hilton Hotel



**TUESDAY**

<b>7:30 AM - 5:00 PM</b>	<b>REGISTRATION</b>
<b>8:30 - 10:30 AM</b>	<p><b>ORAL SESSIONS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• TOA am: Integrated Qualitative and Quantitative LC-MS for Small Molecule Analysis, Exhibit Hall AB, level 1</li> <li>• TOB am: Instrumentation and Methods: FT, Ion Traps and Hybrid Instruments, Room 307-308, level 3</li> <li>• TOC am: Ion Mobility: Separations, Room 309-310, level 3</li> <li>• TOD am: Macromolecular Complexes: Activation and Dissociation, Room 314-317, level 3</li> <li>• TOE am: PK/PD Analysis of Biologics, Ballroom I, level 4</li> <li>• TOF am: H/D Exchange: Biological Applications, Ballroom II, level 4</li> <li>• TOG am: Phosphoproteomics in Disease, Ballroom III, level 4</li> <li>• TOH am: Imaging: Pharmaceuticals and Metabolomics, Ballroom IV, level 4</li> </ul>
<b>10:30 AM - 2:30 PM</b>	<p><b>POSTER SESSION AND EXHIBITS</b>, Poster/Exhibit Hall Tuesday posters</p>
<b>2:30 - 4:30 PM</b>	<p><b>ORAL SESSIONS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• TOA pm: Space Science, Astrobiology, and Atmospheric Chemistry, Exhibit Hall AB, level 1</li> <li>• TOB pm: Nano-Scale and Microfluidic Separations and Mass Spectrometry, Room 307-308, level 3</li> <li>• TOC pm: Protein-Protein and Protein-Ligand Interactions, Room 309-310, level 3</li> <li>• TOD pm: Fundamentals of Peptide Fragmentation, Room 314-317, level 3</li> <li>• TOE pm: Top-Down Protein Analysis, Ballroom I, level 4</li> <li>• TOF pm: Drug Target Discovery and Validation, Ballroom II, level 4</li> <li>• TOG pm: Clinical Diagnostics, Ballroom III, level 4</li> <li>• TOH pm: Imaging: Fundamentals, Instrumentation, and Method Development, Ballroom IV, level 4</li> </ul>
<b>4:45 - 5:30 PM</b>	<p><b>AWARD LECTURE</b>, Exhibit Hall A/B (lower level)</p> <div style="display: flex; align-items: center;">  <div> <p><b>Biemann Medal</b></p> <p><b>Lingjun Li</b> University of Wisconsin-Madison</p> </div> </div>
<b>5:45 - 7:00 PM</b>	<p><b>WORKSHOPS</b> All workshops are located on level 3. There are light refreshments on level 3.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. H/D Exchange, Covalent Labeling and Crosslinking (organized by H/D Exchange, Covalent Labeling &amp; Cross Linking Interest Group); Room 307-308</li> <li>2. LC-MS System Performance Tracking in LC-MS Tracking in LC-MS (organized by LC/MS &amp; Related Topics Interest Group); Room 309-310</li> <li>3. Antibody-Drug Conjugates (ADC) - A Complex Problem in Regulated Bioanalysis (organized by Regulated Bioanalysis Interest Group); Room 314-317</li> <li>4. Controlling and Measuring Variation in Sample Preparation and Data Analysis in a Core Facility Environment (organized by Analytical Lab Managers Interest Group); Room 336</li> <li>5. FTMS: ICR and Orbitrap (organized by FTMS Interest Group); Room 337</li> <li>6. Environmental Impacts and Implications of Hydrocarbon Extraction and Processing – The Role of Mass Spectrometry (organized by Environmental Applications Interest Group); Room 338</li> <li>7. Gas Phase Ion Chemistry – Thermochemistry, Kinetics and Structures. In Honor of John Bartmess (organized by Fundamentals Interest Group); Room 339-340</li> <li>8. The NIH Review Process and Mock NIH Study Section; Room 341-342</li> <li>9. Imaging Mass Spectrometry vs. Histology (organized by Imaging MS Interest Group); Room 343-344</li> <li>10. Metabolomics: Emerging Technologies for Continued Innovation (organized by Metabolomics Interest Group); Room 345-346</li> <li>11. 50 Years of the British Mass Spectrometry Society: Past, Present &amp; Future; Room 347-348</li> <li>12. CHORUS – A Community Solution for the Storage, Visualization, Sharing, and Analysis of Mass Spectrometry Data on the Cloud; Room 349-350</li> </ol>
<b>7:00 - 8:00 PM</b>	<b>DINNER BREAK</b>
<b>AFTER 8:00 PM</b>	<b>CORPORATE HOSPITALITY SUITES</b> , Hilton Hotel

**WEDNESDAY**

<b>7:30 AM - 5:00 PM</b>	<b>REGISTRATION</b>
<b>8:30 - 10:30 AM</b>	<p><b>ORAL SESSIONS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• WOA am: Energy, Petroleum, and Biofuels: Advances in Sample Preparation and MS Interface Design, Exhibit Hall AB, level 1</li> <li>• WOB am: Ambient and Atmospheric Pressure Ionization: Fundamentals, Room 307-308, level 3</li> <li>• WOC am: The Triple Quadrupole: 35 Years of Evolution and Application to Celebrate Chris Enke's 80th Birthday, Room 309-310, level 3</li> <li>• WOD am: Quantitative Proteomics in Systems Biology/Cellular Pathway Analysis, Room 314-317, level 3</li> <li>• WOE am: Peptidomics, Ballroom I, level 4</li> <li>• WOF am: Pharmacoproteomics and Toxicoproteomics for Drug Development, Ballroom II, level 4</li> <li>• WOG am: PTMs: Comprehensive Analysis, Ballroom III, level 4</li> <li>• WOH am: Lipids and Profiling, Ballroom IV, level 4</li> </ul>
<b>10:30 AM - 2:30 PM</b>	<p><b>POSTER SESSION AND EXHIBITS</b>, Poster/Exhibit Hall</p> <p>Wednesday posters</p>
<b>2:30 - 4:30 PM</b>	<p><b>ORAL SESSIONS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• WOA pm: Energy, Petroleum, and Biofuels: Advances in MS Design and Informatics, Exhibit Hall AB, level 1</li> <li>• WOB pm: Ambient Ionization: Instrumentation and Applications, Room 307-308, level 3</li> <li>• WOC pm: Ecological and Human Health Environmental Chemistry and Toxicology, Room 309-310, level 3</li> <li>• WOD pm: Fundamentals: New Ion Activation Methods, Room 314-317, level 3</li> <li>• WOE pm: Plant "omics", Ballroom I, level 4</li> <li>• WOF pm: Proteomics: Infectious Diseases, Ballroom II, level 4</li> <li>• WOG pm: Targeted Quantification of Proteins and Post-translational Modifications, Ballroom III, level 4</li> <li>• WOH pm: Membrane Proteins, Ballroom IV, level 4</li> </ul>
<b>4:45 - 5:30 PM</b>	<b>ASMS MEETING</b> , Ballroom I, level 4 Awards, board reports, wine, beer, soft drinks - and more!
<b>5:45 - 7:00 PM</b>	<p><b>WORKSHOPS</b> All workshops are located on level 3. There are light refreshments on level 3.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. The DIA Primer (organized by Data Independent Acquisition Interest Group); Room 307-308</li> <li>2. Mechanisms to Process Data Given Software Restrictions Across Vendors (organized by DMPK Interest Group); Room 309-310</li> <li>3. Characterization of Biologics by Mass Spectrometry (organized by Biotherapeutics Interest Group); Room 314-317</li> <li>4. Get Ready to Become a MS Rising Star (organized by Young Mass Spectrometrists Interest Group); Room 336</li> <li>5. Have Quadrupole Ion Traps Passed their Prime Time? (organized by Ion Trap Interest Group); Room 337</li> <li>6. Advancements and Discussion of Mass Spectrometry Technology and Challenges within the Polymer and Material Fields (organized by Polymeric Materials Interest Group); Room 338</li> <li>7. The Galaxy Framework for Biological MS Informatics: Practical Tips for Software Developers and Users; Room 339-340</li> <li>8. Using Mass Spectrometry to Characterize the Exposome and Its Impact on Human Health; Room 341-342</li> <li>9. PowerPoint Design Tips and Tricks: How Your Slides Could be Hurting Your Talk and Your Message; Room 343-344</li> <li>10. Quantitative Glycomics; Room 345-346</li> <li>11. Current Trends, Gaps, and Needs in Workflows for Absolute Protein Quantitation by LC-MS; Nalini Sadagopan, Room 347-348</li> <li>12. Modern GCMS for Flavor, Fragrance and Foodstuffs Analysis: GC QQQ and GC HRMS (organized by Flavor Fragrance and Foodstuff Interest Group); Room 349-350</li> <li>13. Mass Spectrometry Applications in Art, Cultural Heritage, and Natural History, Room 327</li> </ol>
<b>7:00 - 8:00 PM</b>	<b>DINNER BREAK</b>
<b>AFTER 8:00 PM</b>	<b>CORPORATE HOSPITALITY SUITES</b> , Hilton Hotel

**THURSDAY**

<b>7:30 AM - 5:00 PM</b>	<b>REGISTRATION</b>
<b>8:30 - 10:30 AM</b>	<b>ORAL SESSIONS</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ThOA am: Forensic Applications, Exhibit Hall AB, level 1</li> <li>• ThOB am: Instrumentation: New Developments in Ionization and Sampling, Room 307-308, level 3</li> <li>• ThOC am: FAIMS and DMS: New Developments and Applications, Room 309-310, level 3</li> <li>• ThOD am: Radical Ion Chemistry, Room 314-317, level 3</li> <li>• ThOE am: Biomarkers in Drug Discovery, Development and Diagnosis, Ballroom I, level 4</li> <li>• ThOF am: Covalent Labeling, Chemical Probes, and Crosslinking for Biomolecule Structural Characterization, Ballroom II, level 4</li> <li>• ThOG am: Informatics: Metabolomics, Ballroom III, level 4</li> <li>• ThOH am: Glycoproteins and Glycans: New MS Approaches, Ballroom IV, level 4</li> </ul>
<b>10:30 AM - 2:30 PM</b>	<b>POSTER SESSION AND EXHIBITS</b> , Poster/Exhibit Hall Thursday posters
<b>2:30 - 4:30 PM</b>	<b>ORAL SESSIONS</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ThOA pm: Food Chemistry and Safety, Exhibit Hall AB, level 1</li> <li>• ThOB pm: Instrumentation: Time-of-Flight Mass Spectrometry, Room 307-308, level 3</li> <li>• ThOC pm: Mass Spectrometry in Structural Biology, Room 309-310, level 3</li> <li>• ThOD pm: Fundamentals: Ion Spectroscopy, Room 314-317, level 3</li> <li>• ThOE pm: Data Independent Acquisition, Ballroom I, level 4</li> <li>• ThOF pm: Epigenetic Modifications and Mechanisms, Ballroom II, level 4</li> <li>• ThOG pm: Metabolomics/Lipidomics: New MS Technologies and Applications, Ballroom III, level 4</li> <li>• ThOH pm: Carbohydrates: New MS Approaches, Ballroom IV, level 4</li> </ul>
<b>4:45 - 5:30 PM</b>	<b>PLENARY LECTURE</b> , Exhibit Hall AB, level 1  <div style="display: flex; align-items: center;">  <div> <p><b>How the Genome Folds</b></p> <p><b>Erez Lieberman Aiden</b>                      Baylor College of Medicine and Rice University</p> </div> </div>
<b>6:30 - 9:00 PM</b>	<b>CLOSING EVENT</b> , National Aquarium. Ticket required

## 二、與會心得

1. 由於同時有 8 場演講，筆者大多捨棄主流的蛋白質體的演講（國內有蠻多學者從事生物蛋白質體研究）與過去喜歡的新儀器開發，主要聚焦在小分子的質譜應用研究上，包含：毒藥物分析、定量定性之議題、運動禁藥分析、小分子醫學應用、食品安全分析、環境污染物分析、代謝體、脂質體與相關新儀器之發展趨勢等。由每天有 7-800 篇壁報論文發表，只有 4 個小時，因此只針對上述

課題去吸收知識。

2. 而每天下午 5:45 - 7:00 大會經心安排 12-13 場的 Workshop，針對較非學術之重要議題進，亦只能選擇 3-4 場進行，在與國內與會學者互相討論，不同場次之議題，並進行思考，例如周三的其中一個議題：Have Quadrupole Ion Traps Passed their Prime Time? 3D 與 2D 的離子阱質譜儀還有發展空間嗎??。會不會被淘汰，赫然發覺學生時代，很熟的離子阱已經在被討論，要不要淘汰了。時代在變了。變得很快，我也不知道未來會怎樣發展?? 正如同：『新穎的，尚不實用的』，往往會受到重視，會發表在高分的期刊，但 5 年 10 年後銷聲匿跡，無影無蹤。

3. 晚上則在 Hilton Hotel 有 corporate Hospitality Suites，除提供大家親身接觸到各廠商最新儀器展示機外，與其儀器工程師、應用工程師有極多的交流機會，亦有機會碰到資深或高階之原廠人員，進行更深入之交流討論。

4. 看到大會資料，發現今年已是第六十二屆美國質譜學會年會(62<sup>ND</sup> ASMS Conference Mass Spectrometry)，比我年紀還大 10 多年，而回溯 ASMS 創辦成立應該在民國 40 年前後，竟然在 2 次世界大戰期間。

5. 今年是三段四級式質譜儀發表 35 周年(1979 年)，大會於第三天安排了一場老、中、青的接力演講，由白髮蒼蒼的普渡大學 Cooks 教授主持，Florida 大學 Yost 教授（主要發明者）開始演講，題目為：The Triple Quadrupole: An Historical Perspective，隨後由 4 個不同國家的質譜學家(UK、Canada、USA 與荷蘭)演講報導相關之理論與儀器之新近發展，最後由看起來更老旦，但極為風趣、有活力、有個人特質的 Enke 教授(New Mexico University) 做最後演講，題目為：Room for Improvement，提供更多的研究提升的思考空間。

6. 看到這些「老」質譜學者，似乎比我們還有活力，它們講述 35 年前，如何討論、構思、發展、做出可行的碰撞室，變成 Triple Quadrupole，如何結合理論與實務，說服廠商、協助廠商，將自己的心血變成儀器，如何應用到

實務，變成可行的東西，使我有更多、更大的感慨。即使現今有許許多多更新穎、更昂貴的質譜儀。Triple Quadrupole MS 仍是最靈敏的。這些以往只能在 paper 上看到，或在上課時跟學生提到的人物，就栩栩如生，活靈活現在你眼前，眼睛裡仍充滿著當初做研究的亮光。在他們的幽默話語與笑聲中，感念到國內研究環境，好的學生往學術環境發展，似乎越來越少，經濟的考量、就業的迷惘（就業環境不佳；少子化的衝擊，大學教職位置不多）。

### 三、發表論文全文或摘要

#### **Detection of di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human hair by automated online solid phase extraction coupled with LC-MS/MS**

Name: Yuan Jhe Chang and Yan Zin Chang

##### **Introduction (120 字內)**

Di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) is an endocrine disrupting chemical that widely used as the major plasticizer for worldwide plastic products. It can cause the several toxic effects to human with high dose exposure. In response to need of human exposure assessment, different biological specimens are taken into account. Comparison to blood, urine and other specimens, hair is unique in that could determine the time period of chemical exposure after several months to years. Therefore, a reliable and sensitive analytical method of hair was developed for long-term biological monitoring the DEHP exposure in human by its five specific metabolites, mono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP), mono-(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)phthalate (MEHHP), mono-(2-ethyl-5 -oxy-hexyl phthalate (MEOHP), mono-(2-ethyl-5-carboxypentyl)phthalate (5cx-MEPP) and mono-[2-(carboxymethyl) hexyl] phthalate (2cx-MMHP).

##### **Method (120 字內)**

The developed method consists of solution incubation, liquid-liquid extraction, and automation on line solid phase extraction couple high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). All of hair was decontaminated with 2 mL dichloromethane. After that, hair samples were generally cut into small pieces, and then weighted 25 mg placed into glass tube. The MEHP, MEHHP, MEOHP, 5cx-MEPP and 2cx-MMHP standard-spiked hair samples were prepared for method development and quality control with low ( $Q_{low}$ ) and high ( $Q_{high}$ ) concentration at 10 and 25 pg/mg, respectively. All of calibrators, pooled blank hair and authentic hair specimens that were all contained 10 pg/mg of  $^{13}C_4$ -MEHP,  $^{13}C_4$ -MEHHP,  $^{13}C_4$ -MEOHP and  $^{13}C_4$ -5cx-MEPP.

The extraction efficiency of five metabolites of DEHP from hair to incubation media was estimated by pooled authentic hair specimens. Eleven different incubation media that include 0.1 N HCl, 0.01 N HCl, 0.1 M phosphate buffer (PB) solution at pH range from 5 to 8, and 0.1 M sodium bicarbonate (NaHCO<sub>3</sub>) buffer solution at pH 9–11, methanol and methanol/TFA (85:15, %) mixture were investigated.

#### **Preliminary data (300 字內)**

In order to obtain the adequate sensitivity for determination of MEHP, MEHHP, MEOHP, 5cx-MEPP and 2cx-MMHP in human hair, the MRM mode was considered as simultaneously monitor for five metabolites. The LC system with core-shell column was used for determining five metabolites of DEHP in hair. The chromatography behaviors with narrow peak width at about 0.1 min for all analytes were achieved. Because hair is solid form, the estimation of released efficiency for interested compounds from hair must be carried out on authentic hair specimens instead of standard-spiked sample. From the evaluation of eleven incubation media, it showed that the 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> buffer solution gave the highest release efficiency for all analytes except MEHP. Although larger amount of MEHP could be released by using mixture of methanol and TFA, but the other metabolites were significantly lower. In addition, the 5cx-MEPP and 2cx-MMHP could not be released by this incubation media. Therefore, the NaHCO<sub>3</sub> buffer solutions were selected as current experiment procedures.

The LOD is 0.1 pg/mg for MEHP, MEHHP and MEOHP, and 0.5 pg/mg for 5cx-MEPP and 2cx-MMHP. While the LOQ of MEHP, MEHHP and MEOHP is 0.3 pg/mg, as well as 1.5 pg/mg for 5cx-MEPP and 2cx-MMHP. The linearity was achieved in relative calibration curve concentration with the square correlation coefficients ( $R^2$ ) were all above 0.999 for all analytes. The complete method extraction recoveries of five metabolites were all ranged from 88% to 104% and relative standard deviation (RSD) less than 5% at two concentrations of  $Q_{low}$  and  $Q_{high}$ . Ten authentic hair specimens were successfully determined by developed method. The concentration range were 14.4–68.7 pg/mg (MEHP), 1.3–7.1 pg/mg (MEHHP), 2.2–13.0 pg/mg (MEOHP), 3.1–14.2 pg/mg (5cx-MEPP) and 1.9–4.3 pg/mg (2cx-MEPP). Segmental hair analysis was performed on the two samples with sufficient hair length.

#### **Novel Aspect (20 字內)**

An automated online SPE LC-MS/MS method was developed to assess the DEHP metabolites in human hair.

## **四、建議**

1. 需要務實進行一些紮根的底層訓練與研究，由學術到紮實的產業發展，很不容易；但不去做，也不行。也許借鏡德國，最困難的質譜儀大多在德國做，但相對美國而言，似乎沒太多有名質譜大師。

2. 看到大陸學人與學生越來越多，感念目前國內研究環境惡化，好的學生往學術環境發展，似乎越來越少。經濟的考量、就業的迷惘（就業環境不佳；少子化的衝擊，大學教職位置不多），如何吸引學生，改變狹隘的思路，回到純真的學術研究與具備實務能力。

## 五、攜回資料名稱及內容

大會手冊一本。

# 科技部補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2014/11/01

科技部補助計畫	計畫名稱: 多重濫用藥物 微量毛髮檢驗之開發
	計畫主持人: 張耀仁
	計畫編號: 102-2113-M-040-003- 學門領域: 分析化學
無研發成果推廣資料	



102 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：張耀仁		計畫編號：102-2113-M-040-003-					
計畫名稱：多重濫用藥物 微量毛髮檢驗之開發							
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數（含實際已達成數）	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	1	1	100%		
		研討會論文	1	1	100%		
		專書	0	0	100%		
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力 （本國籍）	碩士生	1	1	100%	人次	
		博士生	1	1	100%		
博士後研究員		0	0	100%			
專任助理		0	0	100%			
國外	論文著作	期刊論文	1	1	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%	章/本	
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力 （外國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
博士後研究員		0	0	100%			
專任助理		0	0	100%			

<p style="text-align: center;">其他成果</p> <p>(無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	<p style="text-align: center;">無</p>
---	--------------------------------------

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	

# 科技部補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

## 1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

## 2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表  未發表之文稿  撰寫中  無

專利： 已獲得  申請中  無

技轉： 已技轉  洽談中  無

其他：（以 100 字為限）

## 3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）

1. 毒品檢驗是煙毒犯罪防治工作上極重要的一環，其功能除作為司法判決之依據外，更希望能產生嚇阻作用，使煙毒犯因擔心會被追查出來，而不敢施用不法藥物。濫用藥物種類極其繁多，利用常見藥物與多重藥物檢測平台之毛髮分析，可大幅拓展毛髮檢驗之藥物廣度。微髮分析，皆可大幅增加嚇阻力，防制毒品氾濫。

2. 本計畫除發展多重濫用藥物微髮檢驗之開發，提供相關政策擬定之參考外，亦希望能培養具有濫用藥物質譜檢驗與操作的相關人才，並訓練其相關計畫執行的邏輯與問題解決能力，以增加其日後於社會的工作競爭力。有鑑於近年來年輕人失業率驟升，多數社會新鮮人找不到工作，許多都是因為缺乏具有專業性的專長。此外，隨著國內層出不窮的食品安全事件，如三聚氰胺、塑化劑與瘦肉精等，人們對於平常的生活飲食存在著相當大的疑慮，而這些的食品中違法添加物皆是被質譜儀所檢驗出來，質譜檢驗分析應用性極廣目前不管在食品、農產品、化妝品、濫用藥物等不同領域內已有不可撼動的地位。

3.