

出國報告（出國類別：研習）

微量毒品代謝物多級質譜技術研習 報告

服務機關：法務部調查局鑑識科學處
姓名職稱：張琪媛，薦任八職等調查官
許祥平，薦任八職等調查官
派赴國家：美國
出國期間：98年8月3日～98年8月16日
報告日期：98年11月12日

摘要

多級質譜技術利用選擇待測目標離子再行碰撞分析的方式，確保結構特徵的可靠性，對於檢測基質複雜之檢體助益良多，現已廣泛應用於生物檢體中毒物及藥物分析、食品中農化藥殘留檢驗、石油探勘的生物標記分析…等多方面之研究。本局檢驗生物檢體之毒藥品，希藉由多級質譜技術，降低現存生物檢體之基質干擾(**Matrix effect**)，提高信噪比(**S/N**)，得到較敏感之檢測極限，因此編列「微量毒品代謝物多級質譜技術研習」出國計畫，參加**ThermoFisher**公司多級質譜訓練課程，藉以學習多級質譜在鑑識方面之發展及分析技術，另至加州大學舊金山分校**Peyton Jacob III**教授之毒物代謝研究室及加州大學戴維斯分校賽馬違禁藥檢驗實驗室實習，瞭解毒藥品代謝於多級質譜儀之檢測應用。

本局人體毒品代謝物檢驗，為國內法院及檢察署進行複驗案件的送驗單位，亦為國內主要接受院、檢單位委託活體毛髮毒品檢驗之公家檢驗機關，在國內鑑識科學領域甚為重要，故不斷學習新知及研究開發新技術，實為本局鑑識人員責無旁貸的責任。

<u>目次</u>	<u>頁別</u>
摘要.....	2
一、緣由.....	4
二、前言.....	4~5
三、行程紀要	5~12
1. 多級質譜課程及參訪工廠.....	5
2. 加州大學戴維斯分校賽馬違禁藥檢驗實驗室.....	8
3. 加州大學舊金山分校生物檢體藥物代謝物實驗室.....	10
四、心得與感想.....	12~13
五、建議與結論.....	13~14
六、附件(照片)	16~31

一、 緣由

依法務部核定本局 98 年度科技概算項下出國計畫編號第 7 項「微量毒品代謝物多級質譜技術研習」案辦理。

二、 前言

隨著分析要求的不斷提高，單級質譜儀已逐漸不能滿足分析需求，欲在複雜基質檢體中檢測微量待測物或簡化樣品前處理步驟之分析實驗室，愈來愈偏好選擇多級質譜技術來解決分析上之瓶頸。多級質譜技術利用選擇待測目標離子再行碰撞分析的方式，確保結構特徵的可靠性，現已廣泛應用於生物檢體中毒物及藥物分析、食品中農化藥殘留檢驗、石油探勘的生物標記分析…等多方面之研究。本局鑑驗毛髮中毒品成分，常需以強鹼溶解毛髮，萃取其內含毒品代謝物，惟頭髮主要由蛋白質組成，經強鹼水解後基質易生干擾，造成所含之微量毒品代謝物在分析上殊為不易。另對於存於毛髮中劑量較低的毒品代謝物(如:大麻代謝物)，單級質譜儀亦達其偵測極限之瓶頸。本局業於 98 年度奉准採購氣相層析串聯質譜儀 (GC/MS/MS)，利用選擇目標離子模式，可降低前述毛髮檢測之基質干擾，提高信噪比(S/N)，得到較敏感之檢測極限，對於生物檢體中毒藥品檢測，有相當大的助益。

ThermoFisher 公司位在美國加州 San Jose 之分公司，內設有多級質譜儀組裝工廠，在液相及氣相層析多級質譜儀器之硬體開發及實驗技術開發上均頗具盛名，此行參加該公司多級質譜訓練課程，藉以學習多級質譜在鑑識方面之應用發展及分析技術，另至加州大學舊金山分校 Peyton Jacob III 教授之毒物代謝研究室及加州大學戴維斯分校賽馬違禁藥檢驗實驗室參訪實習，瞭解毒藥品代謝於多級質譜儀之檢測應用，提供本局未來使用 GC/MS/MS 開發新的方法及思維。

三、行程紀要:

(一)、職 2 人於 98 年 8 月 3 日下午 7 時搭乘長榮 BR-18 班機，於美國時間 8 月 3 日下午 4 時抵達美國舊金山機場，轉乘小客車至 Milpitas，於 8 月 4 日起參加該公司液相及氣相層析多級質譜儀器之訓練課程及參訪工廠，隔週至加州大學舊金山分校及戴維斯分校實習。

1. ThermoFisher 公司位於加州 San Jose 之分公司，為主要氣相及液相層析多級質譜儀組裝及測試工廠，亦為該公司多級質譜儀維修工程師

的培訓場所，除硬體設備研發、組裝及維護外，並設有技術研發實驗室，內有多位博士後研究員，負責利用多級質譜儀對各類檢品開發新的分析方法，提供使用者參考。

2. 本次訓練期間，實際接觸串聯質譜儀內部元件，瞭解其運作原理，及操作液相串聯質譜儀(LC/MS/MS)進行藥物定性及定量分析，另該公司研究人員正開發以 LC/MS/MS 檢測人蔘農化藥殘留之技術，因日本於 95 年推出農藥殘留檢驗新制，對 799 種農化藥訂立殘留標準，若以單級質譜儀選擇離子方式(SIM)採集，所得到離子訊息少，同時偵測多項農化藥時，其結構相似且滯留時間相近者，易造成偽陽性困擾。研究人員將不同產地之人蔘以熱水浸泡萃取，簡易過濾後取水層進樣檢測，現一次進樣已可於 25 分鐘內檢測 150 種農化藥，雖在此條件下農化藥滯留時間分佈非常緊湊，在某些滯留時間甚至出現 3、4 個農化藥波峰，利用多級質譜儀選擇反應偵測(Selected Reaction Monitoring, SRM)技術，仍可將各農化藥準確分離確認。
3. 除儀器講解及操作課程外，另介紹 ToxID、Mass Frontier 及 Metworks 等可應用於毒藥品代謝檢測之軟體：

(1)、ToxID 軟體可應用於 LC/MS 或 LC/MSⁿ，適用於大量常態型檢驗工作，使用者先行利用該軟體建立待測物滯留時間、母離子、子離子和離子強度閾值等資料，於例行檢驗時，快速檢測是否有待測物並進而建立報告。

(2)、Mass Frontier 軟體內建超過 10 萬筆已發表產生離子碎片機制的文獻資料，待測物經 MS 或 MSⁿ 產生之離子片段圖譜，經由該軟體推算可能的結構和產生機制，對未知物結構研判分析及斷片圖譜的解析有相當助益。

(3)、MetWorks 軟體可應用於 LC/MSⁿ，預測施用藥物後經 Phase I (如: 氧化脫胺、去甲基、脫氫、...等)及 Phase II (如: Glucuroni de 結合、甲基化、硫酸鹽結合...等)可能之生物轉化方式產生之代謝物，配合 Mass Frontier 軟體推估其代謝物產生的碎片機制，與實際得到之圖譜比較，確認藥物代謝途徑。

(二)、美國加州大學戴維斯分校賽馬違禁藥檢驗實驗室

1. 加州大學戴維斯分校(University of California, DAVIS)位於加州內陸地區的戴維斯鎮，鎮內人口約 7 萬人，其中約 3 萬人任職或

受教於該校，校鎮融合，校園無圍牆及大門。該校以農業及畜牧等見長，加州那帕（Napa）地區以盛產葡萄酒聞名，許多優秀從業人員從該校畢業。

2. 加州大學戴維斯分校賽馬違禁藥檢驗實驗室（**Kenneth L. Maddy Equine Analytical Chemistry Laboratory** , **University of California , DAVIS**)位於戴維斯分校獸醫學院所屬加州動物健康及食品安全實驗中心一樓（**California Animal Health and Food Safety Laboratory** ）。由加州賽馬協會（**California Horse Racing Board**）贊助，為加州政府所認可之收費違禁藥檢認證實驗室。該實驗室主持人 **Scott Stanley** 亦為畜牧藥理學教授，專長於賽馬用藥及禁藥鑑定，特別是類固醇類（**Anabolic steroids**）。他不但管理實驗室之運作，更要負責新技術之研發工作。**Stanley** 教授溫文儒雅，在 2 天的實習中除了一一詳細介紹實驗室設備及實驗步驟等細節，亦特別抽空帶我們開車參訪廣大而美麗的校園。
3. 加州現有六個常態性賽馬活動及九個季節性舉辦之賽馬活動。連同州內其他動物表演活動，馬匹之尿液及血液均由該實驗室進行檢驗後，出具有公信力之檢驗報告。該實驗室可常規檢測 **800** 多種藥品之定性及定量，每年收受檢品約 **36,000** 件。
4. 加州地區所舉辦之賽馬需於賽後立即收集馬尿液，上鎖後由快遞公司以冷藏運送至實驗室進行禁藥分析。分析方法主要以氣相或液相層析儀（**GC/MS**、**LC/MS**）進行篩驗及定性分析，再以氣相或液相層析串聯質譜儀（**GC/MS/MS**、**LC/MS/MS**）進行定量分析。
5. 受理之檢品先予編號並貼上條碼，由專人分裝送至各檢驗站進行分析。若需重新檢驗，則需經申請再請專人重取檢品。檢驗過程中，每項方法的操作分別由各工作站人員進行，非由一人完成全部檢驗。每間實驗室入口均設門禁管制，相關人員才可進入，以避免掉包或造假之情形，而檢驗完成且出具報告之馬尿檢體，該實驗室設有頗具規模之冷凍儲藏室，內可存放數千瓶馬尿檢體。除此，對實驗室安全亦極為重視，隨處可見人員沖洗設備，維護人員操作安全；氣體瓶及有機溶劑分別集中存放於獨立通風室，溶劑存放室地板為鏤空設計，避免溶劑滲漏時人員不慎污染或發生危險。
6. 因賽馬牽涉到龐大的賭金，故違法使用之禁藥亦推陳出新，此與濫用藥物相同，故向該實驗室請教如何鑑定未知化合物。**Stanley** 教授表示的確會碰到這個問題，該實驗室目前使用液相層析離子阱多級質譜儀（**LC/ESI/MS/MS**）及軟體資料庫來分析未知化合物之結構式（**Structural identification**）；另對基質較為複雜之檢體，若於

第一次檢驗時未能明確判定是否有藥品反應時，需做重複檢驗，惟只重複乙次，若仍不明確即不判定結果。

(三)、美國加州大學舊金山分校生物檢體藥物代謝物實驗室

1. 加州大學舊金山分校生物檢體藥物代謝物實驗室 (Prof. Peyton Jacob III lab, University of California, San Francisco) 共有兩處，分位於舊金山市立醫院醫學研究中心及舊金山分校內。
2. 該實驗室主持人 Peyton Jacob III 教授，為美國研究尼古丁代謝之著名學者，致力於研究人體代謝煙草之尼古丁 (Nicotine) 已逾 30 年，主要研究課題為尿液中尼古丁代謝物偵測方法及尿液中致癌性尼古丁代謝物之濃度與癌症發生的關聯性，實驗室目前對頭髮及指甲等檢體中尼古丁代謝物的檢測正在開發方法。近年來研究方向為二手煙對肺癌發生率之影響評估。
3. 尿液中尼古丁代謝物主要以液相-液相萃取 (Liquid-Liquid Extraction, LLE)，再以氣相層析質譜儀 (GC/MS) 或液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS) 進行定量分析。Peyton Jacob III 教授表示，尼古丁在生活環境中無處不在，特別是水，惟偵測尼古丁本體只能用氣相層析方法而無法用液相層析方法。
4. 我們向教授請教有關尿液檢驗如何降低基質干擾等問題，得到許多寶貴的指導。該實驗室有多位技術人員已跟隨 Jacob III 教授數十年，經驗甚為豐富，目前還有一位已退休人員仍義務在實驗室工作，傳承其寶貴經驗。也因學校經費不多、人員經驗豐富，故隨處可見古董級儀器卻還能東拼西湊下正常運作。

四、心得與感想

- (一)、 參觀 ThermoFisher 工廠讓人印象深刻的是其研究部門配合客戶實驗需求，邀請不同之儀器廠商與該公司儀器作實際連結測試，成為分析儀器套組，再由研究人員對該儀器套組進行實機操作，直至得到正確之分析數據，滿足客戶要求。此方式對於客戶而言大為減低採購不適用儀器之機會，亦減少實驗技術開發之風險及時間，實可作為本局採購精密儀器時，對廠商要求之參考。
- (二)、 賽馬違禁藥檢驗實驗室標準作業流程 (Standard Operation Procedure, SOP) 之製作及管制非常嚴謹，所有流程必須按 SOP 操作，每一步驟執行完畢必需在檢查表 (Check list) 註記，並經實驗室負責人簽名，實驗過程中須全程在場，不可同時進行他項工作，以避免人為操作疏失。

- (三)、 綜觀兩個實驗室，液相層析多級質譜儀（**LC/MSⁿ**）可用於分析大分子量、高極性及熱不穩定性高之樣品，且可省去衍生化步驟，並增進偵測極限及縮短萃取及分析時間等，為應用於鑑識分析上的新趨勢，但須避免環境中可溶於水之化合物的污染或干擾。另氣相層析質譜儀（**GC/MS**）對於例行檢驗，因操作容易及資料庫搜尋簡便等因素，仍不可偏廢。
- (四)、 濫用藥物不斷推陳出新，如何鑑定未知毒品已成為目前最常面臨之問題。此行除了學習鑑驗技術流程，亦參觀各種客製化或最新檢驗分析儀器，可做為未來提升鑑定技術及增購儀器設備之參考。

五、建議與結論

(一)、 實驗儀器多樣化有助於研發能力發展

實驗儀器多樣化對於實驗室發展及技術開發是很重要的，多樣性之儀器不僅可涵蓋更廣闊領域的檢驗對象，亦提供多面向鑑識方法。對於同一檢品，不同儀器卻均有殊途同歸的鑑驗結果時，可使研判上更為精準，在面對律師、被告質疑時，這些實驗數據將築成強而有力的後盾。

(二)、 預先規劃參與國際會議及研習進修

隨著社會快速變遷，毒品相關犯罪與日俱增且千變萬化，故在專業訓練上應加強增進專業知識與技能，除了平日多參加鑑識相關專業研討會，建議應有系統及有目的參加國外研習及國際會議，藉此了解全世界鑑識科學發展的趨勢與進程，促進學術交流，提昇本局國際聲譽，因此對本局鑑驗工作有所助益之研習課程和國際會議宜預先規劃時程與預算派員參與。

(三)、 實驗人員安全為實驗室的重要考量

實驗室人員的人身安全，實為實驗室最重要的考量。收受之生物檢體有可能存在許多病毒、病菌（例如 AIDS、肝炎病毒…等），故建議實驗室硬體設備，應建立隔離操作、滅菌裝置及抽風換氣設備等裝置，才能具備有接受該類檢品的能力，另訂立緊急應變措施，防患於未然。

(四)、 建立標準操作程序，確保每次檢驗的正確性及品質

訂定標準操作程序（**SOP**），表列每一檢驗流程，於實驗時依序操作並詳實紀錄，另實驗所需之標準品、溶液及實驗試劑等均於瓶身明顯處

標示內容物、配置時間、使用期限及配置人等資訊，確保每次檢驗的正確性及品質。

(五)、 鼓勵同仁國內進修

近年政府財政拮据，出國經費取得不易，除應珍惜每次出國實習或開會的機會，另可安排人員赴國內大學或研究機構進行短期進修，強化本職學能，激發創新構思，並建立本局與國內學術或研究單位之交流管道。

六、附件(照片)

ThermoFisher 公司位於 San Jose 分公司之外觀



內部走道，牆上懸掛該公司擁有之專利



ThermoFisher 公司員工休息區



上課及儀器操作實驗室



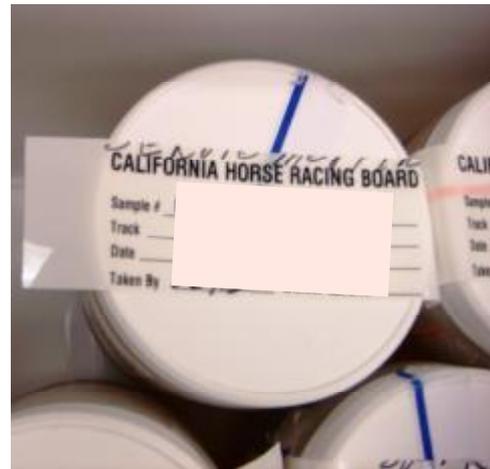
串聯質譜儀內部構造講解及實習操作之 LC/MS/MS 儀器



加州大學戴維斯分校賽馬違禁藥檢驗實驗室



送驗賽馬尿液冷藏保存及封瓶標籤



馬尿送驗時之專用採尿瓶、送樣冷藏箱，裝設有上鎖裝置



以不同顏色試管架區分所需進行的實驗項目



樣品與衍生試劑直接於進樣口下方加熱室進行衍生化



溶劑儲藏室，地板為鏤空設計，溶劑不慎流出可立即排入下層



另設置技術研發使用儀器(LC/MS/MS)，非例行檢驗用儀器



戴維斯大學，位於加州戴維斯鎮，鎮校融合，無圍牆區隔



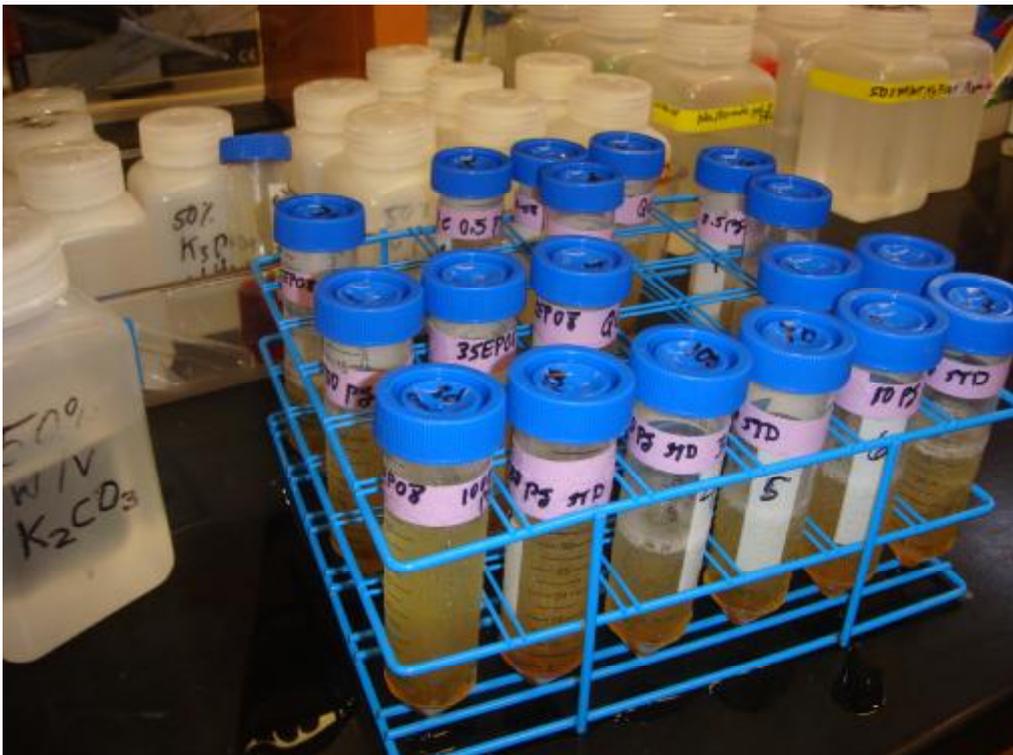
加州大學舊金山分校 Peyton Jacob III 教授之實驗室與舊金山醫院同區



Peyton Jacob III 教授之實驗室大樓外觀



冷藏之尿液檢體(檢測吸菸者尼古丁等代謝物)



檢品前處理操作台



實驗室各項儀器，上方設有抽氣裝置



分析儀器 LC/MS/MS



分析儀器 LC/MS/MS

