

出國報告（出國類別：其他-國際會議）

## 參加 2017 年美國東北鑑識科學協會 年會(NEAFS)

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱：林美智簡任技正

派赴國家：美國

出國期間：106 年 11 月 5 日至 106 年 11 月 13 日

報告日期：107 年 1 月 25 日

## 摘 要

美國東北鑑識科學家協會 ( Northeastern Association of Forensic Scientists, NEAFS) 成立於 1975 年，是由一群鑑識科學家共同提出成立專業領域協會，以提升鑑識科學家智能。以地區來說涵蓋美國東北部 9 個州。協會成立宗旨主要為提升鑑識科學家之專業知識、地位與技術，因此藉由辦理研討會及訓練課程，達到新知分享、經驗與技術傳承、人才培育及人員交流等目的。2017 年 NEAFS 年會為第 43 屆，會議期間為 106 年 11 月 7 日至 11 月 10 日，地點在美國賓夕法尼亞州波科諾斯 (Pocono Manor, Pennsylvania) 之 Kalahari Resorts and Convention Center。

毒品或新興毒品是近年來國際社會所常討論之議題，毒品不僅影響個人健康，甚或造成家庭、社會與經濟等問題，各國皆努力防堵其流竄。食品藥物管理署長期協助國內毒品鑑驗工作，配合政府推動反毒政策，於新世代反毒策略行動綱領中，推動新興毒品防制策略，以強化查獲新興毒品檢驗量能為目標。爰此須了解國際間新興影響精神物質 (New Psychoactive Substances, NPS) 現況與面臨之挑戰及未來因應作為，以助防毒策略奏效。出國人員此次參加 2017 年 NEAFS 年會，於會中發表壁報論文 1 篇，與會參觀者均對於本署研究成果表達讚揚。也參加協會舉辦之顯微拉曼光譜訓練課程及相關分組會議、大會及專題演講等。講者介紹拉曼光譜原理、選購儀器重點、拉曼光譜確效及其應用於毒品、管制藥品等鑑驗工作。在鑑識毒理學、毒品鑑定及類鴉片類等主題會議中，了解國際上對毒品之檢驗研究進展與未來方向。會議期間亦與多位研究人員就 NPS 鑑驗技術與經驗進行交流，可作為未來本署檢驗方法開發之重點方向。同時也收集國際間 NPS 品項及使用現況，作為未來籌獲 NPS 標準品及擴增 NPS 檢驗資料庫之參考，期提升毒品檢驗效能與量能，及時發現 NPS，降低其所帶來之健康風險。

## 目次

壹、目的 .....	3
貳、過程 .....	4
參、會議內容重點摘錄 .....	4
肆、心得 .....	29
伍、建議 .....	30
陸、附錄 .....	32

## 壹、目的

毒品或新興毒品是近年來國際社會所常討論之議題，毒品不僅影響個人健康，甚或造成家庭、社會與經濟等問題，各國皆努力防堵其流竄。國際上對於毒品檢驗多半將之歸類於鑑識科學 (Forensic science) 領域。食品藥物管理署長期以來協助毒品鑑驗工作，配合政府推動反毒政策，於新世代反毒策略行動綱領中，推動新興毒品防制策略--強化查獲新興毒品檢驗量能。爰此須了解國際間新興影響精神物質現況與面臨之挑戰及未來因應作為，有助防毒策略奏效。

有關毒品之檢驗，國際上大都將之列入鑑識科學領域。美國東北鑑識科學家協會 (Northeastern Association of Forensic Scientists, NEAFS) 成立於 1975 年，是由一群鑑識科學家共同提出成立專業領域協會，以提升鑑識科學家智能。以地區來說涵蓋美國東北部 9 州。NEAFS 成立宗旨主要為提升鑑識科學家之專業知識、地位與技術，因此藉由辦理研討會及訓練課程，達到新知分享、經驗與技術傳承、人才培育及人員交流等目的。2017 年 NEAFS 年會為第 43 屆，會議期間為 106 年 11 月 7 日至 11 月 10 日，地點在美國賓夕法尼亞州波科諾斯 (Pocono Manor, Pennsylvania) 之 Kalahari Resorts and Convention Center。

近年來，新興影響精神活性物質 (New Psychoactive Substances, NPS) 不斷地推陳出新，聯合國毒品犯罪問題辦公室呼籲各國重視 NPS 濫用問題，並需適時提出管控措施。因應蔡總統毒品防制政策，行政院於 106 年 7 月 21 日核定「新世代反毒策略行動綱領」，其中食藥署負責擴充新興毒品檢驗量能。為配合毒品防制政策之執行，亟需了解國際 NPS 檢驗技術、流行趨勢與管理現況等。筆者奉派出席 2017 年 NEAFS 年會，會議內容涵蓋 NPS 之檢測、方法確效及毒理學等專題演講及壁報論文展示。除於會中發表壁報論文一篇，展現國內研究成果外，更期望出席會議，深入了解國際 NPS 流行趨勢與品項，蒐集鑑識專家之研究發展重點與發展方向，做為未來檢驗方法開發之參考，進而應用於檢驗業務，

亦期望藉由參加實體會議，認識國際友人，透過面對面之交流，分享經驗，建立聯繫管道，以能隨時掌握國際毒品現況，俾利毒品防制策略奏效。

## 貳、過程

出國人員奉派於 106 年 11 月 5 日赴美國參加美國東北鑑識科學協會 (Northeastern Association of Forensic Scientists, NEAFS) 召開之第 43 次年會，本次年會地點位於賓夕法尼亞州波科諾斯 Pocono Manor, Pennsylvania) Kalahari Resorts and Convention Center。於 106 年 11 月 13 日返抵國門，行程及工作紀要如下表：

日期	行程/工作紀要
106 年 11 月 5 日(日)~ 106 年 11 月 6 日(一)	啟程(臺北桃園機場-美國加州舊金山機場-美國紐澤西州紐華克機場-美國賓夕法尼亞亞蘭敦阿靈頓機場-美國賓夕法尼亞州波科諾斯)
106 年 11 月 7 日(二)~ 106 年 11 月 10 日(五)上午	參加 2017 年美國東北鑑識科學協會年會(NEAFS)會議
106 年 11 月 10 日(五)下午	返程(美國賓夕法尼亞州波科諾斯-美國賓夕法尼亞州亞蘭敦阿靈頓機場)
106 年 11 月 11 日下午(六)~ 106 年 11 月 13 日(一)	返程(美國賓夕法尼亞州亞蘭敦阿靈頓機場-美國紐澤西州紐華克機場-美國加州舊金山機場-臺北桃園機場)

## 參、會議內容重點摘錄

- 一、美國東北鑑識科學家協會 (Northeastern Association of Forensic Scientists, NEAFS) 簡介

美國東北鑑識科學協會（Northeastern Association of Forensic Scientists, NEAFS）是由一群鑑識科學家提出，希望成立一個組織，協助提升鑑識科學家之專業知識與能力，因此於 1975 年成立，是非營利的科學家協會。以地域來說，NEAFS 是由美國東北地區九個州所組成之協會，包括康乃狄克州 (Connecticut)、緬因州 (Maine)、麻薩諸塞州 (Massachusetts)、新罕布什爾州 (New Hampshire)、紐澤西州 (New Jersey)、紐約州 (New York)、賓夕法尼亞州 (Pennsylvania)、羅德島州 (Rhode Island) 及佛蒙特州 (Vermont)。人口約有 5500 萬，NEAFS 網站列有 55 家公立鑑識實驗室，除美國緝毒總署紐約州實驗室隸屬司法部外，30 多家實驗室隸屬於州政府警察局。

為提升鑑識科學家水準，NEAFS 每年辦理年會、訓練課程，並亦有年輕科學家訪問訓練計畫。1976 年首次辦理一天的年會，後隨鑑識科技進步，會議期逐漸延長。以 2017 年為例，會議議程僅 4 天，然主辦單位另亦辦理鑑識科系學生訓練研習課程，會議名稱另加上 Forensic Week。除了 NEAFS 外，美國其他地區亦有鑑識科學家協會，如 Mid-Atlantic Association of Forensic Scientists, Northwest Association of Forensic Scientists, Southern Association of Forensic Scientists, Southwestern Association of Forensic Scientists, Midwestern Association of Forensic Scientists 及 New Jersey Association of Forensic Scientists 等，全國性則有 American Academy of Forensic Sciences，均有固定會員，並定期辦理年會或研討會或訓練課程，以提升人員專業知識與經驗及溝通交流等目標。

本次會議參加人數經詢問主辦單位，約有 400 人，多來自東北各州政府警察局鑑識科學家、學校、民間實驗室及儀器供應商，另美國司法部緝毒總署亦派員參加。

## 二、Workshop

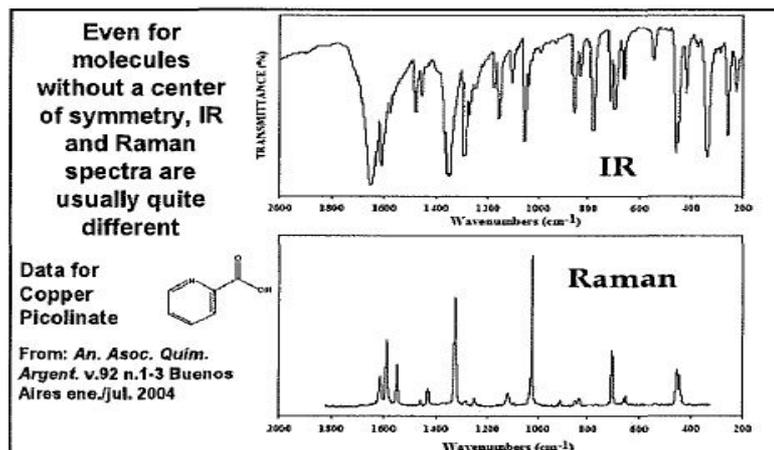
大會共辦理 10 場次 Workshop，其中 4 場次屬於一天課程，6 場次則為半天課程，課程涵蓋多種領域，包括 (1) Ted R. Schwartz 及 Brandi L 介紹有關射擊殘跡認識：推進劑和底漆殘留物之檢測、收集及分析 (Gunshot residue awareness: The Detection, Collection, and Analysis of Propellant and Primer Residues)、(2) Christophe Deckers, M.Sc. 等 8 人介紹有關質譜與光譜技術應用成果 (Finding the right answer the first time with new technologies in Mass Spectrometry and Spectrometry)、(3) Tiffany Roy, JD, D-ABC 介紹回顧美國刑事學委會證照考試 (American Board of Criminalistics Certification Examination Review)、(4) Dr. Manoj Tyagi 等 5 人介紹新儀器發展與應用 (Forensic toxicology workshop: Newly developed instrumentation and applications)、(5) Megan Foley 等 3 人介紹 DNA 鑑識之未來趨勢 (Future trends in forensic DNA technology)、(6) Andrew M. Bowen 介紹拉曼顯微光譜於鑑識科學之應用 (Forensic Application of Raman Micro-Spectroscopy)、(7) Thomas P. Mauriello, M.F.S. 介紹公開演講技巧 (Your attention please-A public speaking skills workshop)、(8) Dale Laux 介紹應用 Seratec 產品於體液斑點之鑑別 (Using Seratec products to identify body fluid stains) 及 (9) Sandra Haddad, Ph. D. 主持教育者論壇 (Educator's Forum)。

出國人員此次參加顯為拉曼光譜於鑑識科學之應用 (Forensic Applications of Raman Micro-Spectroscopy) 課程，講者為來自美國郵政檢查局 (U.S. Postal Inspection Service, USPIS) 資深鑑識化學家 (forensic chemist) Andrew M. Bowen。USPIS 實驗室是位於維吉尼亞州杜勒斯機場之國家鑑識實驗室 (National Forensic Laboratory in Dulles)，專門負責與郵政相關的刑事犯罪案如鑑定、逮捕、起訴與宣判等。該局主要任務是提供科學與技術專業知識予郵政相關之刑事與安全調查。以下就講者講述之原理與應用等重點，摘錄如下：

#### (一)拉曼光譜原理 (Principles of Raman Spectroscopy)

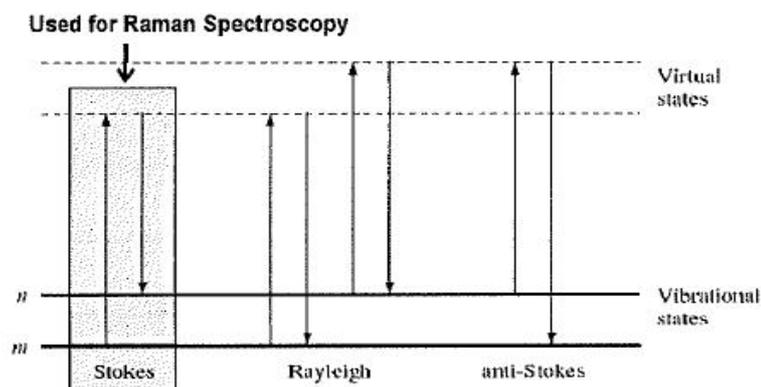
拉曼光譜是一種分子內振動式光譜學 (vibrational molecular spectroscopy) 藉由雷射光 (光源：可見光/近紅外光) 使分子激發，產生非彈性散射，以獲得該

分子之光譜數據。紅外光光譜 (Infrared spectroscopy) 則是分子之吸收光譜，二者均屬分子振動光譜，僅在波峰強度不同，且在光譜解讀上，二者有極大程度之互補。分子具有對稱中心 (例如苯、 $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{C} = \text{CH}_2$  等)，於紅外光光譜可觀察到，卻於拉曼光譜中未能觀察得到，反之亦然。但是對於沒有對稱中心的分子，紅外光光譜與拉曼光譜通常也不同 (圖一)



圖一、紅外光光譜與拉曼光譜比較 (摘自課程講義)

1928 年，印度物理學家 Chandrasekhara Venkata Raman 發現光散射 (light scattering)，此即為拉曼效應，也因此重大發現於 1930 年贏得諾貝爾獎。光散射是指直行光照射物質時，由於光與分子作用，造成光子偏離直行光，此種作用稱為散射，多數光散射是屬於彈性散射 (elastic scattering)，因能量未改變，所以光的頻率也未改變，此效應又稱雷利散射 (Reyleigh scattering)。但有極少量的散射光，能量產生變化，屬於非彈性散射 (inelastic scattering)，又稱拉曼散射 (Raman scattering)，雷利散射能量約拉曼散射能量之 100 萬倍。若以能階來說明，當分子受激發至 virtual states 後，再回到比初始振動態 (ground vibrational State) 時的能量高，為確保能量守恆，產生較原激發光頻率較低之光，此種光頻率的改變稱為史托克位移 (Stokes shift)。若最終振動狀態的分子比初始振動態時能量低，所激發出來的光子頻率則較高，稱之為反史托克位移 (anti-Stokes shift) (如圖二)。



圖二、拉曼散射原理 (摘自課程講義)

## (二)拉曼光譜儀選購考量

拉曼散射強度與波長的四次方成反比，因此選用長波長雷射光，雖得到較弱拉曼散射，但螢光干擾會較少。為過濾掉雷利散射，濾光片有 notch filters 與 edge filters 兩種，notch filters 僅吸收設定波長雷射光，因此使用期較短，但可同時測反史托克及史托克位移。Edge filters 則吸收選定波長以下光，因此測得拉曼波數範圍較廣，於環境中非常穩定，使用期極長。

分散式拉曼光譜與傅立葉拉曼光譜之差異，後者雖相較於前者靈敏度低，空間解析度差，但有較佳波數解析度及產生較少螢光。共軛焦拉曼顯微鏡有四個基本組件及其功能如下：(1) 產生單色光之激發光源、(2) 共軛焦顯微鏡與取樣光學器件：將激光傳送到樣品並收集拉曼信號、(3) 拒絕濾波器：去除雷利散射光，只傳送拉曼信號及 (4) 光譜儀與檢測器：將拉曼散射光分散到不同的波長，並檢測其產生光譜之強度。

## (三) USPIS 顯微拉曼確效簡介

依據 ISO 17025 認證之鑑識實驗室，就顯微拉曼確效經驗，分成已知管制樣本的測試與操作程序之準確性、精密度確定、選擇性評估、可能的誤差來源、儀器偵測極限評估及盲樣測試等介紹。

### 1. 管制樣本的測試與操作程序的準確性

USPIS 確效試驗之管制樣本包括 Polystyrene 等 32 種物質，其中包括 Cocaine Base 等 12 種管制成分。

## 2. 精確度

使用兩種波長之雷射光，於 16 天內選擇 5 天，以靜態及延長兩模式分別掃描樣本，1 日執行 3 次。計算測得之平均波數  $\pm$  標準偏差(相對標準偏差)。以 Cocaine Hydrochloride 為例，靜態掃描為  $1715.2 \pm 0.28$  (0.02%)，根據實驗數據，這些波段至少有 99% 的機會出現在其平均位置的  $\pm 2.5 \text{ cm}^{-1}$  範圍內。量測結果顯示日平均值無顯著變化，雷射光波長及訊號收集模式亦未顯著影響拉曼吸收峰位置，儀器的精確度也符合。

## 3. Selectivity 評估

以化學相似性化合物評估分離率，講者介紹 para-fluorofentanyl HCl、meta-fluorofentanyl HCl 及 ortho-fluorofentanyl HCl 等 6 種，均可以拉曼光譜區分。

## 4. 誤差來源

可能之原因如混合物、基質、雷射光極化效應、螢光/發光效應及宇宙射線等。講者舉例顯微鏡油如 Cargille 1.660 具有發光效應，影響拉曼測定，建議可選用 Cargille 1.500 系列以消除干擾因子。

## 5. 偵測極限評估

若代測物為溶液，經序列稀釋測得各拉曼光譜圖，依最高吸收波峰附近之強度，決定最佳稀釋倍數。

## 6. 盲樣測試

配製 12 件盲樣檢體，分別屬於管制物質、爆炸物、化學未知物及礦物質/色素等 4 類，各配製 3 件。4 件混合物以偏光顯微鏡測試。所有盲樣均被正確鑑別。

## 7. 確效試驗中重要發現

選用適當雷射波長以獲得拉曼特徵光譜、對於具各向異性物質，使用偏光顯微鏡及圓偏極光 (circularly polarized light) 以產生雷射極化作用，選用高數值

孔徑物鏡以提升共軛焦效能，以及選用低發光且透明物質之固定液與蓋玻片以觀察樣本，以得到最適結果。

#### (四)簡介顯微拉曼光譜 (Raman Microspectroscopy) 與偏光顯微鏡 (Polarized Light Microscope)

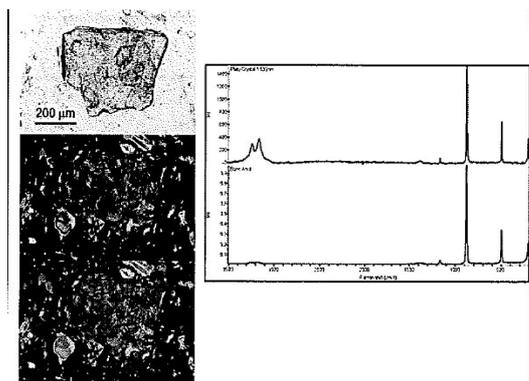
偏光顯微鏡可以觀察到物質之尺寸大小 (size)、形狀、顆粒起伏 (輪廓)/貝克線 (relief/Becke line)、雙折射 (birefringence)、色散 (dispersion)、光學信號 (optic sign)、光學軸角 (optic axial angle)、光學方位 (optical orientation)、雙晶 (twinning) 及多晶性 (polycrystallinity) 等等性質，故可用於區分材料間之組成、結構 (多晶型)、水合狀態等差異。

偏光顯微鏡具有可解析幾乎所有混合物及微量成分，前者如無機物、不溶物及聚合物等以傳統 GC/MS 分析仍有限制，且操作中也不用將樣品溶解等優勢。顯微拉曼光譜樣本製備，幾乎不需要前處理，特別是使用共軛焦顯微鏡系統分析。即樣本以固定液封片後，聚焦所選定雷射波長光，雷射光通過樣本，分光儀收集拉曼散射光，經電荷耦合元件 (Charge Coupled Device, CCD) 偵測獲得拉曼光譜圖。因此結合偏光顯微鏡與拉曼兩者優點將可滿足多數實驗室分析需求。

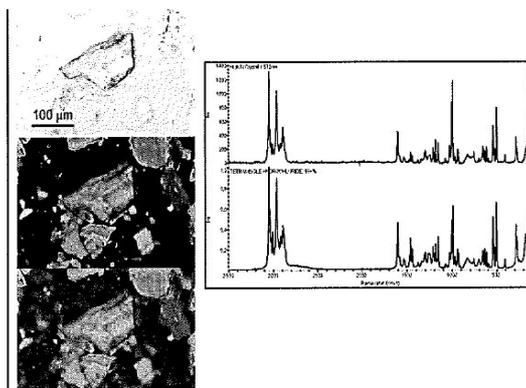
#### (五)拉曼光譜應用案例介紹

講者介紹多種領域之應用案例，在毒品檢測實際案例，如某檢體以 GC/MS 分析檢出 cocaine, idocaine 及 tetramisole。但以偏光顯微鏡觀察，發現有 4 種不同形狀之晶體，3 種晶體經比對光譜資料庫後，所得之結果與 GC/MS 一致，另一晶體經比對為 Boric acid (圖三)。亦介紹 Cocaine、hydrocodone 及 Fentanyl 等鹽類之確認及甲基安非他命混有 Dimethyl Sulfone DMSO<sub>2</sub>。其他領域包括爆炸物分析及檢測爆炸後擦拭之抹布上之殘留物等。

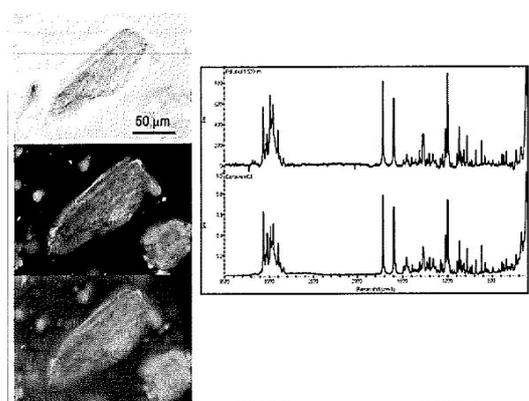
(A) Boric acid



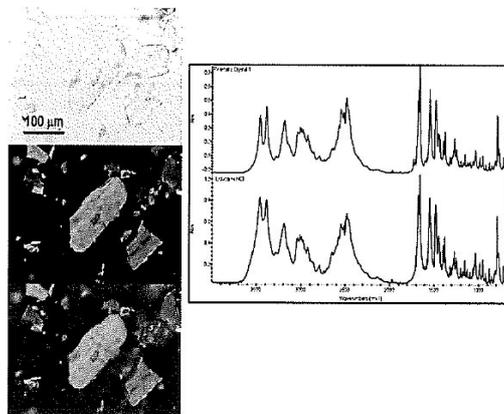
(B) Tetramisole HCl



(C) Cocaine HCl



(D) Lidocaine HCl



圖三、檢體以偏光顯微鏡拉曼檢出(A)Boric acid，(B) Tetramisole (C) Cocaine, (D) Lidocaine (摘自課程講義)

## 二、參加年會

106 年 11 月 8 日舉辦 Scientific Session，共分 5 大主題，同時舉行。主題如下：  
(1) 刑事/犯罪科學 (Criminalistics/Crime Science) 有 21 場演講。(2) 生物學/DNA (Biology/DNA) 有 19 場演講。(3) Drug Chemistry 有 11 場演講、(4) 毒理學 (Toxicology) 有 10 場演講，(5) 微跡/縱火劑及爆炸物 (Trace/Arson and Explosive) 有 10 場演講，累計 71 場次演講，內容極為豐富，且屬跨領域，可惜同時舉行，僅能參與部分演講內容。晚上大會舉辦壁報論文發表活動，計有 41 篇，筆者發表 Simultaneous quantification of synthetic cathinones and metabolites in urine by gas chromatography-mass spectrometry 1 篇。壁報展示活動，與來自美國司法部緝毒總

署東北實驗室 (Drug Enforcement Administration Northeast Laboratory) 鑑識化學家 Ms Kong、紐澤西州警察局鑑識實驗室 (New Jersey State Police, Office of Forensic Science) Ms Smith 等人就本署壁報內容討論與交換意見。會議期間亦有參展活動，多屬儀器商及化學品供應商，提供儀器與檢驗試劑等新知，另有兩所大學參展，介紹該校之鑑識科學學程等，以上共計 41 家，大會另提供參觀攤位後，由廠商簽名活動，集滿簽名即可參加摸彩，於 106 年 11 月 9 日歡送會抽獎，獎項包括衣服、書籍等。以下就演講主題，摘錄部分內容，分述如下：

### (一)毒理學

#### 1. The Investigation into the Analysis of Narcotic Analgesics in Postmortem Blood Using Biocompatible Solid-Phase Microextraction (BioSPME)

由 Chandler M. Grant, M.S 代表團隊報告。重點如下：近年來，美國因誤用及濫用麻醉止痛藥與其他藥物案例逐漸增加，而因毒品死亡也增加。而法醫病理學家負責收集各種死後樣本，送至毒理學實驗室分析。而複雜生物基質需先前處理以避免干擾分析，然前處理時間若過長，則造成案例積壓，可能影響後續之刑事調查。該團隊提出使用 BioSPME fibers 可以快速吸附牛血中毒藥物、非法藥物成分，縮短前處理時間。以 GC-MS 初篩，續以 LC-MS/MS 確認，7 分鐘內完成血液檢體中 9 種麻醉止痛劑 (6-monoacetylmorphine、codeine、fentanyl、hydrocodone、hydromorphone、methadone、morphine、oxycodone 及 oxymorphone) 之分析。所建立之方法也已應用於 43 件屍體血液檢體。

#### 2. 2D LC/MS-MS Analysis of Synthetic Cannabinoids in Urine, Plasma and Edibles.

由 Kayla Benvenuto, M.S. 代表研究團隊報告。工作重點是開發有關合成類大麻素之分析方法，並應用真實檢體之分析。分析方法開發選定三種基質，分別為尿液、血漿及 gummy bears。檢體先以甲醇沉澱蛋白質，續以陰離子交換的固相萃取管柱，再以二維液相層析串聯質譜儀分析。分析 7 種合成類大麻素 (UR-144 5-COOH、AB-PINACA 5-COOH、XLR-11、5F-PB-22、AM-2201 4-hydroxypentyl

metabolite、JWH-018 及 JWH-018 5-hydroxypentyl metabolite)，尿液檢量線範圍為 0.05-5 ng/mL。血液與 gummy bears 檢量線範圍分別為 0.05-10 ng/mL 或 0.05-2.5 ng/mL。除了 gummy bears 基質中 AB-PINACA 5-COOH 之回收率為 63% 外，尿液及血漿之回收率均大於 80%。基質抑制評估結果尿液、血漿及 gummy bears 分別為 8%、18.9% 及 6.6%。以上方法檢測 17 件真實尿液檢體，均檢測到不同濃度的合成類大麻素。

### 3. The Weeds Seem Taller This Year

David J. Nemeth, Ph.D., F-ABFT 報告有關回溯分析 2010 年至 2016 年毒駕 (Driving Under the Influence of Drugs, DUID) 血液檢體之結果。毒駕案經常檢測項目為 delta-8-tetrahydrocannabinol (THC) 及其代謝物 (11-hydroxy-delta-9-tetrahydrocannabinol (THCOH) 與 11-nor-9-carboxy- tetrahydrocannabinol (THCCOOH)。統計結果顯示，毒駕者血液中 THC 濃度有上升的趨勢，且濃度高於 5 或 10 ng/mL。這些檢體除單獨檢出 THC 外，亦發現有其他藥物濫用之情形。

### 4. Detection of Fentanyl and Related Synthetic Opioids in Biological Matrices

由 Robert M. Lockwood, Ph.D. 代表研究團隊報告。工作重點是開發 LC-MS/MS 方法，以檢測包括 fentanyl、fentanyl analogues 及其血液與尿液中之主要代謝物，然後應用於疑似 fentanyl 施用者之真實檢體檢驗。不含藥品之血液與尿液基質中，添加標準品及 fentanyl -D5 作為內部標準品，經固相萃取後以 LC-MS/MS 分析。LC 部分使用 Biphenyl 層析管，以甲醇及 5% 甲醇均添加 0.1% 甲酸進行梯度沖提，5 分鐘內完成層析分離，質譜部分採正離子之雙源離子化法 (dual source ionization) 模式。結果 fentanyl、methylylfentanyl、acetylfentanyl、butylylfentanyl、valerylylfentanyl、ocfentanyl、furanylylfentanyl、carfentanyl、norfentanyl、norfentanyl、6MAM、6-ANPP 及 MT45 等 13 種成分均能成功分析，各成分之偵測極限，血液 0.32 ng/mL-8 ng/mL，尿液 1.6 ng/mL -40 ng/mL，並具有良好的可接受峰形與寬度。

5. Recommendations for the Determination of Matrix Suppression in Biological Samples by UPLC-ESI-MS/MS: Extending Quality Measures in Forensic Toxicology

由 Jamie Foss 代表研究團隊報告有關生物基質對 UPLC-ESI-MS/MS 分析之影響評估。依據 Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX) 之 Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology，實驗室可採用 post-column infusion 或 post-extraction addition 評估離子抑制或增強效應。研究團隊選擇前者(post-column infusion) 以 3 種前處理 (蛋白質沉澱、phospholipid depletion 及固相萃取) 方式評估基質效應。採用去識別化不含藥人血 8 件做為研究用基質，添加 morphine、BZE、THC-COOH、6MAM 及 hydrocodone 作為離子抑制評估。結果顯示，以滯留時間預測離子抑制效應是可行的，最早沖提出來的成分易受鹽類影響，較晚沖提出來的成分則易受磷脂質影響。後續將繼續評估比較其他來源人血之基質影響。

6. A Comprehensive Clinical Research Method Employing Simplified, Mixed-Mode Sample Preparation and Rapid LC/MS/MS Analysis for Urinary Pain Management

Jonathan Danaceau 代表研究團隊報告。重點如下：面對美國鴉片成癮危機，應加強疼痛管理。實驗室應改善流程，建立多成分之快速分析法。團隊使用混合型陽離子交換聚合物固相萃取 (SPE 96 well plates)，檢體之水解與前處理均於 SPE 內進行，續以 UPLC/MS/MS 分析，於 3 分鐘內快速準確量化來自 22 個藥物類別的 80 種化合物，並進行萃取回收率、基質效應、線性、準確度、精密度及定量極限之確效評估。結果：平均回收率 80%，相對標準偏差均小於 15%。所有化合物之檢量線範圍 2 ng/mL-2,500 ng/mL，以定量極限做為檢量線最低點。

7. Prevalence of Dihydrocodeine in Hydrocodone-positive Blood Samples Collected for DUID Investigations

Gregory Sarris 報告有關以 hydrocodone 陽性血液檢體探討 dihydrocodeine 之盛行率。收集與分析 DUID hydrocodone 陽性血液 77 件，確定是否含有 hydromorphone、norhydrocodone 及 hydromorphone 及其代謝物。檢體經衍生化後，

經過 SPE 淨化前處理，再以氣相層析質譜儀分析。結果 dihydrocodeine 陽性率 45.4% (n = 35)，norhydrocodone 陽性率 6.4% (n = 5)，77 件檢體均未測到 hydromorphone。由於目前文獻及許多實驗室之標準檢測血液中鴉片類 opioid panels 並未包含 dihydrocodeine，考量 dihydrocodeine 亦屬可能被濫用的管制物質，建議能納入檢測項目。未來將進一步研究以確定使用 hydrocodone，血液中有 dihydrocodeine 存在之藥理學作用並解釋其所代表之重要意義。

## (二) Drug Chemistry

### 1. Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs (SWGDRUG) Update

Tiffany Ribadeneyra, M.S., F-ABC. 代表介紹 SWGDRUG 及近期工作進度。自 1997 年，SWGDRUG 由美國緝毒總署鑑識科學辦公室 (U.S. Drug Enforcement Administration Office of Forensic Science) 與國家藥物管制政策辦公室 (Office of National Drug Control Policy, ONDCP) 聯合成立以來，已有 20 年，於 2001 年出版第 1 版 Recommendation，2016 年出版 7.1 版，目前正進行 Recommendation Ver. 7.1 Parts IIIB/IVB 有關定性方法確效部分。2016 年至 2017 年 SWGDRUG 出版量測不確定度 supplemental document 6 (SD-6)。有關 SWGDRUG 文件發展流程 (document process) 依序為小組委員會撰寫草案 (drafted by subcommittee)、核心委員審查 (reviewed by core committee)、公開徵求意見 60 天、如有必要則修正草案內容、核心委員會投票通過後公開於網站上。SWGDRUG 質譜資料庫已為鑑識科學界廣泛參考使用，質譜資料庫適用於各廠牌儀器，收載超過 2600 張氣相層析質譜圖，而 FT-IR-ATR 圖譜超過 250 筆。

### 2. Ambiguous Field Test Results Lead to Wrongful Attest

來自 Arcadia University 之 Heather L. Harris, MFS, JD, D-ABC 說明近期快篩試劑造成誤判案例，如 2017 年 10 月 16 日美國國家公共電台 (National Public Radio) 報導一則誤判賠償案例-Florida Man Awarded \$37,500 After Cops Mistake Glazed Doughnut Crumbs For Meth。為了解快篩試劑誤判原因，該實驗室以疑似含

甲基安非他命之肥皂做測試，比較自行配製 Simon's reagent 與市售甲基安非他命快篩試液呈色反應。實驗結果：兩種方法均呈現紫色，為陰性反應。市售快篩試液標示若出現深藍及深紫色，判定為陽性，由於藉助顏色判定，可能有偽陽性情形。因此倘不適當地使用這些現場測試所得到的偽陽性結果，將造成導致錯誤的逮捕與定罪。

### 3. A Comparison of Portable Infrared Spectrometers and the Narcotic Identification Kit (NIK) Field Test for the On-Scene Analysis of Cocaine HCl

Dory Leiblein 代表研究團隊報告。依據 Gabrielson, R. 報告，美國監禁囚犯有 46.3% 與毒品有關。然近期發現許多案例，經過實驗室複驗發現 NIK 現場測試劑是偽陽性，且多起因偽陽性而被錯誤定罪，引起媒體譴責。由於可攜式紅外光光譜儀 (portable infrared spectrometer, portable IR) 可用於現場測試，並提供準確且可靠之鑑定。作者比較可攜式紅外光光譜儀與 NIK (Narcotic Identification Kit)，以確定哪種方法更適合現場分析非法藥物，初步實驗選定 Cocaine HCl，並評估常見稀釋劑對 Cocaine 鑑定能力之影響。結果：NIK 之 LOD 為 5%、可攜式紅外光光譜儀則為 15%；NIK 受到 diluent lidocaine 影響而呈現偽陽性，Portable IR 則影響性極小；NIK 簡單易操作，Portable IR 則須經過一定訓練；NIK 為破壞性檢驗，可攜式紅外光光譜儀屬非破壞性檢驗。未來亦將加入可攜式拉曼光譜儀 (portable Raman) 同時評估現場測試管制物質或毒品檢測之能力。

### 4. Comparison of FTIR and Raman Spectroscopy for Safety and Security Applications

Suzanne Schreyer Ph.D. 報告比較不同廠牌之 FTIR 及拉曼光譜儀對於化學物質之鑑別，特別是危險材料 (hazardous materials)、有顏色物質或混合物以及不同容器中之化學物質。結果：小分子有機物所試驗之各廠牌儀器鑑定結果均一致，但對於生物性材料鑑定一致性則較差，Near IR 鑑定較佳，次為 Raman 雷射波長 1064 nm，但對於混合物試驗儀器均不易鑑定。55 件檢體經鑑定，獲得正確結果分別為 IR 有 35 件、Raman 雷射波長 785nm 有 24 件及 Raman 雷

射波長 1064 nm 有 41 件。無法正確鑑定可能與選擇性或螢光干擾或訊號過雜而不易比對資料庫等原因。

#### 5. Screening for Drugs of Abuse at Music Festivals Using a Portable Gas

##### Chromatograph Ion Trap Mass Spectrometer

Zachary Lawton, MS 代表研究團隊介紹。重點如下：在犯罪現場有極多化學證據且其類型往往多樣化。雖然已經有多種分析技術被證明有利於打擊犯罪證據，但是樣品數量與現場鑑定的限制，已讓鑑識實驗室承受檢體積壓之困擾。應用可攜式氣相層析質譜儀 (portable gas chromatograph-mass spectrometer portable, GCMS) 將加快刑事調查及減少實驗室工作負擔。研究團隊自某地區音樂季搜集到 30 多件懷疑含有非法物質之檢體，檢體經甲醇稀釋，以伸縮的捲曲金屬絲 (retractable coiled filament, CWF) 探針取樣，經 10-30 秒乾燥後，注入 portable GC/MS 分析。配備低熱容 (low thermal mass, LTM) 氣相層析管柱與離子阱質譜儀之可攜式氣相層析質譜儀，5分鐘內完成分析並經 NIST 圖譜資料庫快速比對完成鑑定工作。結果：白色粉末檢出 benzocaine 及 cocaine。另執行 MDMA 純度分析，也檢出 MDMA precursor 及 caffeine。以上研究證明應用可攜式氣相層析質譜儀可以成功鑑定非法物質。

#### 6. Validation and Characterization of an Ambient Sampling, Portable Mass

##### Spectrometer for Field Screening of Forensic Evidence

William Fatigante 代表研究團隊報告。重點如下：需鑑定證物不斷地增加，使用可攜式質譜儀 (portable mass spectrometer)，大氣壓下，直接離子化樣本後直接分析，可提升篩檢效率，惟檢測結果須正確且可重複性。以可攜式圓錐形離子阱質譜儀 (portable cylindrical ion trap mass spectrometer) 搭配紙噴霧離子源 (paper spray ionization, PSI) 做測試，並做確效試驗。確效內容包括光譜準確度，異日間/同日內及用戶間/用戶內之可變性、可靠性、方法穩健性 (robustness) 及環境耐受性 (ruggedness)。環境耐受性研究顯示，當風速增強時，訊號下降，檢出率下降，低溫高濕度下訊號最強，亦比較接受不同教育與有經驗的用戶使用情

形，偽陽性比率幾乎接近 0%，證明未具有專業知識與操作技術之用戶，操作此儀器仍能獲得不錯的正確率。

7. Psychedelics Leave Their Mark: Establishing Exposure to Psychoactive Plant-Based Legal Highs by MALDI Mass Spectrometric Imaging of Fingermarks

Rabi Ann Musall, Ph.D. 代表研究團隊報告。重點如下：2015 年，美國約有 110 萬名駕駛被捕，約有 16% 與非酒精類藥物有關，如大麻類、鴉片類藥物、卡西酮類藥物等。但對於欲鑑定這些尚未列管，但卻能改變精神狀態之 legal high 物質檢驗方法已很少，又當藥物是存在於複雜基質內，並非是單純的化合物，又更具挑戰性。講者認為可以先證明個體有暴露於特定精神活性植物之情形，提出 SpiralTOF 基質輔助雷射脫附/電離高分辨質譜成像 (SpiralTOF matrix-assisted laser desorption/ionization high-resolution mass spectrometry imaging, MALDI-HRMSI) 技術用於偵測嫌疑人指紋，藉由指紋成像圖中小分子生物標誌物來判定是否有暴露或接觸 legal high 物質。選定聯合國毒品和犯罪問題辦公室 (UNODC) 關注植物其中 3 種為研究材料，以手指摩擦 *Mimosa hostili*、*Salvia divinorum* 及 *San Pedro cactus* (*Echinopsis pachanoi*) 等植物後，將指紋印於玻片上，matrix application 後，經由 MALDI-HRMSI 進行分析。選定 m/z 值的離子影像證明內含精神活性植物生物標誌，即含影響心智成分。影像圖發現三種植物分別含有二甲基色胺 dimethyltryptamine (DMT)、salvinorin B 及 mescaline。此方法不僅可分析精神活性成分，同時亦可藉由指紋了解個體接觸 legal highs 之證據。

8. Developing Direct Analysis in Real Time (DART) Mass Spectral Libraries and Reverse Library Search Algorithm or Rapid Screening of Controlled Substances

Frederick Li 代表研究團隊報告。重點如下：罪證化驗室 (crime lab) 採用常規的篩檢技術來鑑定緝獲的藥物樣品中的管制物質，並使用確認方法以進一步分析樣品。常見篩檢技術包括快速比色法 (colorimetric test)、熔點分析、UV 及螢光法，係屬於 SWGDRUGC 分析技術分類下之 Category C，分析速度快，惟相較於 Category A 及 B 其辨別力 (discriminating power) 最低。為提高實驗室效率

及 turnaround time，需要有較高鑑別能力的篩選技術。即時直接分析質譜 (DART-MS) 已被證明能夠精確分辨管制物質，其篩檢速度可媲美如呈色反應及 FTIR，又屬於質譜技術，因此可以認為是具有高辨別能力的 Category A 分析方法。目前有阿拉巴馬州鑑識科學部與維吉尼亞州鑑識科學部使用 DART-MS 作為管制物質篩檢工具，DART-MS 雖然分析速度快，但缺乏 DART-MS 分析資料庫可應用。目前，唯一可用於管制物質及濫用藥物之 DART 資料庫是由 Steiner 等人於 2013 年所建立的，然而，這個資料庫是使用高端質譜平台 (high-end mass spectrometry platform) 建立的，對於近年來出現許多新的狡詐家藥物及其他物質而言並非最新的資料庫。因此，很重要的是要有最新 DART-MS 資料庫，目前正在不斷努力開發資料庫，使用認證過的參考物質包括各種管制物質及濫用藥物。目前資料庫約有 150 種物質，主要包括鴉片類、大麻類、興奮劑、苯二氮平類及新興精神活性化合物。迄今，初步測試顯示無偽陰性情形，所有偽陽性都來自於異構物。研究團隊未來將持續擴增資料庫，以及改進資料庫演算法或使用不同圓柱電壓以區分異構物。

#### 9. LADI-MSLiberty: Development of a Mass Spectrometry Imaging Approach Free of Sample Preparation Steps for Analysis of Psychoactive Substances in Complex Matrices

Kristen L. Fowble 代表研究團隊報告。重點如下：質譜聯用技術 (hyphenated mass spectrometric techniques) 越來越多元，GC-MS 與 LC-MS 是罪證化驗室藥物分析的主流，其他更先進的技術，如質譜成像 mass spectrometry imaging (MSI) 應用於鑑識科學有越來越多之趨勢。然而，因可分析的範圍相當狹窄，且須依據儀器說明進行樣品之處理。因此研究團隊提出一個新 MSI方法為“雷射燒蝕直接分析即時成像質譜 (laser ablation direct analysis in real time imaging-mass spectrometry, LADI-MS)，即結合即時直接分析 (DART) 離子源與紫外光雷射器及 TOF-MS 等設備，可分析許多不同類型的樣本。LADI-MS使用時，不需執行任何前處理步驟，亦不需要使用基質或溶劑，更不需像其他 MSI 技術要求高真空操

作環境，因此可於室溫下或戶外即可進行分析。LADI-MS 可用於檢測指紋中的藥物，以及鑑定植物類精神活性藥物。例如在犯罪之前，犯案者已經接觸這些可能包括”合法”(legal) 影響精神的物質，LADI-MS 能夠在指紋圖像中，輕易地測定精神活性植物衍生藥物。除了繪製指紋中 legal highs 成分之空間分佈外，對未知的精神活性植物材料本身亦可執行，如在犯罪現場發現的種子，可以使用 LADI-MS 進行分析和識別。講者以 *Datura stramonium* 及 *Datura leichhardtii* 種子為例以 LADI Liberty 分析，觀察到化合物如 scopolamine 與 atropine 空間分佈，且能相互區分物種。

### (三)大會 (Plenary session)

11 月 9 日上午之大會，辦理 4 場演講，摘錄如下：

1. So whose profession is this anyway? Advancing forensic science in turbulent times.

由 John Collins 介紹。重點如下：鑑識科學專業越來越受評論。感謝各界評論讓鑑識專業受重視且更能提升。今天所做出的決定將對未來鑑識科學界產生影響。須設定願景，並將專業傳承及理解領會科學與法律之間的重要差異。

2. The Pressure from PCAST (President's Council of Advisors on Science and Technology)

由 David Kaye, Professor 介紹。2016 年 9 月，總統科學技術顧問委員會 President's Council of Advisors on Science and Technology (PCAST) 發布了「刑事法庭的鑑識科學研究：確保比對方法的科學有效性」之報告 (Report on Forensic Science in Criminal Courts: Ensuring Scientific Validity of Feature-Comparison Methods)，國家司法學院 (National Judicial College) 及國家地區律師協會 (National District Attorney's Association) 均對此份報告表達意見與看法。講者概述該份報告內容，並論述在法律界 (legal community)、法庭科學機構 (forensic science establishment) 及學術文獻中的接受 (reception) 情形。

### 3. The 2016 PCAST Report, Black Box Testing, and Error Rates Understanding the Details

由 JoAnn Buscaglia Buscaglia, Ph.D. 報告，重點如下：最近有很多關於使用“黑盒子 (black box)”及“白盒子 (white box)”技術來評估各種鑑識領域 (forensic disciplines) 決策的議題。2016年，總統科學技術顧問委員會 (PCAST) 發布了一份標題為「刑事法庭的鑑識科學研究：確保比對方法的科學有效性」之報告，質疑幾個鑑識領域之基本有效性 (fundamental validity)。黑盒子評估 (black box evaluation) 是評估檢驗員的決定而不考慮如何做出這些決定。黑盒子評估是在交付任務後所得到的決定，提供全面瞭解準確性、再現性與可重複性。相反地，白盒子評估 (white box evaluation) 是為了獲得-了解檢查員如何以及為什麼作出決定。白盒評估是對檢驗員決策基礎的詳細評估，不僅關注最終決策，還關注審查員提供結論所使用之特徵與屬性。儘管黑盒子結果分析處理檢驗者間的決策差異，但白盒子分析也處理了檢驗員對特徵和其他屬性檢測的可變性 (variability)。

### 4. Forensic Service Provider Accreditation - The Merger of ANAB and ASCLD/LAB.

由 Laurel Farrell 介紹。重點如下：認證 (accreditation) 被認為是一個有效的機制，可以提高/維持鑑識服務提供者的工作品質。2016年4月，兩家認證機構 ANSI-ASQ National Accreditation Board (ANAB) 與 ASCLD/LAB 合併。合併目的可以調和原兩認證之要求、分享雙方過去之經驗、增加國際影響力以及提供高質量和可靠的鑑定服務。講者也簡述 ANAB 未來鑑識認證計畫及 ISO/IEC 17025 測試實驗室認證要求。

## (四) 綜合座談會 (General Session)

### Case Study: The 31-Year Investigation of the BTK Serial Killer

Detective Timothy Relph 案例介紹有關 BTK系列殺手，經過31年調查終於落網。重點如下：從 1974 年至 1991 年，BTK 連環殺手在堪薩斯州 Wichita 謀殺

了10人。講者介紹這如何破解惡名昭彰的連環殺手細節，當殺手於 2004 年再次出現並傳送文件予警方，警方展開一連串之調查，後來是因為找到一張磁片，從中發現殺手蹤跡，於2005年破解此案。

#### (五) 狡詐家類鴉片類藥物特別會議 (Designer Opioid Special Session)

近年來，新興精神活性物質的使用量不斷增加。已自海洛因及 fentanyl 開始，迅速發展成 fentanyl analogue 及其他狡詐家類鴉片類藥物 (Designer opioids)，使分析面臨挑戰，本次大會特別辦理此場演講。由 NMS Labs (National Medical Services) 同仁介紹目前面臨之鴉片危機、該公司之想法與做法。演講摘要如下：

##### 1. A Historical Perspective: How did we get here?

Laural M. Labay, Ph.D., F-ABFT, DABCC-TC 回顧過去鴉片類藥物濫用與過量情形，引用 2016 年紐約時報 (Newyork times) 報導有關美國 Drug abuse epidemic。藥物過量致死大多與治療疼痛處方藥及海洛因有關，在 2015 年死亡人數 52404人，相當於每天有 145 人因為藥物過量而致死。推估藥物過量是 50 歲以下主要成年人死因。以每 10 萬人口計，1999年平均死亡率 6 人，但至 2015 年攀升至 16 人，此種上升趨勢類似於 HIV 在 1980 年代末期至 1990 年代初期之死亡率。2017 年 6 月該雜誌續報導預估 2016 年致死案可能超過 6 萬人。2017 年 9 月報導因 Fentanyl 而死亡，自 2015 年至 2016 年已成長 2 倍。講者續引用美國川普總統於 2017 年 8 月 10 日所說鴉片類危機是國家危機，誓言打擊鴉片類藥物濫用。2017 年10 月美國司法部緝毒總署宣布成立 6 個執行小組，打擊海洛因、fentanyl 及 fentanyl analogues 之走私販賣。另也報告自 1990 年代開始，止痛藥急遽成長、海洛因使用地域分布等。

##### 2. Everything Laboratory: Method Development and Validation, Analysis and Safety Practices

Michael E. Lamb, M.S. 介紹有關鴉片類檢驗方法開發與確效重點。在分析方法開發前，實驗室應有安全操作環境。暴露此類危險藥品人員包括執法人員、法醫、

法醫毒理及毒品分析員等。暴露方式如呼吸、黏膜及皮膚等，並介紹相關暴露案例。獸醫師之眼睛及口被含 carfentanyl (藥效強於 Fentanyl) 液體噴到，幾分鐘後出現鴉片類症狀，給予 naltrexone 緩解症狀，類似此案例文獻尚無報導，此案可能是首例。媒體報導案例如 (1) 2017 年 1 名 10 歲男孩發生 Fentanyl 中毒事件，是因為使用浴巾，而引起媒體廣泛注意。(2) 2016 年 9 月發生在康乃狄克州哈特福 (Hartford)，有 11 位 SWAT 人員於醫院中表示，因房間放有 40,000 小袋海洛因及 fentanyl 吸入後發生噁心、偶吐及暈眩症狀。(3) 2017 年 10 月，2 名警察人員在協助辦理藥物過量致死案例後生病，原因是接觸少量的粉末。然依據美國醫學毒理學會 ACMT (American College of Medical Toxicology, ACMT) 及美國臨床毒理學會 (American Academy of Clinical Toxicology, AACT) 就暴露鴉片類藥物之聲明 (position statement)，吸入屬中等關注 (moderate concern)，眼/口屬 low concern with PPE (personal protective equipment)，皮下途徑 (transdermal) 不太可能引起中毒，認為需要長期暴露、有足夠接觸面積及濕度才會造成中毒。即便如此實驗室人員，須做好足夠安全防護措施，除 Nitrile 手套、防水衣、手套、面罩、人員訓練外，也應了解 intranasal naloxone 之使用方式。

在方法開發上，首先是分析標的物選擇以及盛行率及毒性考量，可以參考如政府單位數據、急診病例報導、文獻、客戶疑慮、藥物資料等研判。但也面臨標準品不易取得、採購內部標準品需較多經費、分析方法之感度、同分異構物、毒性資料不足以致難以訂定偵測極限、代謝途徑資料少、完成確效需要許多時間、需配合趨勢增加新成分之定性定量方法及成分安定性等等問題。Toxicology gold standard 是採用兩種不同分析方法以得到相同結果始判定為陽性，即初篩與確認。實驗室定性試驗以 LC/TOF-MS 初篩及 GC/MS 確認，雖可廣泛篩檢，但感度較差。定量是選定相關及重要分析物進行檢測，因此感度需高於初篩、低報導濃度、常使用 LC-MS/MS 定量，但需要方法確效且分析成分範圍窄。

實驗室執行 Data mining 如下：(1) 增加新成分資料庫後，分析過去資料是否有發現新的狡詐家類鴉片類藥物、建立有關盛行率與地理環境區域趨勢分析、

(2) 重新檢視過去未完整之資料、ELISA 陽性但確認試驗為陰性、法醫懷疑藥物過量但檢驗發現其他成分，與顯示毒性不一致，需確認緝獲毒品或設備是否含有其他藥物。

### 3. Pharmacology and Pharmacokinetics: Facts and Supposition with Analyte Specific Examples

Sara C. Gagen, M.S. 介紹鴉片類 Codeine 之藥理作用、使用方式、代謝、吸收、分布及排泄。鴉片類藥物與 Morphine 相比，強度增加依序為 Codeine (0.05)、Heroin (2)、Hydromorphone (6)、Fentanyl (100)、Sufentanyl (4000)、Carfentanil (10000)。鴉片類藥物引起毒性如呼吸抑制、心血管胃腸、肺水腫、瞳孔縮小及癲癇 (seizure) 不正常放電等，其拮抗劑如 Naloxone 及 Naltrexone，後者拮抗作用為前者 2 倍、半衰期 4 小時，前者 30-80 分鐘，在成癮治療上後者為一線用藥，前者引起復發。

Fentanyl 於 1950 年被合成，IV 30 秒後產生效果，3-12 小時半衰期，為 4-ANPP 衍生物，Norfentanyl 為其非活性代謝物，4-ANPP 可能是前驅物或代謝物，不具活性，曾於緝獲檢體中發現，Carfentanil 最初做為大型動物鎮靜作用，半衰期 7.7 小時，Furanylfentanyl 於 1986 年被合成，鼻內給藥、IV、口服及吸入方式、為 Morphine 效力 50 倍、施用者尿液檢出 4-ANPP。

### 4. Interpretation of DUID and PM cases with Case Specific Examples

Jolene J. Bierly, M.S.F.S., D-ABFT-FT 說明目前面臨挑戰，常規檢驗並無法涵蓋新成分，開發新方法不見得檢出新成分，又檢驗結果出來，又該如何解釋，可以就過去濫用情形、現場有無藥物或施用器具、過世前徵兆及驗屍等推論。整理第一代 Designer Opioid Combination 如下：PFBF/FIBF+Fentanyl、Fentanyl+U-47700、Carfentanil+Fentanyl、Carfentanyl+U-47700、Fentanyl+Acryl、Butyryl/Isobutyryl。第二代組合如下：Methoxyacetyl+ PFBF/FIBF、Methoxyacetyl+Cyclopropyl、Methoxyacetyl+U-47700、Cyclopropyl+U-47700、Methoxyacetyl+Carfentanil、Methoxyacetyl+Acrylfentanyl、4-ANPP+Cyclopropyl, Methoxyacetyl, PFBF/FIBF。講者

續介紹實驗室檢測毒駕及屍體之案例，均屬多重濫用藥物。略述如下：(1) 39 歲女性開車不穩定，車停於大馬路上，觀察到有中樞抑制情形，血液中測到 carfentanyl、fentanyl 及 norfentanyl。(2) 28 歲男性坐於駕駛座上呈無意識狀態，膝蓋上有注射毒品痕跡，車上發現有兩透明塑膠袋、有使用 Heroin 歷史、未經過受訓練的毒品識別專家 (drug-recognition expert, DRE) 及標準現場清醒測試 (standardized field sobriety test, SFST)。血液測到 fentanyl、carfentanyl、fentanyl Fentanyl、para-fluoroisobutyl fentanyl (PFBI)、U-47700 及 alprazolam。(3) 30 歲男性，離開餐桌去浴室，就未回到餐桌，被發現躺在浴室地板，反應遲鈍，現場發現針筒及 1 袋可能是海洛因東西、過去 5 個月也被送往急診、左臂有明顯注射毒品痕跡，最初以 LC-TOF 篩檢、免疫法及酒測分析，測得 caffeine 及 naloxone。Designer Opioid panel 指定加測其他項目，測得 4-ANPP，再以新開發之 LC-TOF 測定，鎖骨下血 (subclavian blood) 測得 4-ANPP、fentanyl、caffeine 及 naloxone。(4) 19 歲男性有嘔吐及呼吸困難現象，救護車到達時已因呼吸困難急救無反應。在送急診前對 naloxone 有短暫反應，周邊血液 (antemortem peripheral blood) 測得 furanyl fentanyl、4-ANPP、U-47700、caffeine、naloxone、alprazolam、midazolam、Delta-9 THC 及 Delta-9 Carboxy THC。

#### (六) 壁報論文展示 (Poster Session)

計有 41 篇，發表內容屬於 Drug Chemistry 領域最多，次為毒理學另有血跡、彈道火藥指紋及文書鑑定等。以下就重點摘錄如下：

1. Development and validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of pharmaceutical compounds in the Brandywine River  
Casey Anderson 研究團隊發表有關近年全球關注之健康議題。開發液相層析串聯質譜 (LCMS/MS) 方法以檢測河流中之 codeine、fluoxetine 及 acetaminophen 之濃度。檢體經固相萃取 (SPE) 淨化，以 C18 2.1×100 mm, 2.7 μm 管柱分析，質譜部分為電灑法正離子模式。移動相為乙腈和甲酸銨 10 mM/甲酸 0.05% 梯度沖

提。各成分 MRM transitions 如下： Codeine 300.14 > 165, 300 > 52; fluoxetine 310.14 > 148, 310.14 > 44; acetaminophen 152.07 > 93, 152.07 > 65.1。方法經確效後，證明具準確、精確，選擇性及專一性，在檢量線範圍內具有令人滿意的線性。

## 2. Out of Thin Air: Detecting the Presence of Plant-Based Legal Highs in Air

Meghan G. Fogerty 研究團隊發表應用頂空大氣壓游離質譜法以檢測貨物容器中 legal Highs 植物。分析物經固相微萃取 (SPME) 濃縮後，經直接分析即時高分辨質譜儀 (DART-HRMS) 分析。再就獲得之化學特徵進行多變量統計分析，進而將植物材料分類與鑑定。所研究之植物包括 *Althaea officinalis*、*Calea zcatechichi*、*Echinopsis pachanoi*、*Lactuca virosa*、*Leonotis leonurus*、*Mitragyna speciosa*、*Nymphaea caerulea*、*Ocimum basilicum*、*Origanum vulgare*、*Piper methysticum*、*Psychotria viridis*、*Salvia divinorum*、*Turnera diffusa* 及 *Voacanga africana* 等 14 種。

## 3. Hyperspectral Imaging: Proof of Concept for Field Analysis of Select Opioids and Salvia Divinorum

Ani Kazaryan 研究團隊發表有關高光譜成像系統之應用。高光譜成像分析已用於搖頭丸、爆炸物、血跡及指紋之分析研究。實驗目的是欲確定是否可以利用 visible near-infrared (VNIR) 高光譜成像，於犯罪現場檢測管制與非管制物質。以有致幻作用之 *Salvia Divinorum* 為研究對象，並評估不同製造商之鴉片類處方藥是否有光譜差異。

## 4. Current Trends of Opioid Abuse

Ada Kong 介紹美國藥物過量死亡人數急劇增加，主要是鴉片類藥物之濫用而席捲全美鴉片類藥物危機的最新趨勢似乎是來自 counterfeit oxycodone tablets。海報中敘述 fentanyl、fentanyl analogue 及狡詐家藥物之分析研究。

## 5. Reading the Fine Print: Connecting Perpetrators to Crimes by Imaging of Forensically-relevant Molecules in Fingerprints by Matrix-assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry Imaging

Cameron Longo 團隊研究模擬接觸非法物質後，以基質輔助雷射脫附高解析質譜影像法檢測指紋沉積物質。藉由確定指紋圖中分子  $m/z$  值之空間分佈所得到的離子影像，揭露個體有接觸產品事實，並推測其活動內容或行為模式等。研究材料包括精神活性植物（如 *San Pedro cactus*、*Mimosa hostilis*、*Picralima nitida*）及非法藥品等。

#### 6. Investigation into the Intermediates Produced in the Synthesis of 3,4-Dichloromethcathinone

Zachary Lutz 研究團隊發表應用 GC/MS、ATR-IR 及 NMR 等分析方法，檢測地下工廠合成 4-dichloromethcathinone 過程中所產生的中間體，以減少誤判情形發生，有助提升鑑識化學案件之準確性。

#### 7. Quantification of 11-Nor- $\Delta^9$ -carboxy-9-tetrahydrocannabinol in Urinary Samples via GCMS

Ebrar Mohammag 研究團隊介紹由於大麻是最常被濫用的藥物，施用後可於血液及唾液中測到四氫大麻酚 (THC)。然 THC 於體內迅速被代謝為 11-hydroxy-THC (hydroxy-THC) 及 11- $\Delta^9$ -11-Nor-9-carboxy- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (carboxy-THC) 後，濃度即迅速下降。因此，鑑識毒理學及臨床上，改測定尿液樣本中羧基代謝物 carboxy metabolite，而此化合物常被判斷為持續或長期施用大麻之依據。尿液樣本經固相萃取後，續以 GC-MS 分析，所開發之方法具靈敏度、可靠度及可重複性，可檢測範圍為 1000 ng/mL 至 10 ng/mL 或更低。

#### 8. LC-MS/MS Analysis of Ketamine and its Metabolites in Urine

Jacob Samuel 研究團隊發表以 LC-MS/MS 分析尿液中愷他命 (ketamine)、norketamine (NK) 及 dehydronorketamine (DHNK)。改善前處理流程，即萃取步驟已由 3 次液-液萃取步驟，修改為 1 次液相萃取步驟，可減少萃取溶劑及耗材之消耗，方法之定量極限由 4 ng/mL 降至 1 ng/mL，整體分析時間減少約 82%。與過去方法比較，60 個樣本中，4 件愷他命陽性，濃度差異在 20% 內，且均檢出 NK 與 DHNK，兩者濃度也均高於愷他命，又 DHNK 濃度較 NK 高約 3 倍。

9. A Rapid Screening Method for the Detection of Fentanyl-Laced Heroin By Fourier Transform Infrared Spectroscopy

Doug Townsend 提出了使用 FTIR 搭配多變量分析 (multivariate analysis) 對 fentanyl-laced heroin 樣品進行定性篩選。將緝獲 6 種不同品牌海洛因，加入 fentanyl citrate，fentanyl 最終濃度為 8.8%~50%。以主成分分析 (PCA) 找出與 fentanyl adulteration 光譜特徵。結果顯示有摻及未摻海洛因之樣品均可明顯區分。實驗證明以 FTIR 光譜測定再透過 PCA 分析，可應用於藥物的篩檢。

10. Chiral separation and quantitation of the enantiomers of ephedrine, amphetamine, methamphetamine, MDA, MDMA, and phentermine in blood using LC-MS/MS

Ashley Vallier 研究團隊應用 LC-MS/MS 分離具光學異構物之 ephedrine、amphetamine、methamphetamine、MDA、MDMA 及 phentermine 等成分，以證明其適用於區分非法藥物與藥品來源之安非他命類鏡像異構物。血液樣本 200  $\mu$ L 經液-液萃取前處理，通過 chiral column 分離後進入質譜儀分析。所開發之方法符合國際確效規範，線性範圍為 10 ng/mL-1000 ng/mL，並已成功應用於28個案例分析。

11. Characterization of Salvia Divinorum Fortification by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

Robert Walsh 團隊提出傅立葉變換產量紅外光譜 (FTIR) 與氣相層析質譜 (GC-MS) 相互搭配，以分析 fortified 及 unfortified Salvia Divinorum 及 Salvinorin A。使用ATR FTIR 接觸不含 Salvia Divinorum 葉片及 unfortified leave (5倍、15倍、35 倍及 50 倍)。隨 Salvinorin A 濃度上升，光譜差異變大。

12. Rapid Analysis of Pharmaceuticals in Human Tissues using 2D LC-MS/MS

Sabra Botch-Jones 研究團隊開發 2D LC-MS/MS 方法，以微萃取方法淨化樣本，依目標分析物之化學結構選擇 trap column 及分析管柱，總分析時間10分鐘，計分析 zolpidem、citalopram、norbuprenorphine、oxycodone、normeperidine、dextrophan、dextromethorphan、diazepam、diltiazem、quetiapine、diphenhydramine、

buprenorphine、promethazine、dihydrocodeine、doxylamine、flecainide、hydromorphone、nordiazepam、temazepam、n-desmethylocitalopram 及 oxazepam 等 21 種成分，正離子化掃描模式，以來自航空事故之組織為樣本進行評估。結果：所有分析物的偵測下限 (lower limit of detection) 為 0.001 ng/mL，線性動態範圍 linear dynamic range 為 0.01~10 ng/mL。以肝臟樣本添加內部標準品，離子比做回收率計，結果介於 50% 至 110%。在所評估的病例中，案例 7 檢出 dextromethorphan，案例 5 檢出 flecanide 陽性，案例 2 檢出 citalopram。

## 肆、心得

- 一、本次參加 2017 年美國東北鑑識科學協會年會，參加人數近 400 人，會議內容涵蓋甚廣，除參加與本署業務相關演講外，亦參加如毒理學領域、鴉片類專題研討會，會中收穫極多。另，透過壁報論文展示，與各檢驗專家討論研究成果，展現本署研究成果，拓展國際能見度。
- 二、本次會議討論到新興精神影響物質是各國所面臨威脅，美國以鴉片類藥物氾濫為最，2016 年已有近 6 萬人因此致死，川普總統誓言打擊鴉片氾濫危機，美國司法部緝毒總署亦成立六個取締小組，將此波危機降至最低。我國亦自 106 年開始新的反毒政策。本署亦於其中扮演重要角色-強化查獲新興毒品之檢驗量能之重大責任，建置毒品標準品質譜圖資料庫及整合各政府鑑驗機構之尿液中新興毒品檢驗方法，供民間檢驗實驗室認證使用，達到提升民間檢驗機構檢驗尿液中新興毒品之檢驗量能。應趁此將毒品或新興濫用物質打擊，以營造健康幸福社會。
- 三、本次會議講者介紹也提到 NPS 品項不斷地增多事實，由其案例分享中，獲得美國國內實際流行之 NPS 品項及檢驗方法，將作為未來籌獲 NPS 標準品

及擴增 NPS 檢驗資料庫之參考，以提升新興影響精神物質之檢驗知能，進而應用於本署之檢驗與研究業務。

四、鑑識科學涵蓋領域甚廣，以鑑識化學領域而言，這次會議除有傳統化學分析檢驗外，多場次演講均提到非破壞性檢驗，可保存證物並可減少人員暴露於危險藥物之風險。本次參加顯微拉曼研習課程，講者自理論、設備、方法確效及應用介紹。特別提到以偏光顯微鏡搭配拉曼光譜儀切入介紹，可解決傳統以 GCMS 無法檢出之成分，如無機物，惟需要有經驗者方能完成未知標的物之分析。

五、面對 NPS 所帶來之威脅，多位講者提到須建立資料庫，以 LC-TOF、Raman、及 FTIR 等最多，此與本署近期在毒品發展亦同，應持續精進。另亦有發表 portable GC-MS、DART-MS、MALDI-HRMS、MALDI-HRMSI、LADI-MS 等應用，MALDI-HRMSI、LADI-MS 於具精神活性植物之確認亦有不錯之成果，離子化方式介紹紙電灑游離法搭配及時大氣壓游離法分析及固相微萃取法淨化濃縮樣本後，再作分析，以上可做為未來精進之方向。

六、本次參加者多來自政府實驗室，與來自美國緝毒總署 Ms Kong 交談中，了解 DEA 新人紮實學習及實驗室有許多化學家從事化學鑑驗工作，儀器設備除質譜外，亦有核磁共振光譜儀針對未知成分進一步解析。並對於過時儀器定期淘汰，捐贈學校以培養未來鑑識人才，值得學習。

## 伍、建議

一、多派員參加國際會議，展現研發成果、拓展國際能見度

食藥署研檢組負責藥物、食品及化粧品之檢驗，並協助國內毒品鑑驗工作，國際社會環境不斷地變動，應了解國際研究檢驗現況、趨勢與重點。多派員參加國際會議，發表研究成果，透過與會人員面對面交談，更能實際掌握現況及未來發展方向。

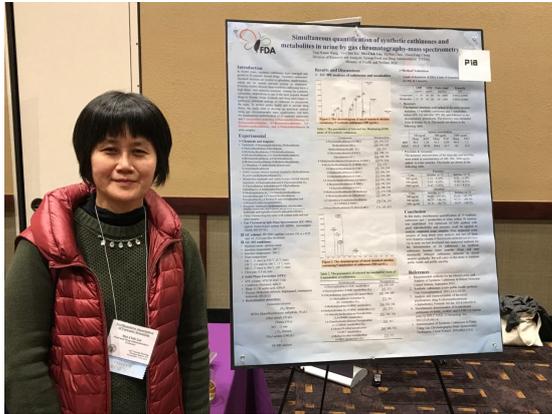
## 二、培育人才

國際上各學會或協會於舉辦會議前常辦理小型研討會活動，應儘量參加，學習新知、厚植軟實力。若有教育訓練計畫或訪問學者計畫，積極爭取，更能深入了解國際現況及提升專業技能。

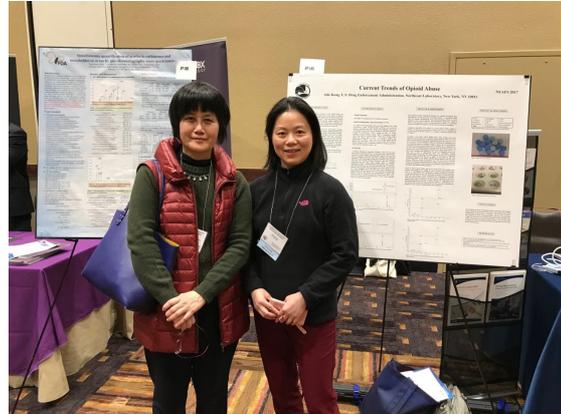
## 三、擴充精密儀器設備提升研究檢驗水準

國際上對於 NPS 之檢驗除積極建置毒品資料庫外，並使用精密儀器積極開發新穎檢驗方法，為貫徹反毒政策，宜擴充檢驗設備以因應不斷推陳出新之 NPS。

## 陸、附錄



出國人員參加壁報展示活動



出國人員與 Ada Kong 合影



出國人員與 Melissa Smith 合影



出國人員與 Andrew Bowen 合影



# Simultaneous quantification of synthetic cathinones and metabolites in urine by gas chromatography-mass spectrometry

Ting-Hsuan Wang, Ya-Chun Ko, Mei-Chih Lin, Yu-Pan Chan, Hwai-Feng Cheng  
Division of Research and Analysis, Taiwan Food and Drug Administration (TFDA)  
Ministry of Health and Welfare, ROC

## Introduction

In recent years, synthetic cathinones have emerged and grown to be popular abused drugs. Synthetic cathinones' chemical structure are similar to ephedrine, amphetamine, which act on central nervous system as stimulants. Previous studies showed these synthetic cathinones have a high abuse and addictive potential. Among the synthetic cathinones, methedrone is one of the most popular abused drugs in Taiwan. Some criminals and drug users began to synthesize structural analogs of cathinone to circumvent the rules. To protect public health and to prevent drug abuse, the study aims to develop an analytical method using gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) for simultaneous quantification of 15 synthetic cathinones and 5 metabolites including 4-Fluoromethcathinone, 4-Bromomethcathinone, 4-Chloromethcathinone, 3,4-Dimethylmethcathinone, and 4-Methylmethcathinone in urine samples.

## Experimental

### Chemicals and reagents

- Standards: 4-Fluoromethcathinone, Methcathinone, 4-Fluoromethcathinone, Ethcathinone, 4-Methylmethcathinone, 4-Ethylmethcathinone, 3,4-Dimethylmethcathinone, 4-Fluoromethcathinone, 4-Ethylmethcathinone, 4-Methoxymethcathinone, 4-Methylmethcathinone, 2,5-dimethoxy-N-methylmethcathinone and N-benzylmethcathinone
- Stable isotope labeled internal standards: Methcathinone-D<sub>3</sub> and 4-methylmethcathinone-D<sub>3</sub>
- Metabolite standards and stable isotope labeled internal standards: 4-Fluorophedrine and 4-Fluorophedrine-D<sub>3</sub>; N-Ethylcathinone Ephedrine and N-Ethylcathinone Ephedrine D<sub>3</sub>; 4-Methylphedrine and 4-Methylphedrine D<sub>3</sub>; 3,4-Dimethylmethcathinone Norphedrine and 3,4-Dimethylmethcathinone Norphedrine D<sub>3</sub>; 4-Methyl-N-ethyl-norphephedrine and 4-Methyl-N-ethyl-norphephedrine D<sub>3</sub>
- Reagents: Methanol, dichloromethane, ethyl acetate, sodium hydroxide, isopropanol, acetic acid, ammonium hydroxide and heptafluorobutyric anhydride (HFBA)
- Urine: Human drug free urine with sodium acids and real urine samples
- Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS): Agilent Technologies system (GC 6890N, Autosampler 7683B, MS 5975C)

### GC column: HP-5MS capillary column (30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness)

### GC-MS conditions:

- Injection mode: splitless mode
- Injection temperature: 250 °C
- Interface temperature: 280 °C
- Oven temperature: 140 °C (1 min) to 150 °C (2 °C/min) 150 °C (10 min) to 180 °C (3 °C/min) 180 °C (7 min) to 200 °C (20 °C/min)
- Flow rate: 0.8 mL/min

### Solid Phase Extraction (SPE):

- SPE column: SPE-18 DAU 3 mL
- Condition: Methanol, dH<sub>2</sub>O
- Wash: 0.1 M acetic acid, dH<sub>2</sub>O
- Eluate: Methylene chloride, isopropanol, Ammonium hydroxide (80:20:2)

### Derivatization procedure:

Extraction solution  
[N<sub>2</sub>, dryness  
HFBA (Heptafluorobutyric anhydride, 30 µL)  
Ethyl acetate (50 µL)  
↓ Vortex (10 s)  
50 °C, 15 min  
↓ N<sub>2</sub>, dryness  
Ethyl acetate (100 µL)  
↓  
GC-MS analysis

## Results and Discussions

### GC-MS analyses of cathinones and metabolites



Figure 1. The chromatogram of mixed standard solution containing 15 synthetic cathinones (500 ng/mL).

Table 1. The parameters of Selected Ion Monitoring (SIM) mode of 15 synthetic cathinones

Compounds	Monitored Ion
4-Fluoromethcathinone (4-FMC)	254, 210, 123
Methcathinone (MC)	254, 210, 105
Methcathinone-D <sub>3</sub> (MC-D <sub>3</sub> )	252, 213
4-Fluoromethcathinone (4-FMC)	268, 240, 123
Ethcathinone (EC)	268, 240, 105
4-Methylmethcathinone (Mephedrone, 4-MMC)	119, 91, 254
4-Methylmethcathinone-D <sub>3</sub> (4-MMC-D <sub>3</sub> )	252, 213
4-Chloromethcathinone (4-CMC)	254, 139, 210
4-Methylmethcathinone (4-MMC)	119, 268, 240
4-Ethylmethcathinone (4-EMC)	133, 254, 105
3,4-Dimethylmethcathinone (3,4-MMC)	133, 105, 254
4-Bromomethcathinone (4-BMC)	254, 183, 210
4-Ethylmethcathinone (4-EC)	133, 268, 240
4-Methoxymethcathinone (Mephedrone)	119, 254, 210
4-Methylmethcathinone (Ethedrone)	119, 268, 240
2,5-dimethoxy-N-methylmethcathinone (2,5-DiMeO-4-MMC)	179, 138, 254
N-benzylmethcathinone (N-Benzyl-MC)	171, 143, 431

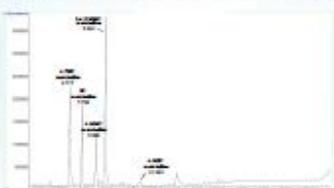


Figure 2. The chromatogram of mixed standard solution containing 5 metabolites of cathinones (500 ng/mL).

Table 2. The parameters of selected ion monitoring mode of 5 metabolites of cathinones.

Metabolite and	Monitored Ion
4-Fluorophedrine (4-FMC metabolite)	254, 210, 169
4-Fluorophedrine (4-FMC metabolite-D <sub>3</sub> )	252, 213
N-Ethylcathinone Ephedrine (EC metabolite)	268, 240, 169
N-Ethylcathinone Ephedrine (EC metabolite-D <sub>3</sub> )	273, 241
4-Methylphedrine (4-MMC metabolite)	254, 210, 358
4-Methylphedrine (4-MMC metabolite-D <sub>3</sub> )	252, 213
3,4-Dimethylmethcathinone Norphedrine (3,4-DiMMC metabolite)	351, 240, 358
3,4-Dimethylmethcathinone Norphedrine (3,4-DiMMC metabolite-D <sub>3</sub> )	243, 363
4-Methyl-N-ethyl-norphephedrine (4-MEC metabolite)	268, 240, 372
4-Methyl-N-ethyl-norphephedrine (4-MEC metabolite-D <sub>3</sub> )	273, 377

### Method Validation

#### Limit of detection (LOD), Limit of Quantification (LOQ) & Linearity

	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Conc. range (ng/mL)	Linearity (r <sup>2</sup> )
Compounds	5-20	20-50	50-2000	0.9952-0.9993
Metabolites	5-20	20-50	50-2000	0.9954-0.9983

#### Recovery

The internal standards were spiked in the urine samples including 15 synthetic cathinones and 5 metabolites before SPE (A) and after SPE (B), and followed as the derivatization procedures. The recovery was calculated from B divided by A. The results are shown in the following table.

	Spiked concentration			
	100 ng/mL	500 ng/mL	1000 ng/mL	
Mean	86.3	114	91.5	90.4
RSD	1.14	0.38	1.2	1.2
MAX	101.4	104.6	14.7	102
MIN	10.4	10.4	10.4	10.4

#### Precision & Accuracy

The accuracy and precision of the intra-day and inter-day were tested at concentration of 100, 500, 1000 ng/mL, spiked in urine samples. The results are shown in the following table.

Conc.	Precision	
	Intraday (n=3)	Interday (n=3)
100 ng/mL	1.12 - 8.36%	0.53 - 9.50%
500 ng/mL	0.23 - 6.32%	0.54 - 8.51%
1000 ng/mL	0.45 - 5.33%	0.42 - 9.32%

Conc.	Accuracy	
	Intraday (n=3)	Interday (n=3)
100 ng/mL	90.01 - 107.0%	92.34 - 107.1%
500 ng/mL	96.27 - 106.1%	91.21 - 109.3%
1000 ng/mL	95.20 - 102.7%	90.87 - 108.5%

## Conclusion

In this study, simultaneous quantification of 15 synthetic cathinones and 5 metabolites in urine within 30 minutes was established. The optimized GC-MS method with good reproducibility and recovery could be applied to analyze suspected urine samples. Five suspected urine samples of drug abuse were analyzed and two of them were found to contain 4-fluoromethcathinone metabolites. Up to now, we had developed two analytical methods for the determination of 20 cathinones. As synthetic cathinones became more popular drugs and new structurally changed cathinones detected in seized samples gradually. We will carry on the study to maintain public health and public security.

## References

- Recommended methods for the identification and analysis of Synthetic Cathinones in Seized Materials. United Nations, September 2015.
- Synthetic cathinones: a new public health problem. *Curr Neuropharmacol.* 2015, 13(1):12-20.
- Analysis and characterization of the novel psychoactive drug 4-chloromethcathinone (clephedrone). *Forensic Sci Int.* 2014, 244:e56-9.
- Simultaneous determination of 4-substituted cathinones (4-MMC, 4-MEC and 4-FMC) in human urine by HPLC-DAD. *J Chromatogr Sci.* 2013, 51(9):861-6.
- Determination of Synthetic Cathinones in Urine Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry Techniques. *J Anal Toxicol.* 2016, 40(1):12-6