



國立中山大學機械與機電工程研究所

碩士論文

Department of Mechanical and Electro-mechanical Engineering

National Sun Yat-sen University

Master Thesis

**3D 列印紙微流體卡匣整合電噴灑抑制電極於高效能**

**尼古丁與咖啡因代謝物檢測**

3D-Printed Paper-Based Fluidic Cassette Integrated with  
Electrospray Pinching Electrode for High-Performance Mass  
Spectrometry Analyzing Caffeine and Nicotine Metabolites

研究生：李奕頡

Yi-Chieh Li

指導教授：林哲信 教授

Dr. Che-Hsin Lin

中華民國 109 年 7 月

July 2020

# 論文審定書

國立中山大學研究生學位論文審定書

本校機械與機電工程學系碩士班

研究生李奕韻（學號：M073020035）所提論文

3D列印紙微流體卡匣整合電噴灑抑制電極於高效能尼古丁與咖啡因代謝物檢測

3D-Printed Paper-Based Fluidic Cassette Integrated with Electrospray Pinching Electrode for High-Performance Mass Spectrometry Analyzing Caffeine and Nicotine Metabolites

於中華民國 109 年 07 月 31 日經本委員會審查並舉行口試，符合碩士學位論文標準。

學位考試委員簽章：

召集人 傅龍明 傅龍明 委員 林哲信 林哲信

委員 莊承鑫 莊承鑫 委員 薛佑玲 薛佑玲

委員 朱訓鵬 朱訓鵬 委員 \_\_\_\_\_

指導教授(林哲信) 林哲信 (簽名)

# 論文授權書

2020/8/27

國立中山大學博碩士論文公開授權書

## 國立中山大學博碩士論文公開授權書



etd-0726120-123829

2020-08-27 08:49:20

本授權書所授權之論文為授權人李奕穎在國立中山大學機械與機電工程學系研究所108學年度第2學期取得碩士學位之論文。

論文題目：3D列印紙微流體卡匣整合電噴灑抑制電極於高效能尼吉丁與咖啡因代謝物檢測

指導教授：林哲信

### 注意事項：

1. 依本校109年4月29日108學年度第2學期第6次行政會議修正通過，研究所畢業生可於上傳電子論文時，與指導教授討論後選擇學位論文紙本及電子檔之開放年限，紙本論文若選擇「四至五年後公開」者，電子論文若選擇「四至五年後公開」或「其他」者，應提供涉及機密、專利事項或依法令規定限制公開之證明資料，經指導教授及系所(學程)主管認定始能作上述選擇。
2. 因專利申請涉及論文公開時間，為避免因喪失新穎性而無法申請專利，請各位老師及同學上網參考「專利各項申請案件處理時限表」(網址路徑：經濟部智慧財產局→專利→專利情報通→專利處理時限)後再選定論文公開時間。  
另有著作權相關資訊，請參考「經濟部著作權專區」(網址路徑：經濟部智慧財產局→著作權)。  
若尚有任何專利申請與著作權等相關問題，歡迎洽詢本校產學營運中心智財技轉組，分機2626。
3. 授權書一式兩份，將簽署後論文公開授權書正本裝訂於審定書之後，辦理畢業離校時，除繳交一本論文至圖書館外，另一本繳交至教務處註冊課務組。

·**電子檔：** 此項授權同意以非專屬、無償方式授權予本校圖書館，不限地域、時間與次數，以微縮、光碟或數位化方式將論文全文(含摘要)進行重製，及公開傳輸。亦提供讀者非營利使用線上檢索、閱覽、下載或列印。

立即公開傳輸數位檔案。

因特殊原因，校內請於6年後公開、校外(含國家圖書館)請於10年後將公開或上載網路公開閱覽。

※ 電子論文延後公開原因：出版期刊投稿。

※ 論文電子檔公開日期：校內民國115年08月26日，校外(含國家圖書館)民國119年08月26日。

·**紙本論文：** 此項授權同意以非專屬、無償方式授權予本校圖書館，不限地域、時間與次數，以紙本方式將論文全文(含摘要)進行收錄、重製與利用；於著作權法合理使用範圍內，讀者得進行閱覽或列印。

同意立即公開。

因特殊原因，欲延後公開，請於5年後公開陳覽。

※ 紙本論文延後公開原因：出版期刊投稿。

※ 紙本論文公開日期：民國114年08月26日。

授權人：李奕穎

學號：M073020035

授權人：李奕穎 (簽章)

李奕穎

指導教授：林哲信 (簽章)

林哲信

系所(學程)主管：彭昭暉 (簽章)

教授兼機械與機電工程學系系主任 彭昭暉

系所(學程)主管

中華民國 109 年 8 月 27 日

### ※ 此授權書嚴禁塗改

- 若欲修改權限，請登入系統修改後重新列印此授權書。
- 若論文已審核通過，請聯繫etd@mail.nsysu.edu.tw或校內分機2452，修改後重新列印並簽章。
- 授權書需自行列印兩份。請於圖書館和教務處辦理離校手續時，裝訂於繳交的紙本論文內。

## 致謝

光陰似箭，兩年的碩士生涯一下子就過去了，在求學歷程的尾聲，受到非常多貴人的照顧以及幫助，使我成長成一個更好的自己。首先，最要感謝的是我的指導教授林哲信老師，願意收下大學延畢的我，在這兩年的研究生涯中，不吝嗇的教導我，不論是研究相關的背景知識、實驗技巧、簡報的標準以及做學術研究的態度，都讓我學到很多。感謝老師，當我在研究過程走錯路的時候，願意有耐心的把我拉回正軌。也特別感激老師，願意支持我參加兩次國際研討會，並且讓我在面對上台英文報告的心理壓力時，給予我相當大的信心支持，最終享受甜蜜的成果，很幸運而且一生難忘。感謝口試委員傅龍明老師、莊承鑫老師、朱訓鵬老師、薛佑玲老師，願意撥冗參加學生的口試，給我的論文非常多寶貴的修改建議，讓我的論文更加完整。也同時非常感謝莊婉君老師、陳威龍學長的幫助，提供模擬軟體讓我的研究更加豐富。

感謝鄭名栩學長，提供良好的研究基礎，並且提供我非常多研究方向上的建議。感謝實驗室助理黃鈺珊、學姊高尉馨，指導我實驗應該要有的規矩，以及幫忙我研究生涯中的大小事，承蒙照顧。感謝學長李岱恩、嚴瑋星、呂維銘、白祥廷，在學長快要畢業的這些日子裡，教導我很多研究應該要有的態度，以及打好人際關係的重要性。感謝差點同屆的學長劉柏輝、許秩華、高嘉駿、劉鎧豪、賴映榮，在研究過程中給我很多幫助，給我很多啟發，也很珍惜一起講屁話、打球的日子，讓我的研究生涯增添好多樂趣。感謝同屆戰友溫竣賢、高群智、洪榆雯，一起分擔壓力，互相幫忙，一起健身、玩遊戲，讓我的研究生涯少了煩悶，多采多姿。感謝中華民國科技部及國立中山大學，提供本研究經費支持以及出國參加研討會的經費補助。感謝我的家人，願意無條件支持我完成這個碩士學位，讓我在做研究的同時無後顧之憂，感激不盡。最後特別感謝洪榆雯，在這一年多的時間裡互相扶持，陪伴我走過人生低潮，給我很多鼓勵與支持。

# 中文摘要

本研究開發了一種紙基側流式流體卡匣，用於質譜分析尿液及頭髮樣品中的咖啡因及尼古丁代謝，並整合二維紙層析法及質譜法來分析待測物。待測物首先由一維紙層析展開達到樣本分離，再由第二維紙層析將被分離的樣本推送至紙晶片一側達到樣本濃縮，最後使用特殊設計的紙電噴灑游離通過質譜儀分析。紙基側流式流體卡匣由雙噴頭 3D 列印機，以 ABS 及碳黑摻雜之導電高分子作為材料，在單一製程下完成。紙晶片以二氧化碳雷射雕刻加工市售濾紙，用於對樣品層析的多功能紙晶片及紙電噴灑質譜法的多紙尖結構進行圖案化。本研究為了增強質譜檢測效能，設計了帶有一對抑制電極的滑動卡匣底座，用於抑制在相鄰紙尖端上不期望發生的紙電噴灑霧，並同時聚焦主電噴灑噴霧以實現質譜訊號增強。研究分析結果顯示，在 0.8 kV/cm 的抑制電場下，可以減少 82% 的相鄰電噴灑噴霧，且訊雜比(SNR)可以提高 3.1 倍，鄰近的電噴灑噴霧會被抑制電極上施加的抑制電場明顯地抑制，同時中心的電噴灑噴霧可以達到聚焦效果。本研究開發出的裝置成功檢測出尿液樣本中的咖啡因，以及吸菸者頭髮樣本萃取液中的尼古丁/可丁寧(Nicotine/Cotinine)。然而，在現有的標準檢測流程當中，通常先經由酵素免疫分析法剔除陰性檢體進行高特异性定性分析，再由氣相層析質譜法進行定量分析，總共需要大約 3 小時的樣品前處理及檢測時間。而本研究可以在一小時內完成頭髮之樣本前處理及質譜檢測，尿液檢測也僅需要 10 分鐘即可完成，並可以偵測到明顯的訊號峰值。本研究開發的側流式流體卡匣不受待測藥物種類限制，分子量在 50.0-2000.0 Da 之區間可以進行快速的藥物定性分析，顯示了其在藥物濫用快篩的強大潛力。

關鍵字：3D 列印、二維紙層析、紙電噴灑質譜法、電噴灑抑制、藥物檢測

## Abstract

This research developed a paper-based lateral flow fluid cartridge for mass spectrometry (MS) analysis of caffeine and nicotine metabolism in urine and hair samples. The two-dimensional paper chromatography and mass spectrometry are integrated to analyze the analyte. The analyte is separated by first-dimensional paper chromatography for sample separation, and then the separated sample is pushed to the paper wafer side by the second-dimensional paper chromatography for sample concentration. Finally, a specially designed paper electrospray tip was used for analysis by the mass spectrometer. The paper-based fluidic cassette using ABS and carbon black modified conductive polymer as the material, then manufactured by a dual-extruder 3D printer in a single process. The paper chips are processed by IR laser engraving and processing of commercially available filter paper, which is used for patterning the multi-functional paper chip for sample chromatography and the multi-tip structure of paper electrospray mass spectrometry. In this study, to enhance the detection performance of mass spectrometry, a sliding cassette base with a pair of pinching electrodes was designed to pinch the undesired paper spray on the neighboring paper tips. At the same time, the main electrospray plumb is focused to realize the enhancement of the mass spectrum signal. The research and analysis results show that under the pinching electric field of 0.8 kV/cm, the neighboring spray plumb can be reduced by 82%, and the signal-to-noise ratio can be increased by 3.1 times. The adjacent electrospray spray will be obviously pinched by the pinching electric field applied to the pinching electrode, and the center electrospray can achieve the focusing effect. The device developed in this research successfully detected caffeine in urine samples and nicotine/cotinine in extracts from smoker's hair samples. However, in the standard detection procedures, the ELISA for high-specificity qualitative analysis, and

then for quantitative analysis by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). In this study, the hair sample pretreatment and mass spectrometry detection can be completed within an hour, and the urine detection can be completed in only 10 minutes, and the obvious signal peak can be detected. The lateral flow fluid cassette developed in this research is not limited by the types of drugs to be tested. The molecular weight is in the range of 50.0-2000.0 Da, which can be used for rapid qualitative analysis of drugs, showing its strong potential in rapid drug abuse screening.

Keywords: 3D-Printing, Two-Dimensional Paper Chromatography, Mass Spectrometry, Pinching Electrodes, Drug Screening



# 目錄

論文審定書.....	i
論文授權書.....	ii
致謝.....	iii
中文摘要.....	iv
Abstract.....	v
目錄.....	vii
圖目錄.....	ix
符號表.....	xii
簡寫表.....	i
第一章 緒論.....	1
1.1 研究背景.....	1
1.2 微流體晶片系統.....	2
1.2.1 紙基微流體比色法分析裝置.....	2
1.2.2 競爭性 ELISA 分析裝置.....	4
1.2.3 數位微流體晶片整合質譜儀之檢測技術.....	5
1.3 藥物濫用檢測之可穿戴生物感測器.....	7
1.3.1 電化學手套式感測器.....	8
1.3.2 可穿戴式微針陣列感測器.....	10
1.4 環境質譜法於藥物濫用快篩.....	12
1.4.1 微型雙線性離子阱質譜儀.....	13
1.4.2 木尖電噴灑游離質譜法.....	14
1.4.3 飛行時間質譜法快篩.....	15
1.4.4 新型二維紙層析紙電噴灑質譜法系統.....	17
1.5 研究動機與目的.....	19
1.6 論文架構.....	20
第二章 實驗原理與材料特性.....	21
2.1 毛細現象.....	21
2.2 層析法.....	22
2.3 紙電噴灑游離法.....	25



2.4	庫倫定律 .....	27
2.5	泊松方程 .....	29
第三章 實驗設計與架構 .....		31
3.1	新型紙基流體卡匣系統設計與製程及原理綜述 .....	31
3.1.1	卡匣與紙晶片設計與製作 .....	32
3.1.2	實驗原理綜述 .....	35
3.2	庫倫斥力抑制電噴灑 .....	36
3.3	創新抑制電極結構 .....	37
3.4	實驗系統架設 .....	39
3.5	實驗檢測目標 .....	43
3.6	實驗溶液配製 .....	46
第四章 實驗結果與討論 .....		48
4.1	抑制電極效能分析 .....	48
4.1.1	新型二維紙層析紙電噴灑質譜法系統 .....	48
4.1.2	新型二維紙層析紙電噴灑質譜法系統 .....	51
4.1.3	質譜標準品訊號效能分析 .....	52
4.2	天然植物樣本分析 .....	53
4.2.1	天然樟樹樹葉成分分析 .....	54
4.2.2	水蜜桃農藥殘留分析 .....	55
4.3	人體代謝物樣本分析 .....	56
4.3.1	臉部皮脂藥物殘留分析 .....	57
4.3.2	尿液藥物殘留分析 .....	59
4.3.3	頭髮藥物殘留分析 .....	60
第五章 結論與未來展望 .....		62
5.1	結論 .....	62
5.2	未來展望 .....	64
參考文獻 .....		65
論文原創性比對 .....		73
自述 .....		74

# 圖目錄

圖 1-1 基於 UCNPs 的便攜式紙質設備 .....	3
圖 1-2 用於藥物濫用測試的競爭型 ELISA 感測系統 .....	4
圖 1-3 從乾燥尿液中提取藥物的數位微流體及奈米電噴灑發射器陣列 .....	6
圖 1-4 用於從乾燥尿液中提取藥物的數位微流體裝置 .....	7
圖 1-5 電膜萃取的機制示意圖 .....	9
圖 1-6 用於芬太尼現場檢測的手套感測器 .....	10
圖 1-7 用於檢測鴉片類藥物及神經毒劑的微針感測器陣列 .....	11
圖 1-8 微型質譜系統示意圖 .....	13
圖 1-9 木尖電噴霧游離質譜法 .....	15
圖 1-10 飛行時間質譜法原理 .....	16
圖 1-11 電暈直接樣品分析原理圖 .....	16
圖 1-12 創新紙基微流體卡匣系統示意圖 .....	17
圖 1-13 紙微流體卡匣系統的特殊改良設計 .....	18
圖 1-14 論文架構圖。 .....	20
圖 2-1 毛細現象於玻璃管柱在水中及汞中之示意圖 .....	22
圖 2-2 毛細管電噴灑游離之示意圖 .....	25
圖 2-3 電荷受彼此電場作用下造成的庫倫力 .....	27
圖 2-4 由於靜電感應在導體上感應出表面電荷 .....	28
圖 2-5 模擬軟體 COMSOL 之靜電電力線及電場分布 .....	29
圖 3-1 紙基流體卡匣及紙晶片之爆炸視圖 .....	32

圖 3-2 本研究中所使用的 3D 列印機 Ultimaker 3 Extended.....	33
圖 3-3 創新紙基流體卡匣系統於質譜分析之架構示意圖 .....	35
圖 3-4 多重電噴灑與單一電噴灑之示意圖 .....	37
圖 3-5 抑制電極產生的抑制效應及聚焦效應 .....	37
圖 3-6 嵌入式電極及鳩尾槽結構設計的爆炸圖 .....	38
圖 3-7 插圖顯示用於樣品分離及濃縮的二維層析法以及用於高效紙電噴灑游離及質譜檢測的滑動抑制電極對.....	39
圖 3-8 本研究系統接電方式 .....	40
圖 3-9 本研究所用的 LCQ Deca XP Plus 離子阱質譜儀.....	41
圖 3-10 照片顯示多紙尖結構架設於質譜入口前之示意圖及在抑制電場作用下在卡匣上實際產生紙電噴灑游離.....	42
圖 3-11 尿液樣本採樣及頭髮樣本之萃取過程.....	45
圖 4-1 在 COMSOL 中，計算了不同抑制電極距離下的電場分佈 .....	48
圖 4-2 在 COMSOL 中，不同網格密度計算出紙電噴灑尖端區域之電場分布.....	49
圖 4-3 在固定的電極距離下不同的抑制電壓及計算出的電場分佈.....	50
圖 4-4 有抑制電場介入前後之電場分布模擬圖 .....	51
圖 4-5 施加的抑制電場與電噴灑羽流抑制率之間的關係.....	52
圖 4-6 在不同施加的抑制電場下檢測 10.0 ppm 之咖啡因標準品，統計的質譜總離子強度及峰值訊雜比變化.....	53
圖 4-7 樟樹葉樣本經由二維紙層析之層析影像及質譜分析結果.....	54
圖 4-8 水蜜桃表皮樣本經由二維紙層析質譜分析結果.....	56
圖 4-9 使用二維紙層析質譜法進行臉部皮脂檢測.....	58

圖 4-10 檢測 25 歲年輕男性尿液中藥物殘留質譜圖 .....	59
圖 4-11 檢測 45 歲重度吸菸男性(每天抽 20 支香煙)頭髮中藥物殘留質譜圖 ...	61
圖 5-1 整合大氣壓電暈放電游離、電暈電噴灑游離示意圖 .....	64

## 符號表

A	安培
cm	公分
Da	道爾頓(分子量單位)
g	公克
kV	千伏特
m	公尺
m/z	質荷比
mg	毫克
min	分鐘
mL	毫升
mm	毫米
nA	奈安培
ng	奈克
nM	奈體積摩爾濃度
P	圖像位元單位
ppm	百萬分之一
s	秒
V	伏特
W	瓦特
$\mu$ L	微升
$\mu$ M	微體積莫爾濃度
$\epsilon_0$	真空介電常數
$^{\circ}$ C	攝氏溫度

## 簡寫表

ABS	丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物(Acrylonitrile Butadiene Styrene)
AMS	環境質譜法(Ambient Mass Spectrometry)
APCI	大氣壓電暈游離源(Atmospheric-pressure Chemical Ionization)
CV	循環伏安法(Cyclic Voltammetry)
DART	即時直接分析(Direct Analysis in Real Time)
DESI	解吸電噴灑游離(Desorption Electrospray Ionization)
DSA	直接樣品分析(Direct Sample Analysis)
EESI	萃取電噴霧游離(Extractive Electrospray Ionization)
ELISA	酵素結合免疫吸附法(Enzyme-linked Immunosorbent Assay)
ESI	電噴灑游離(Electrospray Ionization)
GC	氣相層析(Gas Chromatography)
HPLC	高效液相層析(High Performance Liquid Chromatography)
MS	質譜法(Mass Spectrometry)
MWCNTs	多壁奈米碳管(Multi-walled Carbon Nanotubes)
PSI	紙電噴灑游離(Paper Spray Ionization)
RE	參考電極(Reference Electrode)
SLM	支撐液膜(Supported Liquid Membrane)
SNR	訊雜比(Signal to Noise Ratio)
SPME	固相微萃取(Solid-phase Microextraction)
SWV	方波伏安法(Square Wave Voltammetry)
TOFMS	飛行時間質譜法(Time-of-flight Mass Spectrometry)
UCNPs	轉換奈米顆粒(Upconverting Nanoparticles)
WE	工作電極(Working Electrode)
$\mu$ PAD	微型紙基分析裝置(Micro Paper-based Analytical Device)

# 第一章 緒論

## 1.1 研究背景

近幾十年來，吸毒及藥物濫用是最嚴重的社會問題之一，根據統計，大約有 2.7 億人一生中至少使用過一次毒品。青少年藥物濫用的人數逐年增長，許多刑事、民事案件也應運而生，而這是各國政府面對的問題，且需要積極的解決方案。然而，現行之藥物檢測程序繁瑣耗時，因此迫切需要開發一種簡單而高效能的方法來快速採樣以分析痕量藥物。

結合氣相層析(Gas Chromatography, GC)或液相層析(Liquid Chromatography, LC)的質譜檢測是擁有高靈敏度及高特異性的最有效方法，可同時檢測氣體或液體樣品中的多種分析物[1, 2]。但是，典型的氣相層析質譜法或液相層析質譜法仰賴精密且耗時的樣品前處理過程，以及龐大且昂貴的分析設備。因此，質譜檢測通常在實驗室中使用，不適用於現場檢測。環境質譜技術(Ambient Mass Spectrometry, AMS)由於其直接的游離過程可用於質譜檢測而在過去的十年中引起了很多關注[3, 4]。AMS 允許在開放環境中直接，快速地游離氣體，液體甚至固體樣品，而無需樣品前處理過程。

紙基微流體分析設備(Micro Paper-based Analytical Device,  $\mu$ PAD)是一種新開發的檢測技術，符合世界衛生組織的 ASSURED 標準，包括價格便宜、靈敏、特異、容易使用、快速/穩定、無設備、易儲存運送且可交付給最終用戶[5, 6]。 $\mu$ PAD 技術為生物分析檢測提供了許多優勢，生物醫學研究中有越來越多的發展案例，例如農藥檢測、食品安全及藥物濫用。側流式 ELISA(Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)試劑盒的優勢包括低成本，易用性，快速分析以及在檢察單位臨檢快篩應用的適用性，但 ELISA 方法通常捕獲大分子量之蛋白質(10000-1000000 Da)而不是像藥物那樣的小分子量化合物(50-2000 Da)[7, 8]。典型的質譜儀仍然具有以精確而可靠的方式檢測小分子量化合物的優勢。

本研究欲開發一個便宜、快速、靈敏、易使用之紙基流體卡匣，取代液相層析儀，結合  $\mu$ PAD 及 AMS 的優點，達到質譜分析所需的樣本分離純化之前處理過程，針對人體代謝物(尿液、頭髮)進行藥物殘留分析檢測。本研究之紙基流體卡匣內含二維紙層析法所需之承載結構，以及紙電噴灑質譜法所需之導電高分子電極，於 3D 列印機以單一系列製程完成，大幅降低製程複雜度。紙晶片由市售濾紙雷射雕刻而成，適合量產製程。

## 1.2 微流體晶片系統

利用微流體生醫晶片進行生物醫學檢測或分析可以降低人工操作的實驗誤差，在微小的反應空間當中，僅需微小體積的樣本即可產生很好的劑量反應關係，系統耗能極少且穩定性高，可攜式的微小裝置可以取代大型實驗室等級分析設備，進行高度特異性之定性分析，在某些應用當中成功實現了快速檢測、低成本及造價便宜等優點，在生醫領域中實為一個重要的發展方向[5, 9, 10]。目前微流體晶片在生物醫學方面的主要應用領域，包括基因表現分析、疾病診斷、藥物快篩、基因定序及蛋白質分析等。此外，發展可拋棄的微流體系統可以在醫療檢測上為避免可能產生的交叉污染。本章節將介紹幾種藥物殘留檢測之微流體晶片系統，針對不同檢測方式之原理及特點進行探討，並分析其優勢及須克服的困難。

### 1.2.1 紙基微流體比色法分析裝置

比色檢測(Colorimetry)在紙基微流體分析設備( $\mu$ PAD)中通常是首選，由於其便攜性，簡單性及低成本，在過去幾年中作為臨床化學感測器而受到越來越多的關注。光學檢測技術(可視化的發光技術)在與紙質基材結合使用時具有成為用於臨檢現場測試的便攜式設備的潛力。此外，考慮到測試樣品(尿液、汗液、唾液、血液...等等)的複雜性總是會在分析中引起干擾，因此轉換奈米顆粒(Upconverting Nanoparticles, UCNPs)可以用於此類便攜設備及感測器的製造，因為它們具有強大



的抗干擾能力，因此非常適合當作發光材料[11]。在 2016 年，Liu 等人以古柯鹼 (Cocaine) 為概念驗證目標，報告了一種基於 UCNP 的便攜式紙質設備，用於高精度定量的現場檢測，該設備使用智能手機作為具有數據處理的設備，因此相當易於使用，如圖 1-1[12]。目標識別是通過使用古柯鹼適體(Anticocaine Aptamer)來實現的，近年來，該適體已用於開發涉及光學及電化學測定的多種古柯鹼感測器。通過 UCNP 的發光衰減來指示目標濃度。由於纖維素紙作為支撐材料的內在優勢及 UCNP 的光物理優點，該設備可在短時間內實現水溶液及體液樣品中古柯鹼的靈敏定量檢測。僅使用智能手機作為儀器，定量限在水溶液中達到 10.0 nM，在人類唾液中達到 50.0 nM。此外，通過使用適當的識別劑(如適體)，可以將該設備擴展到其他目標，雖然提供了將來開發通用平台進行各種物種現場測試的機會[13]，但因為精神活性藥物日新月異，新型藥物適體在應用上需要的種類將越來越多，高度特異性的裝置將限制毒品濫用廣泛普篩的發展[14]。

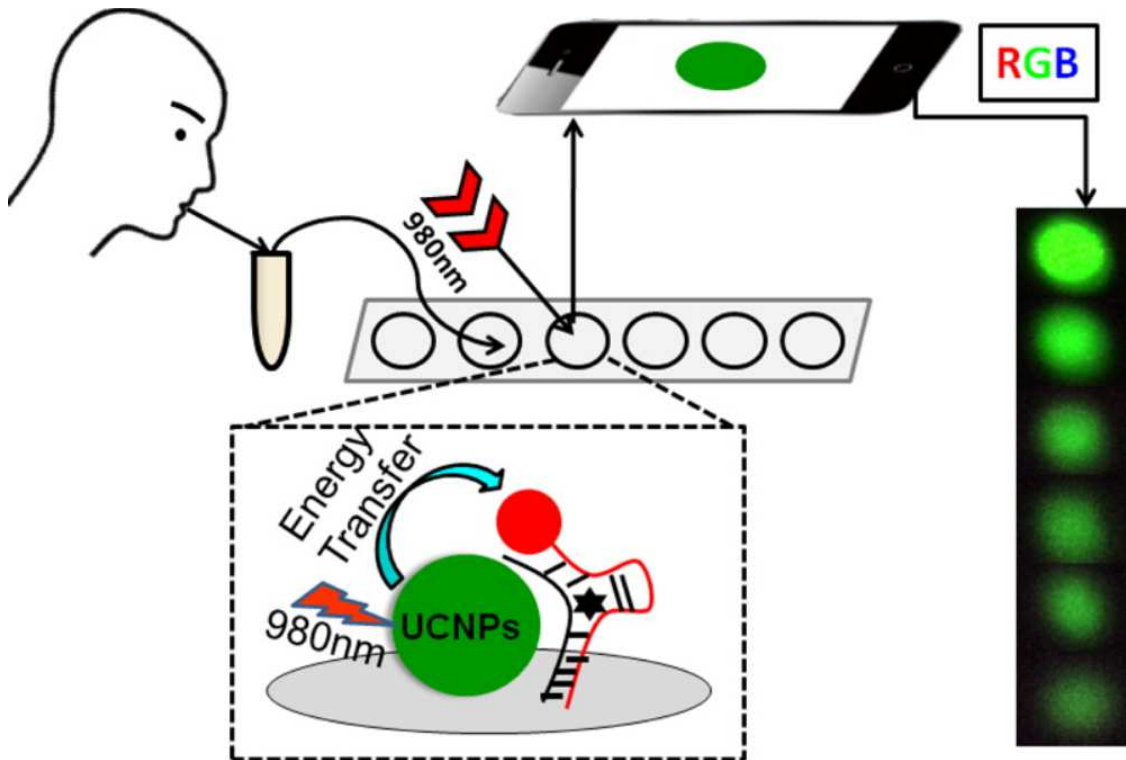


圖 1-1 基於 UCNP 的便攜式紙質設備，用於古柯鹼的現場檢測，僅使用智慧型手機作為檢測儀器。[12]

## 1.2.2 競爭性 ELISA 分析裝置

競爭型酶聯免疫吸附測定(Competitive ELISA)，其基於化學或藥物靶標的有限結合位點[15]。在競爭型 ELISA 測試中，競爭性抗體用一種蛋白酶標記，該蛋白酶與抗原成功結合後會產生可被檢測及測量的化學訊號，其結果與測試介質中的目標抗體成反比。競爭型 ELISA 提供了良好的特異性，敏感性及穩定性，這使其成為用於實際樣品分析的商業半定量工具。此外，通過簡單地修改劑量反應曲線，可以使競爭型 ELISA 測試的訊號反應在目標濃度範圍內更加敏感[16, 17]。氯胺酮(Ketamine)在 20 世紀 60 年代合成與解離，屬於鎮痛及麻醉藥物同時具有迷幻性質，是亞洲最常見的毒品之一[18, 19]。

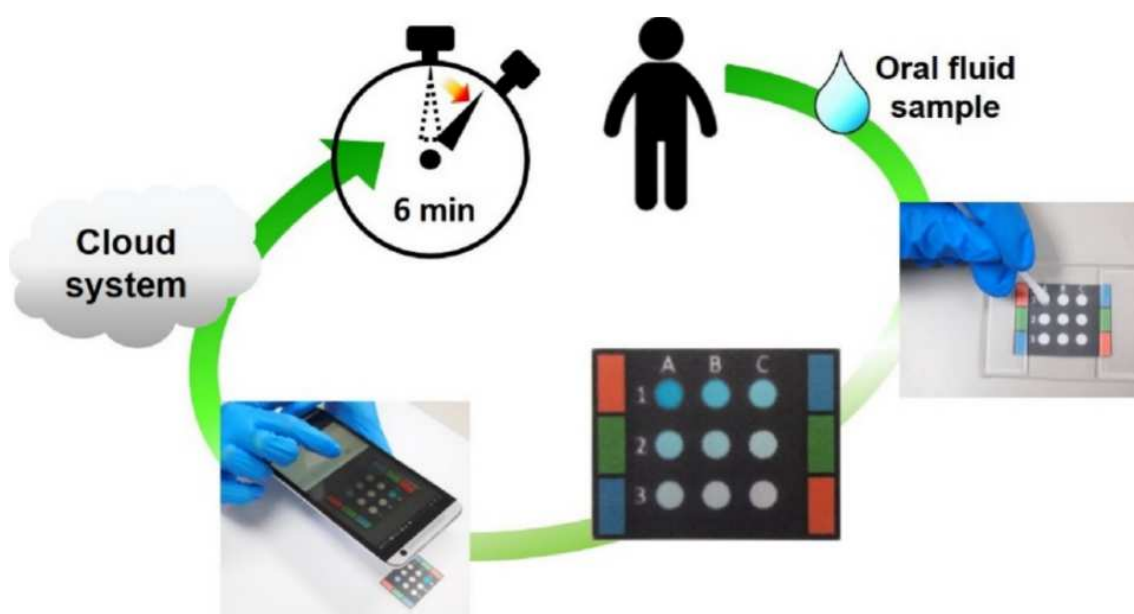


圖 1-2 被開發用於藥物濫用測試的競爭型 ELISA 感測系統的示意圖，通過智慧型手機記錄結果，立即量化嫌疑犯的氯胺酮水平。[20]

2019 年，Chen 等人設計了一種基於比色法的 c-ELISA 測試的比色感測快篩系統，如圖 1-2，該系統在基於微流紙的分析設備上用於檢測經常濫用的氯胺酮。採樣選擇方面，為了達到低感染風險，無創性及降低樣品摻假機率的優勢，因此選擇唾液進行測試以方便樣品採集。優化操作參數(包括反應溫度，振動洗滌時間，反

應時間及抗體濃度)後，可以在 6 分鐘內完成檢測結果，檢測限為 0.03 ng/mL。此外，智慧型手機應用程序來分析及測量測試結果，從而進一步增強了檢測的軟體可移植性以及圖像記錄及數據傳輸功能。為了測試優化比色法的可行性及檢測效能，對 90 名來自藥物濫用患者的口服液樣品進行了測試。紙基平台的氯胺酮分析靈敏度為 90%，特異性為 92%。這種紙基的 c-ELISA 感測系統提供了一種快速，方便，靈敏且高通量的藥物監測方法。對於 c-ELISA，固定抗體及競爭性抗體濃度為比色測定法中兩個最重要的因素[20]。優化抗體濃度的目的是獲得低背景干擾及高免疫分析靈敏度。當抗體濃度太高時，如果對目標分析物的特異性受到限制，則低親和力非特異性抗體將無法通過洗滌步驟完全去除，會導致較高的背景噪音。

### 1.2.3 數位微流體晶片整合質譜儀之檢測技術

數位微流體(Digital Microfluidics)是一種通用的微流體技術，在自動化及小型化領域具有巨大的應用潛力[21, 22]。在某些情況下，可以通過使用電場來控制基材的疏水性，這是指電介質上的電潤濕現象(Electrowetting on Dielectric)。例如，當沒有電場施加到電極上時，表面將保持疏水性，液滴將形成具有更大接觸角的圓球形液滴。當施加電場時，會產生極化的親水性表面，水滴變平並且接觸角減小。通過控制這種極化的定位，可以創建界面張力梯度，從而控制液滴在數位微流體設備表面上的位移。在數位微流體中，通過介電質上電潤濕控制包含樣品及試劑的液滴，以執行一系列操作。與微通道不同，數位微流體有助於精確控制多個反應過程，而無需使用複雜的泵，微閥及管網[23]。數位微流體還具有其他獨特功能，例如便攜性，更少的樣品消耗，更短的化學反應時間，靈活性以及與其他技術類型的輕鬆組合[24, 25]。由於其獨特的優勢，數位微流體已應用於廣泛的領域。

在 2014 年，Cooks 團隊報告了整合數位微流體技術及微型質譜儀的方法發展，該方法適用於尿液中藥物的定量分析[26]，並設計了一個數位微流體系統，如圖 1-3 所示，該系統可在不到 15 分鐘的時間內，從乾燥樣品中進行分析，並在四個樣

品中定量分析古柯鹼，苯甲醯芽子鹼(Benzoylecgonine)及可待因(Codeine)。如圖 1-4，將溶劑輸送到乾燥的尿液樣本中，然後將萃取的分析物輸送到奈米電噴灑發射器陣列中，使用微型質譜儀進行串聯質譜(MS/MS)檢測。古柯鹼的檢測極限為 40.0 ng/mL，該標準與聯合國毒品及犯罪問題辦公室制定的實驗室分析標準相符，優於依靠酵素免疫測定法之便攜式分析系統使用的 300.0 ng/mL 臨界值。這項研究是數位微流體技術與微型質譜儀聯用的概念驗證，與傳統酵素免疫分析為基礎的微流體生物晶片系統相比，聯用質譜儀的方法不受限於酵素免疫分析法所需的蛋白質種類，提高檢測系統的泛用性。與比色法相比，質譜法能提供定性以及定量的檢測數據，避免酵素免疫分析法容易發生的弱陽性及弱陰性結果，並且使檢測系統準確度提高。此系統顯示對尿液中藥物濫用快篩的吸引力。

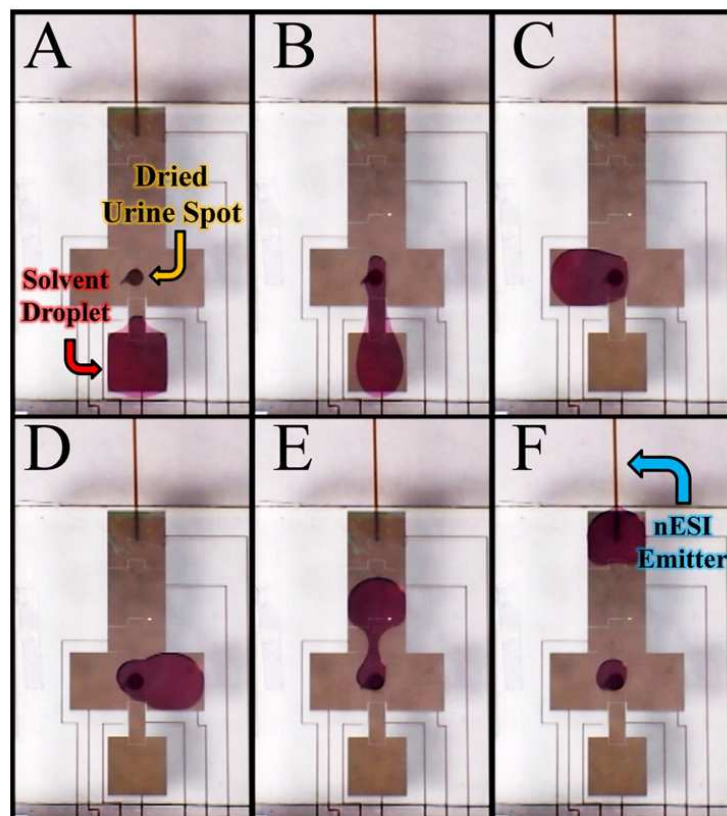


圖 1-3 從乾燥尿液中提取藥物的數位微流體。(A)儲槽中裝有萃取溶劑(含有內標的甲醇)。(B-D)將溶劑驅至乾燥的尿液中，來回驅動尿液並進行萃取。(E, F)液滴被移至最終電極，在此處通過毛細作用被拉出的奈米電噴灑發射器陣列。[26]

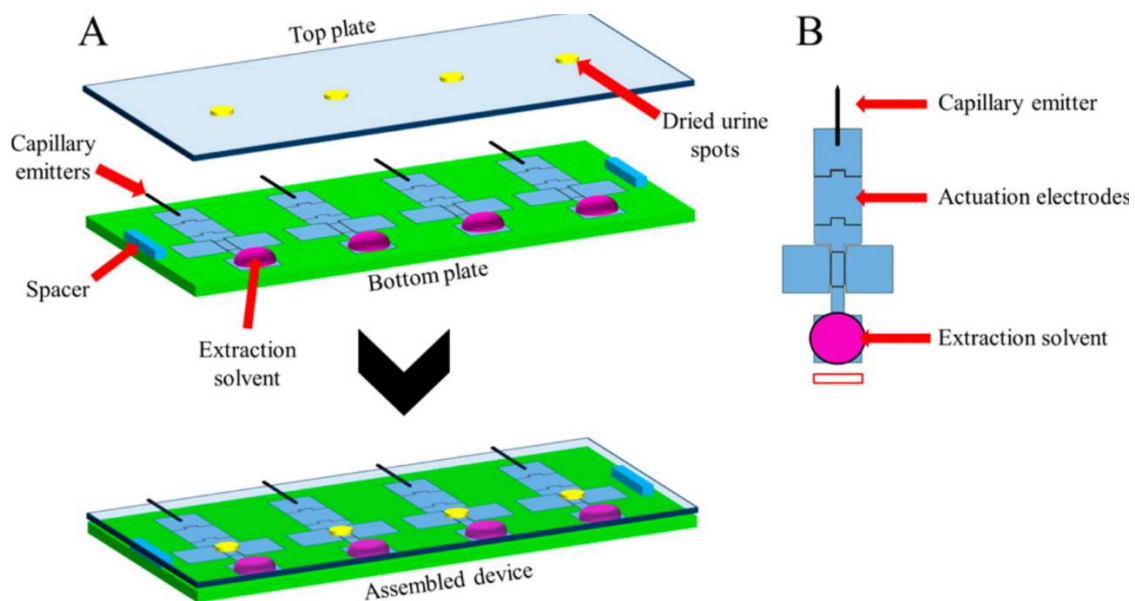


圖 1-4 用於從乾燥尿液中提取藥物的數位微流體裝置。該裝置有四個獨立的模塊，模塊與玻璃毛細管奈米電噴霧游離發射器相配，可通過串聯質譜分析。[26]

### 1.3 藥物濫用檢測之可穿戴生物感測器

生物感測器(Biosensor)的一般定義是一組與感測器相連的生物組件，用於轉換與特定分析物濃度成比例的生理訊號，例如蛋白質，電阻，含氧量、溫度...等等。相比之下，可穿戴式感測器可以定義為一種系統，將其佩戴在人體上的任何位置，以連續且遠程地觀察個人的活動，而不會妨礙佩戴者的自然運動(例如智慧型手環、紡織品、項鍊或戒指)[27]。因此，顧名思義，可穿戴生物感測器結合了這些功能。該系統的生物感測器元件用於測量生物訊號，並將生物訊號轉換為電訊號。系統的可穿戴模組負責蒐集這些訊號並將數據無線傳輸到主伺服器，通常搭配數位軟體將電訊號轉譯為一般人可解讀之報告。

可穿戴生物感測器具有合適的尺寸、準確性、遠程端監控能力及成本效益，在可穿戴醫療保健領域獲得了無限的需求，並且在醫學及體育應用中顯示出傑出的成果[28]。近幾年，該研究已經從主要的可行性研究發展到大規模的臨床試驗，穿戴式生物感測器成為分析疾病以及治療/復健過程中不可或缺的一部分。此外，隨著大數據及機器學習的最新發展，可穿戴生物感測器也可以作為早期疾病檢測及

預測的指標，並且能夠依靠無線傳輸技術，將設備中記錄的數據存儲到數據庫中，再對數據進行分析及處理，以監控預測患者及用戶日常生活中可能出現的緊急情況，醫療診斷將會更即時[29]。

### 1.3.1 電化學手套式感測器

雖然大多數早期的穿戴式感測器至今都集中在健身、健康及醫療領域，這些感測設備也同樣適合維安及法醫應用，能夠朝向發展監測濫用藥物的機會巨大。近年來，毒品濫用及藥物濫用的現象已明顯增加，並且由於生產力下降，醫療保健需求、法律成本隨之增加，對社會來說是一個快速增長的問題，每年造成巨額的社會成本。藥物濫用的問題當中，濫用處方止痛藥已成為一種公共衛生流行病。芬太尼(Fentanyl)是一種受控藥物法案中的鎮靜劑藥物。目前，它被用作止痛藥及麻醉劑，其效果比嗎啡(Morphine)強 50 至 100 倍，比海洛因(Heroin)強 30 至 50 倍。芬太尼已被逐步用作非法物質的摻假劑，例如海洛因。2013 年，Ahmar 等人首先發展了一個將電膜萃取與電化學檢測相結合之系統，如圖 1-5，通過固定在中空纖維孔中的有機溶劑作為薄支撐液膜(Supported Liquid Membrane, SLM)之供體相(Donor Phase)，以電場當驅動力，將帶電的分析物從水樣品中提取到置於空心纖維腔內的水受體(Acceptor Phase)，從而萃取目標分析物[30]。在這方面，電化學分析提供了高靈敏度、快速響應、低成本及易於操作的獨特組合，用於尿液及血漿樣品中舒芬太尼(Sufentanil)的測定。此外，在 2016 年下半年，芬太尼及相關衍生物在美國與十個州超過一半的鴉片類藥物(Opioid)過量有關[31]。鴉片類藥物對公共健康及安全構成嚴重威脅，特別是對於治療毒品成癮患者的急救人員。即使存在少量的鴉片類藥物也會霧化並產生毒性[32]。因此，痕量芬太尼的鑑定對於應對當前廣泛的藥物濫用情況至關重要。目前，液相色譜、質譜(MS)及酵素免疫測定技術是芬太尼檢測及定量的黃金標準[33, 34]。但是，這些技術都需要實驗室的分析儀器，以及複雜的樣品前處理及儀器操作，不適合用於執法人員或急救人員的現場檢測。

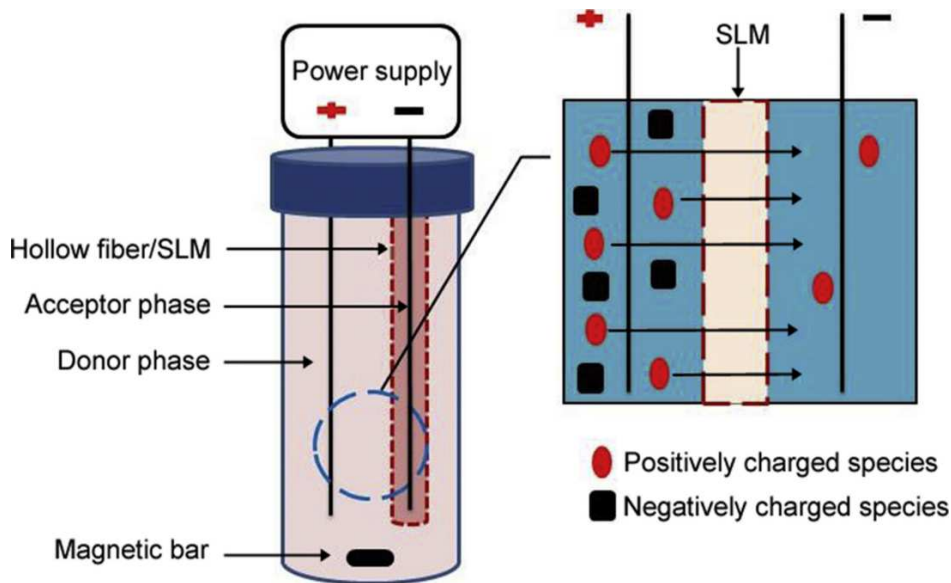


圖 1-5 電膜萃取的機制示意圖，一個電極在受體相中放入中空纖維腔中，而第二個電極則插入供體相樣品溶液中。[35]

在 2019 年，Barfidokht 延伸發表了一種可穿戴手套式感測器，該手套在指尖整合柔性電化學感測器，可用於非法藥物(特別是芬太尼)的現場檢測[36]。這是針對現場快篩的芬太尼可穿戴電化學鴉片類檢測平台的首次展示。新型芬太尼手套檢測設備可在不同的手指上執行採樣及電化學感應步驟，其中拇指用於收集藥物殘留或粉狀樣品，食指(塗覆有離子液體/MWCNTs 的印刷碳電極)用於芬太尼感測(圖 1-6)。在完成電化學電池操作後，通過拇指(採樣)及食指(感測)的連接進行電化學伏安法(Cyclic Voltammetry)測量。這些測量依賴於方波伏安分析(Square Wave Voltammetry, SWV)。在該分析中，直接氧化的陽極峰值電流響應通過藍牙發送到附近的行動裝置，進行特徵訊號峰辨識。手套式感測器平台具有可重現及選擇性的響應方式，並且能夠以  $10.0 \mu\text{M}$  的檢測限檢測粉末及液體樣品中的芬太尼，檢測範圍為  $10.0\text{-}100.0 \mu\text{M}$ 。因此，基於手套的感測器系統能夠在短時間內檢測粉末及液體形式的芬太尼(約 1 分鐘)，從而使實驗室檢測技術符合快篩要求。這類穿戴型裝置使臨檢人員可以在緊急情況下快速評估未知可疑的樣本，並在採取必要的防護措施的同時，為患者提供適當的護理程序[37-39]。

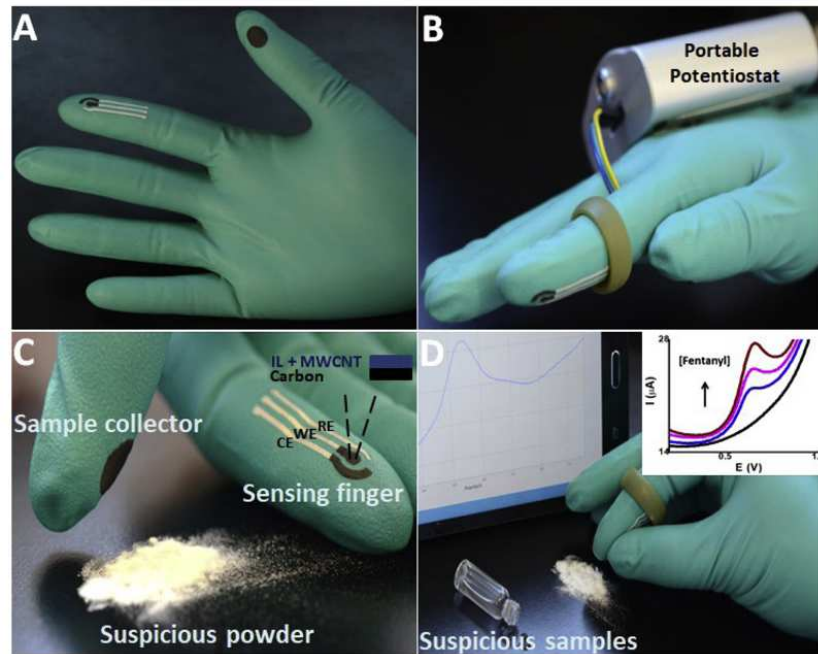


圖 1-6 用於芬太尼現場檢測的手套感測器概念。(A)感測手指及手套照片。(B)該圖顯示了搭載便攜式電化學分析儀的手套感測器。(C)顯示粉末相中可疑樣品收集的圖像。(D)擦拭粉末樣品後，拇指(採集器)及感測(食指)的連接，插圖顯示了粉末/液體樣品中直接芬太尼檢測的伏安圖。[36]

### 1.3.2 可穿戴式微針陣列感測器

鴉片類藥物可以通過皮膚及真皮層吸收，到達體內產生威脅。同樣，皮膚接觸神經毒劑也會導致緊急情況。通常，由於類似中毒反應，可能不容易診斷出鴉片類藥物過量的症狀，並將其與神經毒物中毒的症狀區分開[40]。因此，迫切需要開發快速識別於這種未知化學藥物的方法，以便及時進行醫療護理[41, 42]。

在 2020 年，Mishra 團隊提出了一種可穿戴式微針感測器陣列，用於在單個貼片平台上以微創方式進行電化學檢測，分辨鴉片類藥物及有機磷酸酯神經毒劑 (Organophosphates)[43]。新型多峰微針陣列感測器依靠有機磷水解酶 (Organophosphorus Hydrolase) 及碳膠 (Carbon Paste) 微針電極，分別對芬太尼及神經毒劑靶標進行方波伏安法檢測。此類同時感測兩種相似藥物之檢測技術，提供獨特的信息以及良好的分析效能，包括高靈敏度、選擇性及穩定性。



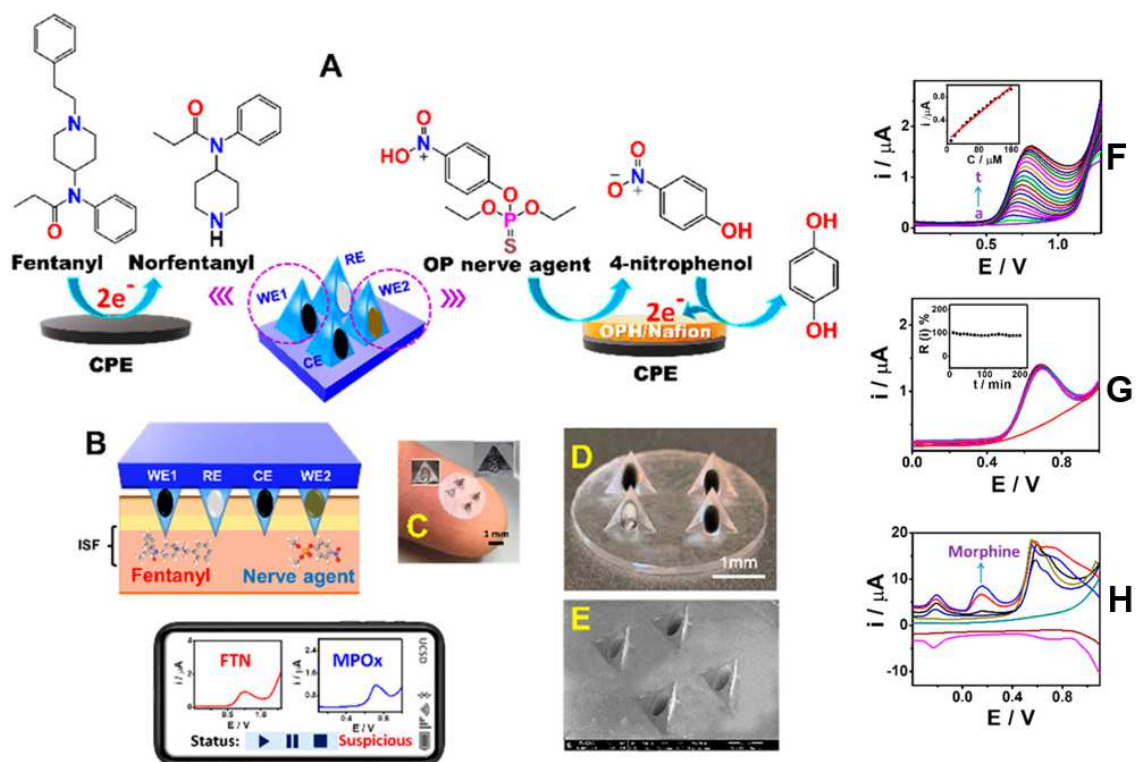


圖 1-7 用於檢測鴉片類藥物及神經毒劑的微針感測器陣列。(A)WE1 及 WE2 的芬太尼及神經毒劑反應示意圖。(B)用於進行微創檢測的微針感測器陣列示意圖。(C,D)微針感測器陣列的照片。(E)四個空心微針感測器陣列的 SEM 圖像。(F)芬太尼的 SWV, 10.0-200.0  $\mu\text{M}$ , 以 10.0  $\mu\text{M}$  為增量(a-t), 插圖: 相應的校準圖。(G)塗有聚氯乙烯的微針對 50.0  $\mu\text{M}$  芬太尼的穩定性;每隔 5 分鐘記錄 40 次測量。插圖: 相對電流變化。(H)芬太尼及嗎啡的循環方波伏安法檢測(芬太尼濃度: 50.0  $\mu\text{M}$ ;嗎啡濃度: 20.0、40.0、60.0  $\mu\text{M}$ )。[43]

如圖 1-7(A)中所示, 對工作電極 WE1 進行芬太尼的直接伏安檢測。圖 1-7(C-E)顯示了微針陣列的顯微影像及 SEM 圖像。碳膠填充了三個空心微針(WE1, WE2 及 CE), 而第四個嵌入了 Ag/AgCl 參考電極(RE)。芬太尼感測器最初的特徵是在 10.0-200.0  $\mu\text{M}$  的寬濃度範圍內, 然而, 在連續 3 小時的 50.0  $\mu\text{M}$  芬太尼測量中, 塗有聚氯乙烯(Polyvinyl Chloride)的微針感測器顯示出具重複性的結果, 保留了其原始響應的近 90%。當使用這些藥物的混合物時, 嗎啡及芬太尼在+0.7 V 時均有

助於氧化電流訊號峰。然而，混合的嗎啡及芬太尼可以基於+0.2 V 處的嗎啡特徵訊號峰進行分離，作為區分判斷依據。此研究提出了在單一個可穿戴平台上建構微針感測器陣列，同時微創檢測芬太尼及鴉片類神經製劑。所得的微針感測器陣列能夠區分出鴉片類藥物過量及神經毒物中毒的發生，即對這種未知的暴露進行快速現場識別，以便立即就醫。因此，這種新型的微針感測器陣列可提供對人體中兩種主要藥物威脅，實現雙重感測，並且可以連續快速的分析信息[44, 45]。

## 1.4 環境質譜法於藥物濫用快篩

常規 GC-MS 及 LC-MS 方法通常耗費大量人力及時間來分析濫用藥物，需要一系列樣品預處理步驟來消除基質及富集目標化合物，並且需要較長的層析運行時間來分離分析物[2, 46-48]。此外，GC-MS 方法通常需要繁瑣的水解、萃取、衍生化步驟才能實現分析物的有效汽化[49, 50]。因此，有必要發展快速、現場採樣、即時檢測及高通量的分析方法，用於檢測複雜生物樣品中之藥物。環境質譜法保留質譜儀之強大化學檢測能力，提供了以最少的樣品預處理，或不進行樣品預處理，無需層析分離就可以快速直接地分析複雜的生物樣品。但是，將具有高複雜度的生物樣品(例如全血及未加工的尿液等)直接引入質譜儀可能會導致高基質效應及對目標分析物的低靈敏度，檢測可能會因此失準。為了解決這個問題，已經開發了將微萃取技術與環境質譜聯用的技術。在過去的二十年中，用於耦合策略固相微萃取(Solid-phase Microextraction, SPME)與環境質譜法得到了迅速發展，許多 SPME-MS 相關技術如固相微萃取解吸電噴灑游離(Desorption Electrospray Ionization, DESI)[51, 52]、固相微萃取實時直接分析(Direct Analysis in Real Time, DART)[53, 54]、木尖電噴灑游離(Wooden-tip Electrospray Ionization, WT-ESI)[55]、紙電噴灑游離(Paper Spray Ionization, PSI)[56].....等等，已被開發為從複雜樣品中快速提取化合物，並直接游離分析物進行質量化的新策略。本節將介紹新型態的環境質譜法檢測，應用於藥物濫用快篩測試。

### 1.4.1 微型雙線性離子阱質譜儀

尿液，血液及唾液等生物流體中藥物殘留的鑑定及定量，對於快篩現場至關重要。在快篩現場，通常用酵素免疫分析法檢測血液、尿液及唾液樣品中的古柯鹼、苯丙胺及嗎啡等藥物。在處理快速增長的新型毒品當中，基於酵素免疫分析法的方法存在局限性。酵素免疫分析法的準確性受到 pH 值、濃度及溫度等各種條件的影響，並且容易與其他藥物發生交叉感染反應[57, 58]。質譜法具有高靈敏度的優點及對不同類型化合物的廣泛適用性，已成為毒品濫用鑑定及定量的確認方法[59]。

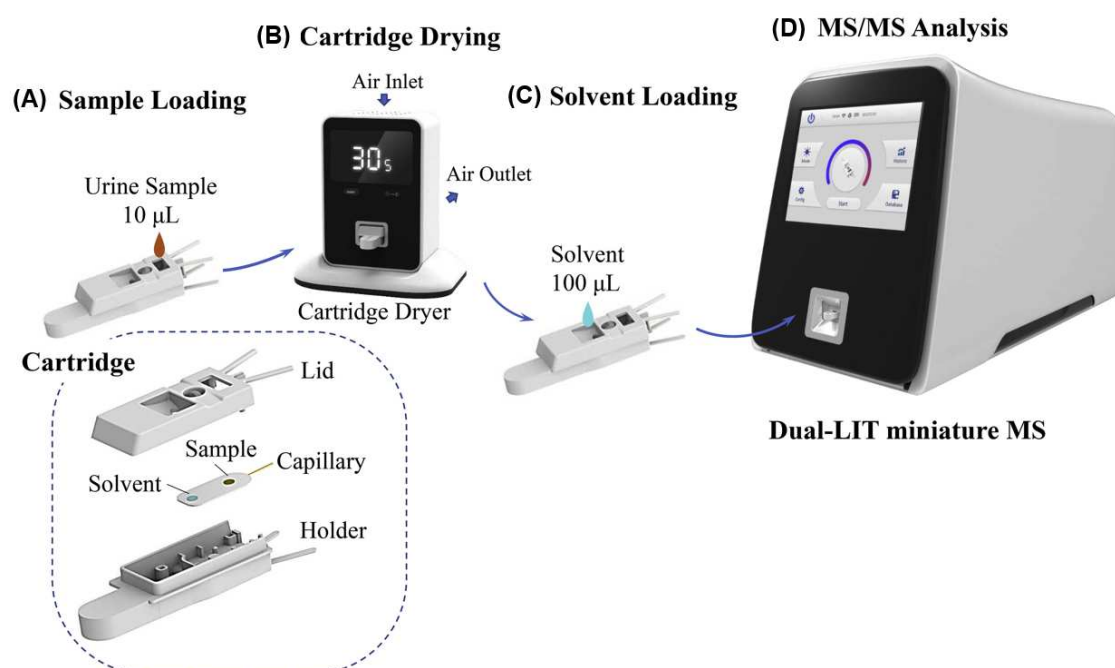


圖 1-8 微型質譜系統示意圖，用於快速現場分析中尿液樣品的藥物濫用檢測(A)從樣品入口將 10.0 µL 尿液樣品注入至紙晶片中。(B)將卡匣放入乾燥器中乾燥 30 秒。(C)將 100.0 µL 溶劑添加到卡匣中。(D)將卡匣放入雙 LIT 微型質譜儀中進行 MS/MS 分析。[60]

在 2020 年，Kang 等人開發一種微型雙線性離子阱質譜系統(Dual Linear Ion Trap Mass Spectrometry)，基於微型質譜系統的藥物濫用快速現場篩選方法，如圖 1-8 所示，被驗證並應用於實際樣品的定量分析。八個常見濫用藥物及四個新型精神活性物質作為驗證目標。通過分析尿液、唾液及血液在內的不同類型的生物樣品

基質，使用紙電噴灑游離質譜法進行快速現場檢測。常見濫用藥物之尿液檢測極限均小於 250.0 ng/mL，新型精神活性物質之尿液檢測極限為 50.0 ng/mL。該系統已用於定量分析服用嗎啡及甲基苯丙胺(Methamphetamine)的吸毒者的尿樣。此研究建立了古柯鹼與其代謝產物在尿液中的濃度比曲線，以估計用藥時間[60]。使用微型質譜系統直接分析適用於毒品化合物的快速及現場採樣，進行安全檢查或法醫檢查[61]。然而，微型質譜儀相比一般實驗室之質譜儀，訊號分辨率更差、檢測限制更多。但是在緊急狀況下之現場快篩，樣本有毒性或是難以運輸，需要立即得到定性定量結果，微型質譜儀會非常適用。

#### 1.4.2 木尖電噴灑游離質譜法

電噴灑游離質譜法(ESI-MS)是一種用於分析各種化合物的技術。自 1980 年代末推出用於分析生物分子以來，包含適當的樣本前處理分離及待測物預濃縮，能夠進一步改善該技術的採樣及游離[62]。納米電噴霧游離(nano-ESI)的發展可實現更軟的游離並消耗更少量的樣品[63]。引入環境游離技術，例如解吸電噴霧游離(DESI)、萃取電噴霧游離(Extractive Electrospray Ionization, EESI)，及其他相繼發明的技術無需樣品製備即可直接分析複雜樣品[52]。在過去的 20 年中，還開發了非毛細管發射器，以避免傳統毛細管發射器在電噴灑游離時的堵塞問題，並可以更方便地注入樣品。在游離源的部份，已成功開發多種替代材料，包括銅線及不銹鋼針、用銅或鉑線圈纏繞的光纖、表面改性的玻璃棒及納米結構的氧化鎢，並已用於各種樣品的分析[64, 65]。近來，已經進行了各種研究以簡化樣品的預處理並拋棄藥物分析的層析分離前處理，期望達到快篩現場中之精準定量分析。

在 2011 年，Hu 團隊發明了一種簡單且經濟高效的木尖電噴灑游離質譜技術(WT-ESI-MS)，如圖 1-9。之後 2019 年延伸應用於快速檢測及定量常見的濫用藥物，包括亞甲二氧基甲基苯丙胺(3,4-Methylenedioxymethamphetamine)、甲基苯丙胺、尿液及唾液中的古柯鹼、海洛因及四氫大麻酚(Tetrahydrocannabinol)，以及去

甲氯胺酮(Norketamine)也可以通過該技術檢測得到[66]。唾液或尿液中氯胺酮或去甲氯胺酮的檢測極限及定量極限分別為 20.0 ng/mL 及 50.0 ng/mL，適用於分析真實樣品。甲基安非他命的檢測極限可以滿足國際標準的臨界值要求。WT-ESI-MS 易於與其他儀器兼容並適用於分析多種分析物，此技術特別對雜質及基質具有很高的耐受性，可以直接分析複雜混合物中的目標分析物，幾乎不需要樣品製備，也無需層析分離[67]。具有這些理想的功能及質譜檢測的高特异性，一個樣品的分析通常可以在幾分鐘內完成。結果表明，WT-ESI-MS 可用於快速篩查尿液、唾液以及其他體液中的藥物。

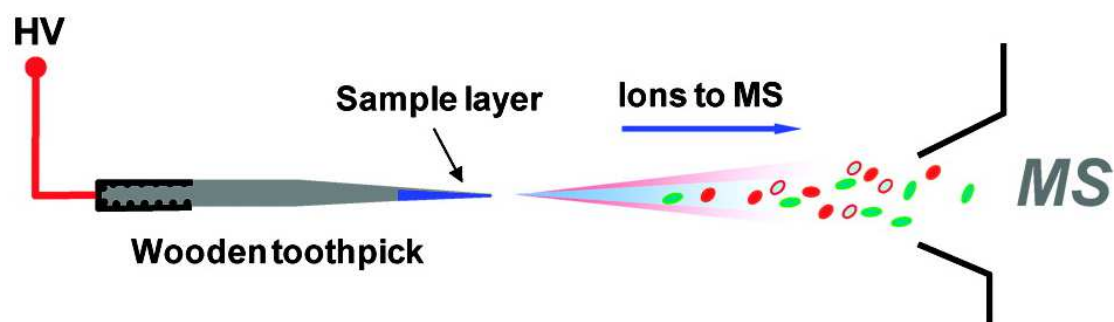


圖 1-9 木尖電噴霧游離質譜法應用於快篩分析，定性及定量測定尿液及唾液中的毒品殘留。[68]

### 1.4.3 飛行時間質譜法快篩

直接樣品分析飛行時間質譜(DSA-TOFMS)是一種新型的環境游離源，不需要層析法及複雜的樣品製備。飛行時間質譜法基於氮氣電暈放電游離源(Atmospheric-pressure Chemical Ionization, APCI)與環境質譜法聯用操作，帶電的氮物質與周圍的水蒸氣相互作用，形成水合氫離子鹽類及其他帶電的水簇，被點樣到目標篩網上的樣品位於電暈針及質譜儀的入口之間。被分析物分子與帶電的水簇相互作用，並通過質子轉移而被離子化，然後被熱解吸到質譜儀的入口中，如圖 1-10。飛行時間質譜儀可提供準確的質量測量值，以測定化合物的元素組成，化合物碎片離子的精確質量測量可用於闡明結構信息，特別適用於大分子量之蛋白質組成分析[69]。

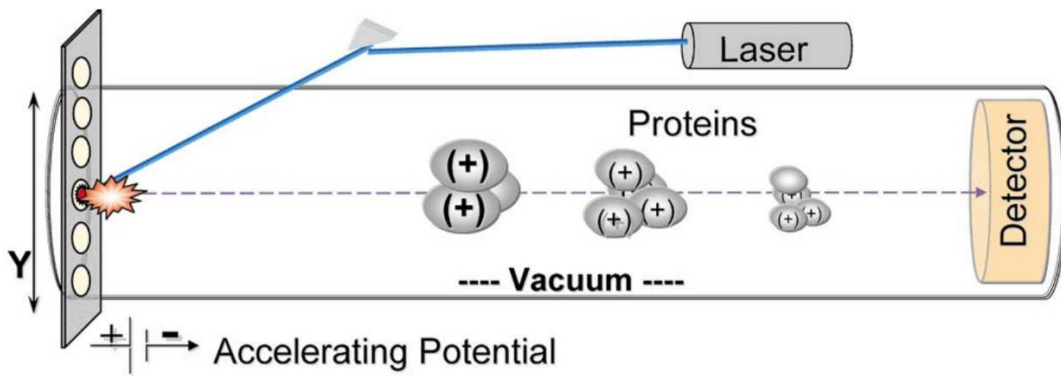


圖 1-10 飛行時間質譜法原理圖。樣本經 APCI 打碎後，在電場加速下到達偵測器，常見於蛋白質分析。[70]

Moore 等人在 2019 年發表的研究中，評估了 DSA-TOFMS 在法醫案件中的效用，對於鴉片類藥物的篩選，DSA-TOFMS 成功地快速分析了樣品以進行定性鑑定分析物(圖 1-11)。評估了 18 種化合物，包括鴉片類藥物、芬太尼類似物及合成鴉片類藥物。精確質量及離子碎片的結合為化合物鑑定提供了良好的選擇性及特異性[71]。然而，DSA-TOFMS 需要昂貴且龐大的質譜分析設備，適用於實驗室快篩，但不適用於現場檢測，導致檢測普及化的目標變得遙遠。

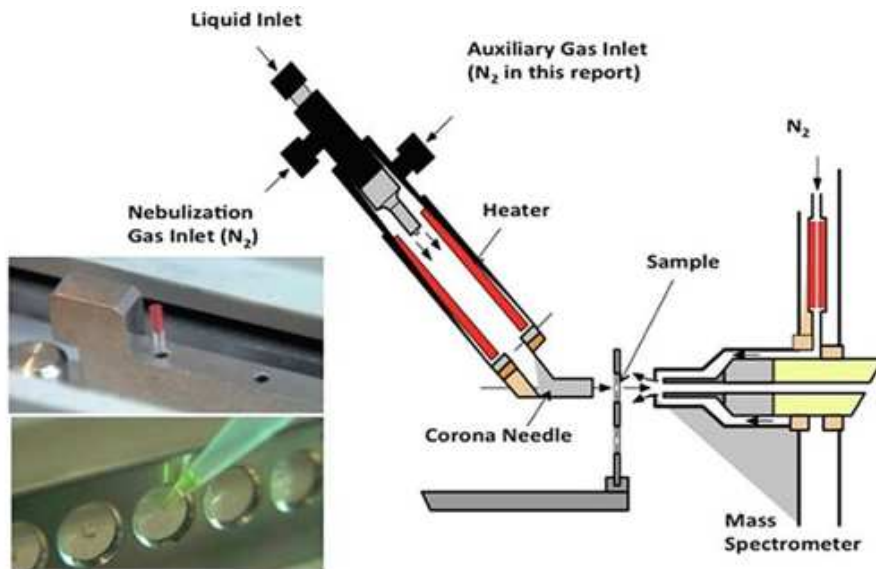


圖 1-11 直接樣品分析原理圖，電暈噴到樣品上游離，通過霧化氣體及輔助氣體引入儀器，該游離顆粒被吸入質譜儀進行分析。[71]

#### 1.4.4 新型二維紙層析紙電噴灑質譜法系統

而本研究室於 2016 年，由陳仲祥提出了新型的紙微流體電噴灑卡匣系統，透過二維紙層析分離濃縮之樣本前處理，結合紙電噴灑游離質譜分析的概念，與傳統氣相或是液相層析相比，大幅簡化樣本前處理純化過程。二維紙層析的應用有效提升紙電噴灑質譜法的檢測效能。研究架構如圖 1-12 所示，透過一個經由 3D 列印的卡匣作為微流體紙片放置的主體，於卡匣內部完成二維紙層析分離濃縮後，再將外接的 PCB 電極板插入插拔式插槽，PCB 電極接觸位於卡匣紙電噴灑游離區域之紙片，施以質譜高壓電源以進行紙電噴灑質譜偵測[72]。

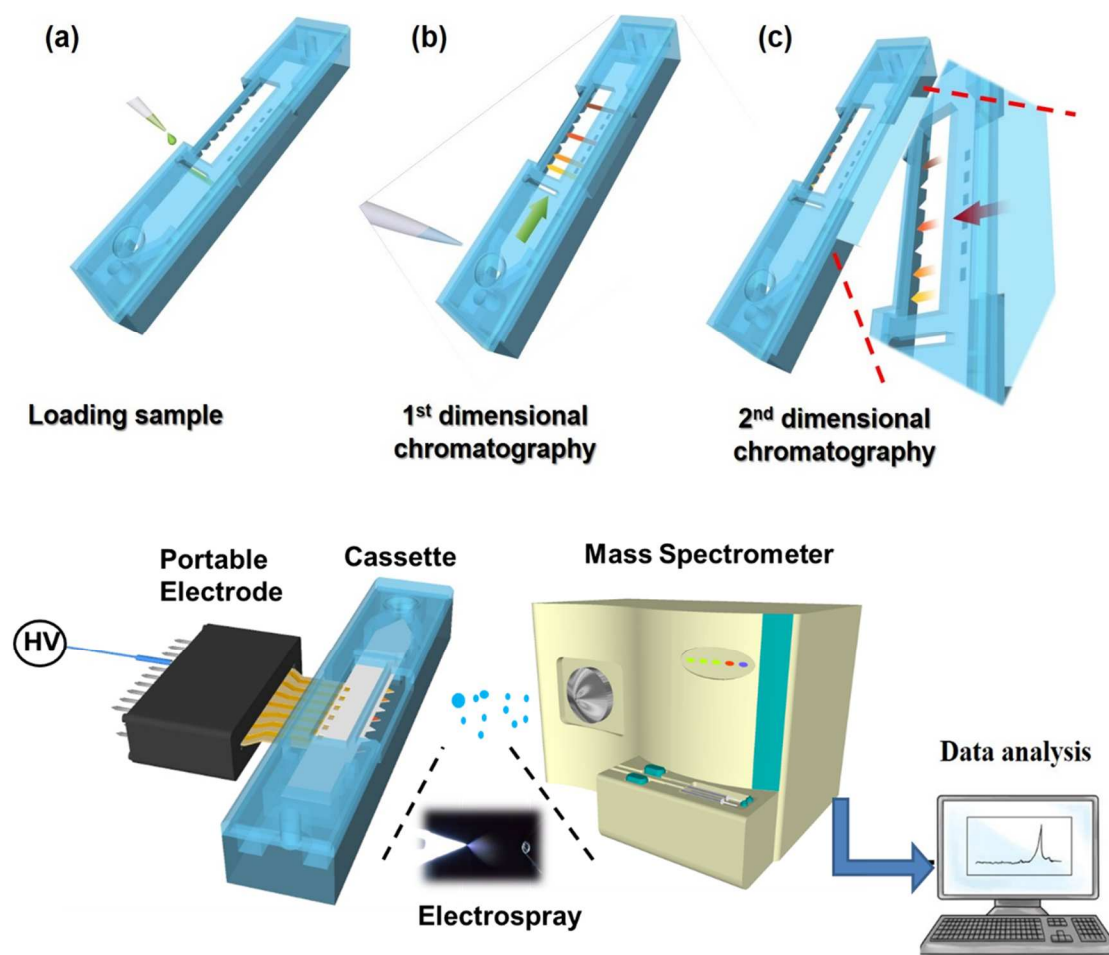


圖 1-12 創新紙基微流體卡匣系統示意圖。樣本進樣後於經過二維的紙層析分離濃縮，再經由額外插入的 PCB 電極傳導質譜儀提供之高壓電源至紙片上，進行紙電噴灑質譜法偵測。[72]

而本研究室於 2018 年，由鄭名栩針對卡匣系統的結構及製程進行大幅度的改良，如圖 1-13 所示。卡匣可由雙擠出的 3D 列印機於單一系列印程序中完成，包含卡匣上蓋、本體及內部的導電高分子電極，整個系統皆可於自動化環境下生產，大幅降低生產成本及加工複雜度。新型的紙片設計，於第一紙維層析分離中，除了將樣本分離，低功率雷射雕刻的紙尖結構改善層析分離時展開液流動的順暢度，避免紙片兩側因毛細作用力的不同而產生之拖尾現象，使樣本殘留降低了 10.0 倍。犧牲翼以及節流閥的特殊設計，分別將第一維層析的理論板數提高了 3.9 倍與 1.6 倍，大幅改善樣本前處理效能，實現一高效能、容易製造且低成本的紙微流體卡匣檢測系統[73]。

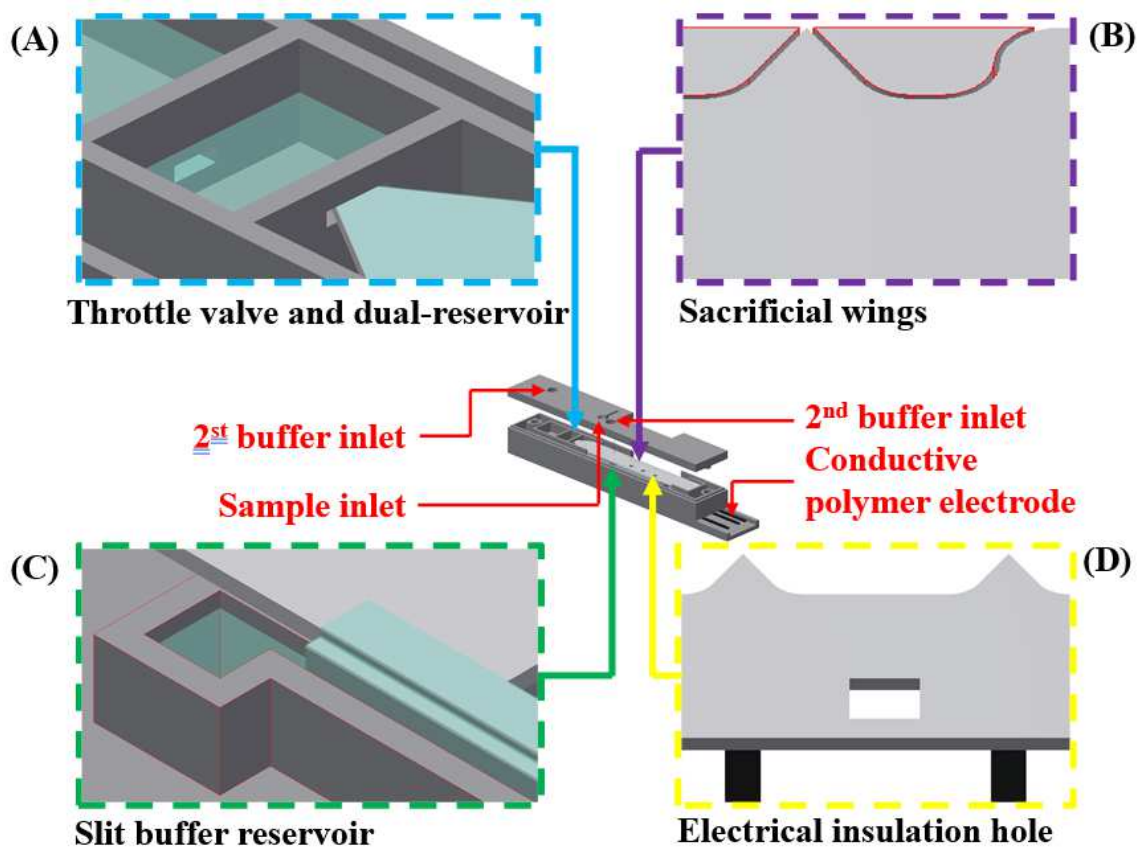


圖 1-13 紙微流體卡匣系統的特殊改良設計。(A)用於控制第一維層析分離之雙槽式儲液槽，以及能夠控制流速的矩形節流閥、(B)低功率雷射雕刻之犧牲翼用於改善層析分離時產生的拖尾現象、(C)用於第二維層析濃縮展開液的狹縫儲液槽以及紙片的吸水側翼、(D)防止電噴灑干擾的絕緣孔。[73]



## 1.5 研究動機與目的

開發低成本、快速、高精準度、可以現場使用的微型檢測晶片，是目前學研機構、檢察單位致力於發展的方向之一，目標是在短時間內完成採樣、前處理、分析等檢測流程，並且檢測結果不易造假，可以快速蒐集證據以及不受限於實驗室等級的大型檢測分析設備，便可以完成樣品分析。本實驗室多年來致力於發展紙基微流體晶片與質譜儀聯用之檢測系統，在實驗室前人的研究中，成功開發在單一個 3D 列印的卡匣之中完成樣本的二維紙層析，連接質譜儀高壓電後，在紙片上雷射雕刻的尖端結構可以在卡匣上產生紙電噴灑游離，以利於質譜儀分析。然而，在前人發表的二維紙層析微流體卡匣之中，多紙尖結構會因為同時具備足夠的電場而造成多重電噴灑，導致不必要的樣本消耗之外，同時也削弱了二維紙層析法的優勢，嚴重影響卡匣的效能，違背本研究期望的目標。

因此本研究提出一改良式的紙基微流體卡匣系統，實驗目的如下：

### (一) 新增抑制電極解決多重紙電噴灑

- A. 設計抑制電極之材料與結構
- B. 利用 COMSOL 模擬軟體對抑制電極進行優化
- C. 標準品驗證抑制電極之效能

### (二) 將此研究之二維紙層析質譜法系統進行實際樣本測試

- A. 針對尿液樣本進行藥物殘留的檢測。
- B. 針對頭髮樣本進行藥物殘留的檢測。

本研究延續前人所發展的紙微流體卡匣系統，保有低成本、快速、精準、易製造等優點，且同時進一步改良，在實際操作上可以進行定性分析展現出在藥物濫用快篩應用的強大潛力。

## 1.6 論文架構

本論文第一章將先簡介研究相關背景與目前技術，第二章說明實驗原理與材料，接下來第三章是實驗的架構、設計與操作的介紹，第四章會呈現出實驗的結果與討論，最後第五章將會針對本研究做完整的總結。完整的架構如圖 1-14 所示。



圖 1-14 論文架構圖。

## 第二章 實驗原理與材料特性

本研究當中有三個最主要的分析技術，分別是二維紙層析、紙電噴灑游離法及質譜分析法。毛細現象作為層析分離法之基本原理，而二維紙層析的目的在質譜質量分析前的樣品前處理，通過特殊定義的紙晶片來實現，樣本經由二維紙層析分離再濃縮的質譜分析靈敏度更高，更具優勢。紙電噴灑游離的目的在於將樣本游離成帶電離子態，經由特殊設計的紙電噴灑尖端區域實現，以利質譜偵測。質譜分析作為強大的化學分析法之一，是根據其質荷比訊號強度進行排序的分析技術，因此質譜必須具備游離樣本的游離源，可以用來分析標準品或是分析複雜混合物。本章節將先介紹毛細現象及其應用於可攜式分析設備中之優勢。接著介紹層析法之原理及其影響因素。再介紹於質譜檢測之紙電噴灑游離法游離過程。為了解決本研究多紙尖電噴灑之研究動機，最終介紹庫倫定律，應用於改變多紙尖結構周圍電場的強度來達到研究目的。

### 2.1 毛細現象

毛細現象是常見的物理現象之一，在現今發展的快篩裝置中，時常可以發現毛細現象應用在其中。毛細現象是液體在狹窄空間中流動的能力，而無需借助額外的驅動力，甚至可以抵抗重力產生毛細現象。毛細現象由液體及固體之間的附著力強於液體因內聚力而產生的表面張力而發生，換言之，如果管子的直徑足夠小，則表面張力及液體與材料之間的附著力便可以推動液體。如具多孔結構之海綿可以吸油溶液或水溶液，以及薄層層析法中，矽膠、氧化鋁或纖維素組成的多孔性材料能夠吸取層析緩衝液。

最早在西元 1480 年左右，達文西(Leonardo da Vinci)在手稿中明確地記錄毛細現象。而波以耳(Robert Boyle)在西元 1662 年首先利用毛細現象為基礎發展波以耳定律(Boyle's law)。根據波以耳的研究結果，密閉空間中的定量氣體在恆溫下，氣體的壓力及體積成反比關係。波以耳定律可以用來解釋人體呼吸系統的工作原理，

肺部通過增加或是減少體積，來形成較低或是較高的氣壓差，氣壓差會促使肺部吸入或是吐出空氣。後來發展的水銀氣壓計，便是波以耳定律的重要應用。

毛細現象最常見的例子，是利用兩端開口的玻璃管柱插入液體，管壁內的液面會因為不同種類的液體，因液體與管壁間的附著力與液體本身內聚力的不同，而形成向下凹陷或是向上凸起的圓弧。以水為例，水與玻璃管柱的附著力大於水的內聚力，因此管柱中央的液面高度會比管壁處的液面高度還低。反之以汞為例，汞與玻璃管柱的附著力小於汞的內聚力，因此管柱中央液面高度會比管壁處液面高，成凸圓弧狀。如圖 2-1 所示，在不同管徑下，以水為例，直到表面張力平衡於水重量時，才會停止繼續上升。在毛細管中，水的重量與管徑的平方成正比，但是水與管壁的接觸面積只與管徑成正比，這使得較窄的毛細管吸水會比較寬的毛細管來得高，反之較窄的毛細管吸汞會比較寬的毛細管來得低。

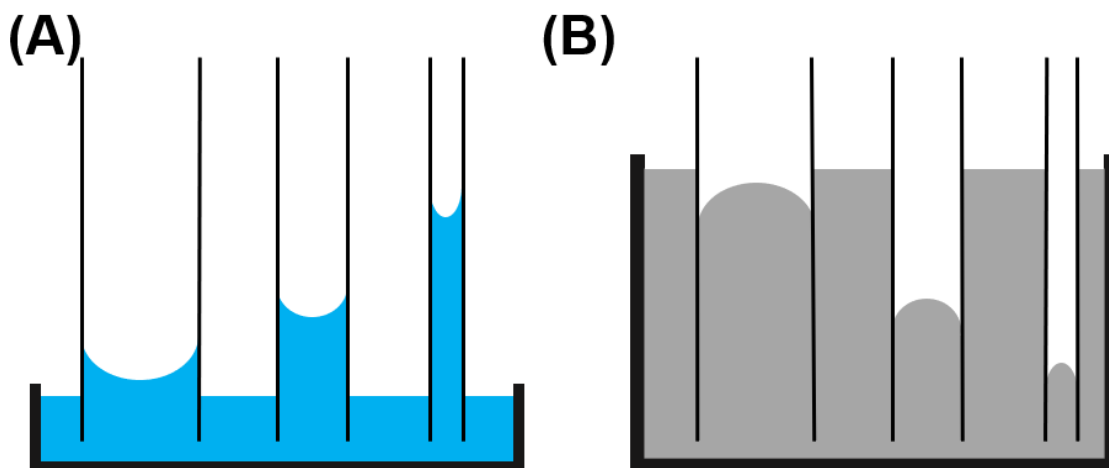


圖 2-1 毛細現象於玻璃管柱在(A)水中及(B)汞中之示意圖。

## 2.2 層析法

層析(Chromatography)起源於西元 1900 年，俄國植物學家茨韋特(Mikhail Tsvet)用碳酸鈣填充進入玻璃管柱，以石油醚作為洗脫植物色素的緩衝液，經過一段時間層析之後，植物色素在碳酸鈣柱中實現分離，由一條色帶層析為數條平行的色帶。而在茨韋特後續的層析法研究，主要用於分離植物色素，例如葉綠素，胡蘿蔔素及葉黃素。

層析法是一種用於分離混合物的實驗室技術。混合物溶解在稱為移動相(Mobile Phase)的流體中，移動相在一種稱為固定相(Stationary Phase)的物質的結構中移動。移動相中的各種成分因極性、分子量、粒徑大小、帶電量等差異，因此以不同的速度傳播，導致樣本分離。管柱層析法(Column Chromatography)是一種分離技術，其中固態固定相或塗有液態固定相的顆粒充滿管柱的整個內部體積，或集中在管內壁上，或沿管內壁濃縮，在管柱中間留下不受限制的移動相路徑。通過計算介質運動速率的差異，可以計算出樣品的不同保留時間。管柱層析法可廣泛應用，因為不同種類的吸附劑(正相，反相或其他)可與多種溶劑一起使用。此技術可用於微克到千克的規模。管柱層析法的主要優點是固定相的成本相對較低，能夠一次性使用，以及可以有效防止新樣本再循環造成的交叉污染及固定相降解，增加實驗精準度。此外，可以利用重力來驅動溶劑，或使用壓縮氣體將溶劑推進層析管柱，從而完成層析分離。

平面層析法(Planar Chromatography)也是一種層析分離技術，其中固定相以平面或在平面上的形式存在。該固定相可以是單純的紙基質，或是以紙作為固定平台浸入固定相的物質，或散佈在如玻璃板的支撐平台上的一層固體顆粒。樣品混合物中的不同化合物根據其與固定相相比與移動相的相互作用程度而導致不同的分離距離。紙層析法是一種將樣品溶液以圓點狀滴定在層析紙條上的分離技術。將層析紙條放在裝有淺層溶劑的容器中並密封。當溶劑因毛細現象通過紙上升時會遇到樣品混合物，在紙條下方的混合物與溶劑相溶並且一起沿紙條向上移動。紙層析法的固定相由強極性之纖維素製成，弱極性的化合物會移動較快。極性強的物質與纖維素紙的吸引力較強，因此移動較慢。薄層層析(Thin-layer Chromatography)是一種廣泛使用的實驗室技術，其對固定相及移動相的相對吸引力能夠分離不同的生化試劑。薄層層析法是在平坦的惰性基材(例如玻璃)上，吸附劑薄層(例如矽膠，氧化鋁或纖維素)的固定相。薄層層析應用廣泛，可以在同一層上同時分離多個樣品，這對於快篩應用具有優勢。由於每次分離都是在新的薄層上進行，因此交叉污染的可能性很低。但與紙張相比，成本高非常多，若目標是快篩試劑的量產，低成本的

紙層析法會更具競爭力。影響本研究樣本之紙層析效率主要有以下五個變因：

#### (一) 極性(Polarity)

極性是紙層析分離效率的最大變因，紙層析分離原理是利用化合物與移動相混合當中，在固定相中之競爭結合所造成的。待分析混合物中之化合物與固定相、移動相之極性吸附特性，影響了化合物與固定相之間的親和力，並進而影響了待測分子隨著移動相前進之能力。因此，判斷待測分子的極性及選用固定相材質及移動相溶劑種類，對於分離效能具有決定性影響。一般而言，極性分子之分離需選擇極性展開液與極性表面固定相。反之，非極性分子則多選用非極性溶劑與固定相做為層析系統。

#### (二) 溶劑(Solvent)

溶劑為紙層析中的移動相。在混合物中，根據欲分析的高極性或是低極性物質，依照相似相溶原理選用不同的溶劑。若欲分析高極性化合物，則選用高極性溶劑如水、甲醇、乙醇等。若欲分析低極性化合物，則選用低極性溶劑如甲苯、丙酮等。根據欲分離的化合物極性，選用適當的溶劑可以達到最好的分離效果。

#### (三) 濾紙(Filter Paper)

濾紙在紙層析中作為固定相，材料的不同，與樣本、溶劑的親和力也不同，不同的孔徑率、厚度、濕強度及纖維種類等，皆影響紙層析時樣本以及展開液的行為，因此根據欲分析樣本的種類選擇適當的濾紙至關重要。

#### (四) 分子量(Molecular Weight)

複雜混合物中包含了不同分子量的化合物，若不考慮極性，且由同一個展開液在相同流速下，分子量較小的化合物，展開速率越快，反之亦然。故留在移動相起點附近的樣本通常比移動相終點的分子量還大。

## (五) 電荷(Charge)

在層析過程中，若混合物中的化合物與移動相互溶且形成帶電離子態，則會受到移動相之酸鹼度影響而改變樣本化合物之遷移速度及方向。

近幾十年來層析分離技術非常成熟，又以氣相層析法(GC)、液相層析法(LC)及平面層析法為主流的層析技術。這些主流技術與紙層析相比，有著更高的理論板數，在定量分析上非常具有優勢，但是樣品純化的前處理過程非常繁瑣且耗時，且通常需要大型的實驗室設備來對層析完成的產物進行分析，分析過程需要有經驗的操作人員才能順利進行。因此，本研究欲開發一個二維紙層析紙基流體卡匣系統，運用紙層析之樣品純化濃縮技術，以繪圖軟體及 3D 列印機定義及製造卡匣，配合雷射雕刻的紙晶片，在單一卡匣中短時間內實現樣品純化之前處理，再經由大氣質譜儀檢測。目標能夠實現低成本量產，高精準度化學分析。

## 2.3 紙電噴灑游離法

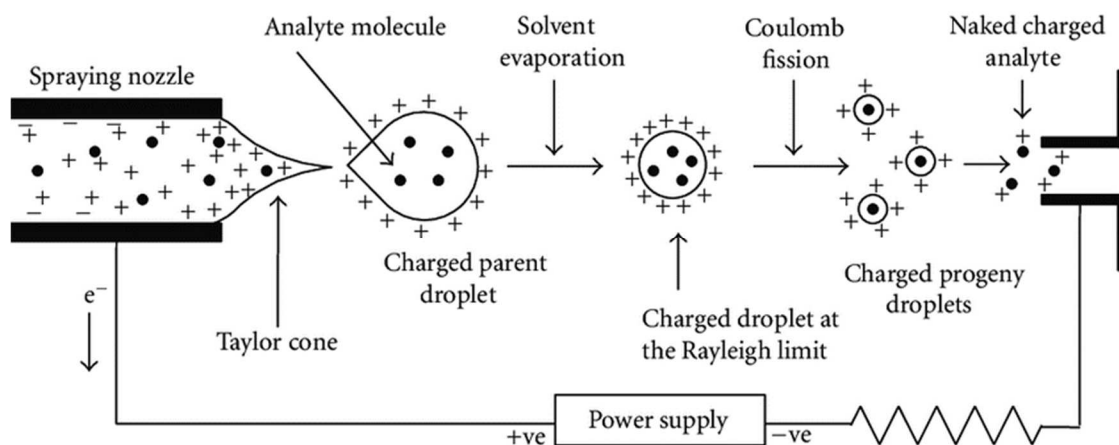


圖 2-2 毛細管電噴灑游離之示意圖。[74]

紙電噴灑游離法起源於毛細管電噴灑游離法，兩者原理非常相似，都是在廣義的尖端處施加高電場使樣本與溶劑游離(圖 2-2)。在典型的電噴灑游離法中，使用毛細管作為載體，且管徑足夠小以致於可以產生泰勒錐 (Taylor Cone)，緩衝液由

注射式幫浦(Syringe Pump)推送進毛細管當中。而紙電噴灑游離法中，使用加工成三角形尖端的紙片作為電噴灑的載體，緩衝液則直接滴定於紙片上。雖然產生電噴灑游離的材料、構造及方式有非常大的不同，但兩者產生游離的物理機制完全相同。紙電噴灑游離法主要的游離步驟有三個部分，(一)霧化、(二)去溶劑、(三)游離。

### (一) 霧化(Nebulization)

在含有電噴灑緩衝液的紙片後端連接電極施加正高壓電場，正高壓電場會因為斥力驅動帶正電的離子往紙片尖端前進。一開始含有緩衝液的紙片尖端，會因為緩衝液之表面張力，在尖端形成凸起之液面，而當正離子持續累積，庫倫斥力會使得液體往上堆積，達到臨界狀態時，會在紙片尖端處形成圓錐狀的液面，即為泰勒錐。當電場持續往上增加，庫倫斥力將大於表面張力，達到雷利極限(Rayleigh limit)，使泰勒錐尖端處不斷地爆裂出帶電大液滴，此連續過程便會形成霧化(Nebulization)。

### (二) 去溶劑(Desolation)

帶正電的大液滴在飛行過程中，溶劑會因高溫而不斷地揮發，液滴體積逐漸變小的同時，單位體積內的電荷數量也不斷的上升，原本庫倫斥力與表面張力平衡的液滴會再次達到雷利極限而產生二次爆裂，形成更小的帶電液滴，此過程將不斷發生，最終液滴中的溶劑完全揮發，形成帶一價或是多價電荷之離子。

### (三) 游離(Ionization)

在去溶劑過程中，帶電的液珠持續爆裂，在溶劑揮發後，電荷仍然會留在正電液滴上，最終形成帶一價或多價電荷的離子。而經由電場的驅動，帶電離子將會被帶到電位較低的一端，也就是本研究中的質譜端。



## 2.4 庫倫定律

庫倫定律(Coulomb's law)為法國物理學家庫倫(Charles Augustin de Coulomb)於1785年發現，而命名的一條物理學定律。庫倫定律是電學發展史上的第一個定量規律。此後，電學的研究從定性進入定量階段，是電學史中的一塊重要的里程碑。靜電是一種常見的電現象，其中帶電粒子從一個物體轉移到另一個物體。例如，將兩個物體摩擦，如果物體是絕緣體並且周圍空氣乾燥，則這兩個物體會獲得相等且相反的電荷，並且在它們之間會產生吸引力，亦即靜電力。靜電力被併入庫倫定律的數學關係中。在一定條件下，由於電荷  $Q_1$  在距離  $r$  上，在這些條件下電荷  $Q_2$  上的電力由庫倫定律給出：

$$F = k_e \frac{Q_1 Q_2}{r^2} \dots\dots\dots (2-1)$$

其中， $F$  是作用力， $k_e$  是庫倫常數， $Q_1$  與  $Q_2$  為兩個帶有正負號的電荷， $r$  是兩個電荷彼此之間的距離，如圖 2-3。

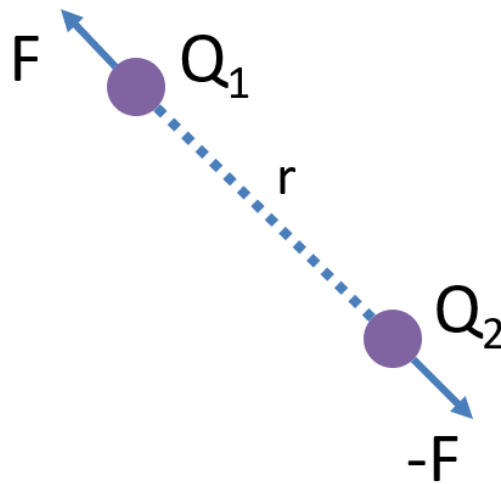


圖 2-3 電荷  $Q_1$  及  $Q_2$  受彼此電場作用下造成的庫倫力。

電場是向量場，它與測試電荷所經歷的庫倫力在空間中的每個點相關。在最簡單的情況下，該場被認為僅由單個源點電荷產生。測試正電荷  $Q_1$  上的庫倫力  $F$  的強度及方向取決於它所處的電場  $E$ ，因此  $F = qE$ 。如果場是由正的源點電荷  $Q_2$  產

生的，則電場的方向沿著  $Q_2$  從其徑線向外指，如果測試正點電荷  $Q_1$  放置在  $Q_2$  電場中，則  $Q_1$  將遠離  $Q_2$  移動。對於負的  $Q_1$  源點電荷，運動方向是徑向內接近  $Q_2$ 。此方程可以用來定義一個電場：

$$E_{Q_1} = k_e \frac{Q_2}{r^2} \dots \dots \dots (2-2)$$

電場  $E$  的大小可以從庫倫定律導出。通過選擇一個點電荷作為源電荷，選擇另一個作為測試電荷，根據庫倫定律可以得出，單個源點電荷  $Q_1$  在距其一定距離處所產生的電場  $E$  的大小。

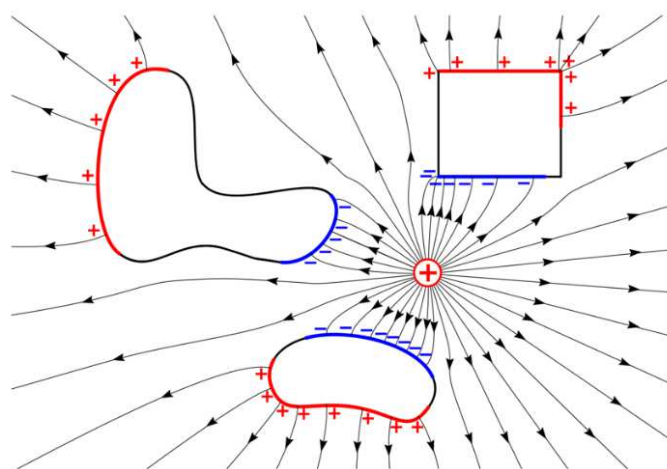


圖 2-4 由於靜電感應在導體上感應出表面電荷。

圖 2-4 中，當電荷分佈固定時，導體處於靜電平衡狀態。當對導體充電時，電荷會自行擴散。在平衡時，電荷及電場遵循以下準則：

- (一) 多餘的電荷僅位於導體的表面
- (二) 導體的固體部分中的電場為零
- (三) 導體表面的電場垂直於表面
- (四) 電荷在導體的尖端部分積累，並且電場最強

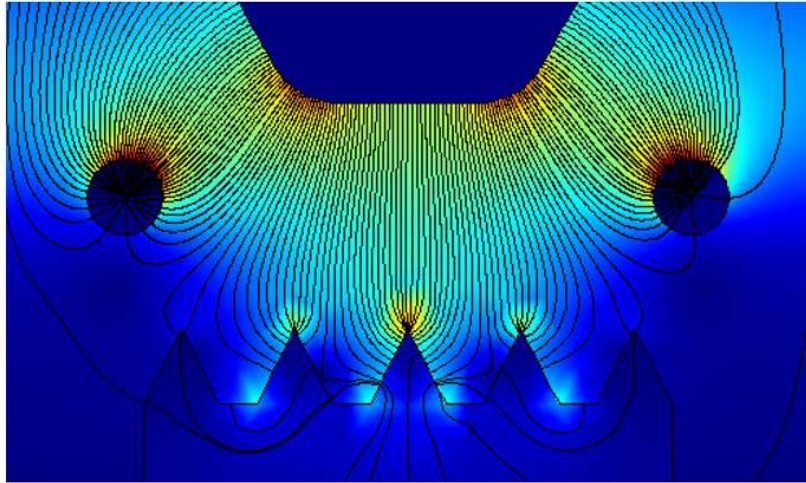


圖 2-5 模擬軟體 COMSOL 之靜電電力線及電場分布。

電場滿足疊加原理，如果空間中的電荷  $Q_1$  及  $Q_2$  產生的電場  $E_1$  及  $E_2$ ，則  $Q_1+Q_2$  也會產生一個電場  $E_1+E_2$ 。而若是有  $n$  個靜止電荷( $Q_1, Q_2...Q_n$ )位於真空中( $R_1, R_2...R_n$ )，在沒有電流的情況下，疊加原理證明了所產生的場是庫倫定律所描述的每個粒子所產生場的總和：

$$E(R) = \sum_{i=1}^n E_i(R) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{i=1}^n Q_i \frac{R-R_i}{|R-R_i|^3} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{i=1}^n \frac{Q_i}{r_i^2} \hat{r}_i \dots\dots\dots(2-3)$$

其中， $Q_i$  為第  $i$  個電所帶電荷， $\epsilon_0$  為真空電容率， $\hat{r}_i$  是點電荷的位置向量  $r_i$  的單位向量。本研究之多紙尖結構在施以高壓正電場(8.5 kV/cm)進行紙電噴灑游離時，多紙尖結構都具備足夠強的電場導致發生多重電噴灑之情形，因此本研究外加一抑制正電場，與原有的高壓正電場疊加，干擾多紙尖結構周圍之電場，達到消除多重電噴灑之研究目的，如圖 2-5。

## 2.5 泊松方程

泊松方程(Poisson's equation)是在理論物理學中具有廣泛用途的橢圓偏微分方程，以法國數學家和物理學家泊松(Siméon Denis Poisson)的名字命名。泊松方程的解是由給定的電荷或質量密度分佈引起的場勢，在已知場勢的情況下，可以計算出靜電場或重力場，是拉普拉斯方程的一般化，常見於物理學中。

泊松方程為

$$\Delta\varphi = f$$

在這裡 $\Delta$ 代表的是拉普拉斯算子，而 $f$ 和 $\varphi$ 可以是在流形上的實數或複數值的方程。

而拉普拉斯算子通常表示為 $\nabla^2$ ，因此泊松方程通常寫成

$$\nabla^2\varphi = f$$

在三維直角坐標系中，可以寫成

$$\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2}\right)\varphi(x, y, z) = f(x, y, z)$$

如果有 $f(x, y, z)$ 恆等於 0，泊松方程就會變成一個齊次方程，稱作拉普拉斯方程。

$$\nabla^2\varphi = 0$$

在 COMSOL Multiphysics 模擬軟體中，靜電學的基礎是建立和解決泊松方程所描述的問題，求解泊松方程等於找到給定電荷分佈的電位。泊松方程在靜電學中的數學細節如下，從微分形式高斯定律(Gauss's law)開始。

$$\nabla \cdot D = \rho_f$$

其中 $\nabla \cdot$ 是散度運算子， $D$ 為電位移， $\rho_f$ 為自由電荷體積密度。假設介質是線性，均質且同相，則可以得出本構方程

$$D = \varepsilon E$$

其中 $\varepsilon$ 是介質的介電常數， $E$ 是電場。將其帶入高斯定律，並假設 $\varepsilon$ 是目標區域中之空間介電常數，而可以得到

$$\nabla \cdot E = \frac{\rho_f}{\varepsilon}$$

在靜電場中，假設不存在磁場

$$\text{則 } \nabla \times E = 0$$

其中 $\nabla \times$ 是旋度運算子，因為任何梯度的旋度都是零，這個方程意味著可以將電場寫成函數 $\varphi$ 的梯度。因此得到

$$E = -\nabla\varphi$$

其中負號將 $\varphi$ 表示為每單位電荷的電位能。可以推導泊松方程

$$\nabla \cdot E = \nabla \cdot (-\nabla\varphi) = -\nabla^2\varphi = \frac{\rho_f}{\varepsilon}, \text{ 即 } \nabla^2\varphi = -\frac{\rho_f}{\varepsilon}$$

若電荷密度遵循玻爾茲曼分佈(Boltzmann distribution)，則產生泊松-玻爾茲曼方程(Poisson-Boltzmann equation)。使用格林函數，與中心點電荷 $Q$ 距離 $r$ 的電位為

$$\varphi(r) = \frac{Q}{4\pi\varepsilon r}, \text{ 此為庫倫靜電定律}$$

## 第三章 實驗設計與架構

本章節之第一小節將介紹本二維紙層析質譜法系統卡匣、紙片的設計、製程及原理綜述。第二小節介紹本研究創新的抑制電極結構，說明如何驗證抑制電極的效能，解決多重紙電噴灑的情形，同時提升本系統之質譜偵測表現。第三小節將介紹本研究之系統架設，包含了二維紙層析質譜法的實驗架設、創新抑制電極滑動底座工作原理，以及實際操作時，分析檢測設備的參數設定。第四小節介紹檢測目標，將論述實驗設計，包含了創新抑制電極的優化及效能驗證，以及對實際生物樣本的檢測，滿足本系統欲達成之藥物濫用快篩檢測之適用性。最終於第五小節介紹本研究所需要的緩衝液製備以及生物樣本之樣本溶液製備。

### 3.1 新型紙基流體卡匣系統設計與製程及原理綜述

本研究致力於發展一個快篩檢測卡匣系統，利用二維紙層析分離、純化及濃縮，再利用被定義的紙尖端進行紙電噴灑游離進行質譜檢測。傳統的側流式流體卡匣，大多是用酵素結合免疫吸附法(ELISA)作為檢測機制，但通常通過比色法來判斷檢測結果，然而，常常發生假陽性或是假陰性的檢測結果，導致判斷失真，也會因為樣本運輸、保存問題，限制了其發展。而本研究之二維紙層析質譜法之卡匣，不僅有著低成本的前處理設備，並且與離子阱大氣質譜儀聯用，質譜儀可以得到二維紙層析樣本確切的離子質荷比，對複雜樣品的分析提供確切證據。而與 Cooks 團隊首先發想的三角形紙片紙電噴灑游離質譜法相比，本研究樣本經過層析等等的樣本純化，在分析複雜樣品時，主成分會被展開至某一紙片尖端區域，主成分的訊號將會被削弱，以致於原本相對較弱的訊號峰可以在其他紙尖端上被明顯偵測到，解決傳統三角形紙片因未經分離純化導致檢測效能低落的問題。

本研究的特點，是利用質譜儀強大的定性定量優勢，在眾多領域如食品安全、環境維生及生醫檢測等，可以進行殘留化合物成分分析。而本研究開發的二維紙層析也能針對不同極性的待測物，選用適當的層析展開液，使得本研究系統

之泛用性相當高。而低成本、易使用、易量產及適合現場快篩的特點，讓檢測普及化，降低因各種安全疑慮造成的社會成本。

### 3.1.1 卡匣與紙晶片設計與製作

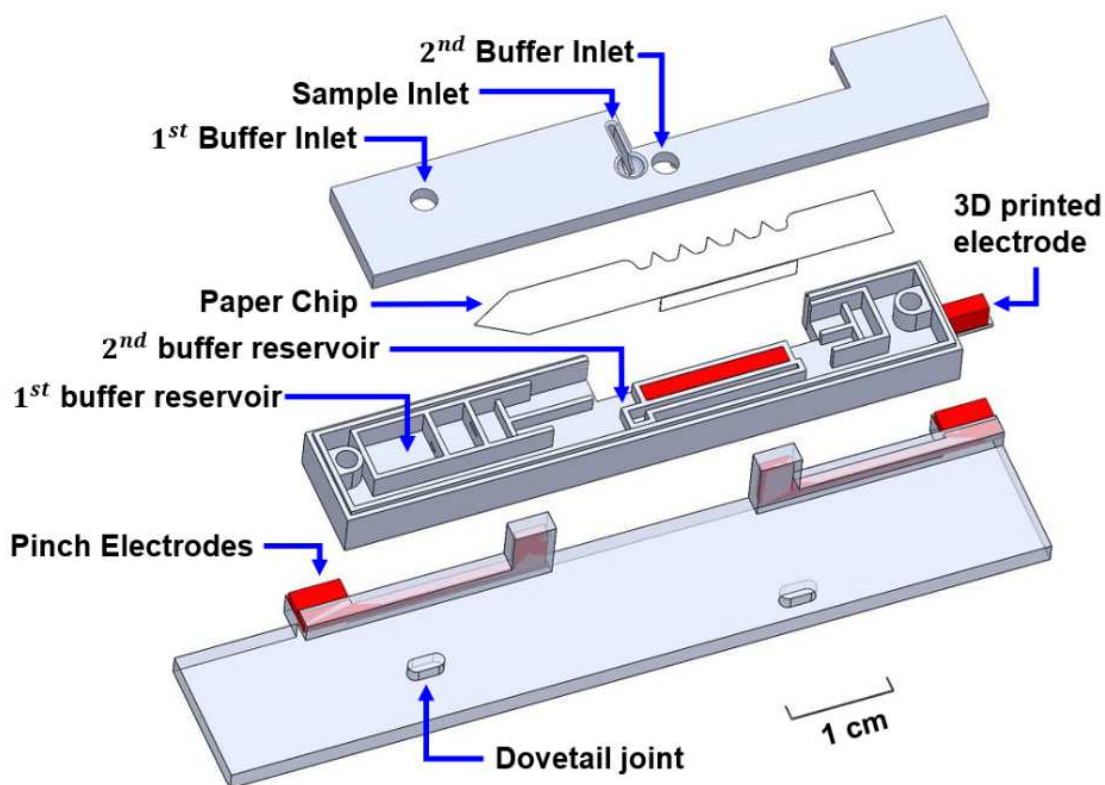


圖 3-1 紙基流體卡匣及紙晶片之爆炸視圖。包含卡匣上蓋、層析結構層、紙層析晶片、抑制電極底座，整合所有單元於一個系統。

在新型紙基流體卡匣系統當中，卡匣與內部的紙晶片涵蓋所有樣品前處理所需要的結構，如圖 3-1 所示，卡匣的上蓋包含樣品入口及展開液入口。紙晶片為濾紙經過雷射雕刻處理成型，該濾紙包括一維層析緩衝液入口及一個  $13.5 \times 2.0 \text{ mm}^2$  層析側翼，用於二維層析緩衝液吸收。本研究中的犧牲機翼結構使用低功率雷射雕刻來定義紙尖圖案。低功率雷射雕刻可以在第一維層析分離時，使大部分移動相通過，等待樣本分離結束後去除犧牲翼，從而顯著改善拖尾現象。卡匣結構層包括儲液槽。

在雙槽式設計中，第一個容器可以容納 80.0  $\mu\text{L}$  的緩衝液，第二個容器可以容納 40.0  $\mu\text{L}$  的緩衝液，中間的一個  $1.0 \times 0.4 \times 0.5 \text{ mm}^3$  的小孔可以精確地控制展開液流速。第二維紙層析儲液槽由  $15.0 \times 0.5 \times 2.5 \text{ mm}^3$  矩形狹縫組成，可容納 8.0  $\mu\text{L}$  緩衝液。然後，將嵌入的導電高分子電極連接質譜儀的高壓電以進行紙電噴灑游離。鳩尾樁接頭設計在抑制電極的滑動底座上，該底座與盒子下方的鳩尾槽相結合，從而可以將所需電噴灑的紙尖自由移動對準到質譜儀的入口。



圖 3-2 本研究中所使用的 3D 列印機 Ultimaker 3 Extended，具有雙擠出機的設計，能夠列印兩種材料所構成的組套件。

本研究中，使用商用雙擠出 3D 列印機(Ultimaker 3 Extended, Ultimaker, USA) 如圖 3-2，同時列印 ABS(UM1622, Ultimaker, USA)及碳黑修飾 ABS 導電高分子 (Conductive ABS Filament 3.0 mm, ALIEN 3D, China)。因此，具有嵌入式導電電極的卡匣可以在單個列印過程中完成，使用商業軟體(SolidWorks, Dassault Systèmes S.A, France)設計卡匣，必須注意導電材料與非導電材料必須分開繪製，以 stl 副檔名儲存。使用 3D 切片軟體(Cura, Ultimaker, USA)開啟物件檔案，分別設定 ABS 與

ABS 導電高分子的物件，並在需要組裝導電與非導電物件在軟體中進行對位組裝，軟體將定義每一層的材料，以 G-code 檔案(.gcode 副檔名)出至 3D 列印機。3D 列印機之噴頭的溫度設定為 260°C，加熱板溫度設定 80°C，列印速度提升為 60 mm/s，以 20%之層材，積層厚度為 0.1 mm 進行列印。最終。通過雙擠出 3D 列印，可以在單個列印過程中完成生產，並將設計的卡匣上蓋、結構層、抑制電極滑動底座組合在一起，便完成卡匣的製造。

在本研究之紙基流體卡匣中，用於二維紙層析及紙電噴灑游離的紙基流體晶片，是使用商業 CAD 軟體(AutoCAD, Autodesk, USA)設計，然後使用二氧化碳雷射雕刻機(LaserPro Venus II, GCC, Taiwan)，在市售定性濾紙(Whatman No.42, Sigma-Aldrich, USA)，孔徑 2.5 $\mu$ m，厚度 0.2mm，過濾時間 240 秒，普遍用於定性分析中，濾紙材料由碳酸鈣、硫酸鋇組成，是 WHATMAN 濾紙中滯留粒徑最小的一種。此定性濾紙之孔徑率、厚度及濕強度對生化樣品及展開液之流速適中，因此非常適合在本研究中作為之晶片的材料。紙片角度的部分，在同一電場條件下，較小的紙片尖端角度(30 $^{\circ}$ )，會產生較寬的電噴灑噴霧，相對於質譜儀之毛細管入口，大部分游離樣本無法進入，而較大的紙片尖端角度(90 $^{\circ}$ )，會產生較窄的電噴灑噴霧，容易形成導電通路，與質譜儀產生電暈放電導致停機。在雷射雕刻機的參數設定方面，將每英吋像素(Pixels Per Inch, PPI)固定為 1500 PPI，加工速率為 100.0 mm/s，使用 2.4 W 的雷射功率的以及便足以切斷濾紙，若使用低功率 1.2-1.6 W 切割濾紙，便可以得到切割線而不會直接切段紙片。紙晶片由市售濾紙進行雷射雕刻而成，因雷射雕刻可以輕易調整功率及列印速度，在配合上適當的定性濾紙，高精度的雷射雕刻可以定義出紙晶片所需的圖案，如紙尖端、犧牲翼及二維層析側翼。其中，低功率雷射雕刻之犧牲翼，可以允許一維層析之大部分移動相通過，避免了因紙片兩端毛細作用力的不同造成的拖尾現象，一維層析後便可摘除犧牲翼，露出紙電噴灑所需之紙片尖端。最後，3D 列印的卡匣與雷射雕刻的紙晶片組裝，便可以進行快速的生物樣本前處理。本研究致力於開發低成本、低污染、易於使用及易於製造的紙基流體卡匣。為了列印綜合多個功能的紙基流體卡匣，利用雙擠出 3D 列印機進行單一



製程生產，雷射雕刻濾紙非常易於量產製造，且適合跨領域的應用，與傳統樣品前處理方式相比，不需要大型的實驗室設備及昂貴的耗材，低成本且可以現場使用的檢測技術使藥物濫用篩檢有機會達到檢測技術普及化的目標。

### 3.1.2 實驗原理綜述

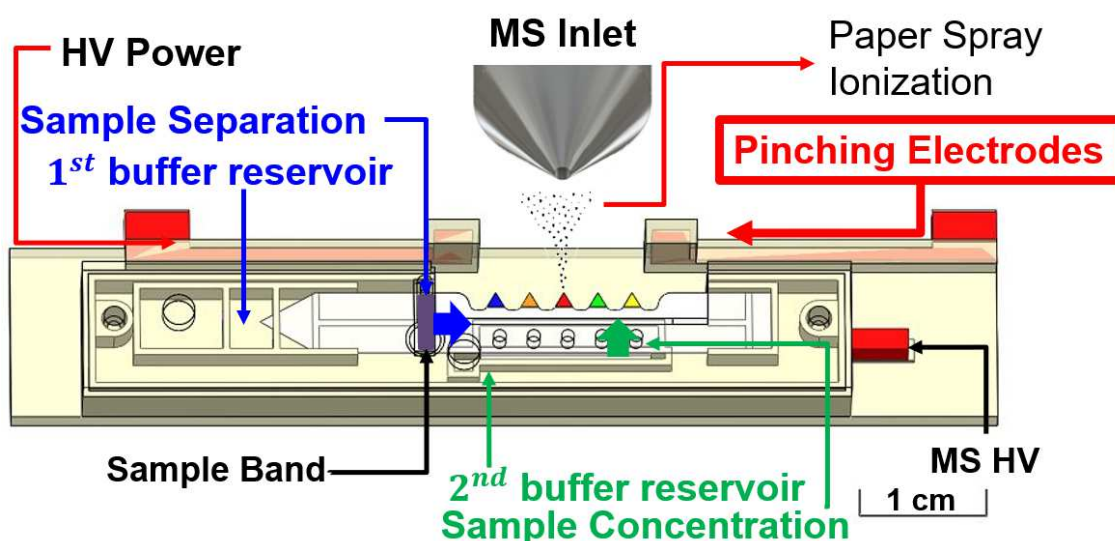


圖 3-3 創新紙基流體卡匣系統於質譜分析之架構示意圖。

由於紙層析之理論板數在 2000 左右，因此在約 1.5 公分之多紙尖層析區域當中，5 個紙片尖端是可接受範圍，若是分離距離不變下增加更多尖端，將會造成更嚴重的多重電噴灑現象。分離長度方面，越長的分離距離，可以分離更多樣本，但控制紙片上濕潤程度的難度將大幅提高。本研究之一維層析展開液為甲醇，為極易揮發之溶劑，若是加長分離區域，容易造成紙片濕度嚴重不平均，而只有濕潤地紙晶片區間會有層析的效果，導致樣本在某個區域大量堆積。在圖 3-3 的操作過程中，將 2.0  $\mu\text{L}$  樣品施加到樣品入口中，然後通過一維紙層析緩衝液(80.0  $\mu\text{L}$ )之毛細現象對樣品進行展開。特殊的雙槽設計可精確控制緩衝液的流速。雷射雕刻紙流體晶片上的犧牲翼，可最大程度減少樣品殘留，並改善紙層析過程中的樣品分離，於

一維層析分離後摘除。樣品分離後，注入二維層析緩衝液(10.0  $\mu\text{L}$ )，長狹縫之儲液槽利用毛細作用力使緩衝液被均勻的吸入紙片，將分離開的樣品帶均勻推送到紙片尖端，完成樣本二維紙層析濃縮。最後，將質譜儀高壓電連接到卡匣內之嵌入式電極，以產生用於質譜檢測的紙電噴灑游離。通過本研究之二維紙層析質譜法，使用移動質譜儀實現現場採樣、分離及檢測。該系統特別適用於檢測低分子量的小型化合物，例如毒品、農藥及尼古丁。然而，圖 3-4(A)中，紙電噴灑游離在相對較大的施加電場範圍內(6.2-8.7 kV/cm)發生。因此，一旦向電極上施加高電壓以進行紙電噴灑游離，相鄰的尖端也將同時達到足夠的電場，從而產生不希望發生的電噴灑。相鄰尖端多餘的電噴灑會導致樣品浪費及較差的檢測結果，因為一維層析分離的優勢受到損害，從而導致質譜檢測效能下降。

### 3.2 庫倫斥力抑制電噴灑

在本研究中，樣本帶在紙片上經由第一維紙層析分離後，摘除犧牲翼並露出多紙尖結構，然後進行第二維層析濃縮，將被分離的樣本濃縮至紙尖端，最後將質譜正高壓電接上內嵌高分子電極，進行最終之質譜偵測。然而，在多紙尖結構中，電噴灑溶劑的施加，因毛細現象的擴散，將導致除了中央紙尖之外的鄰近紙尖也達到相當高的電場，因此產生多紙尖電噴灑情形。此現象造成不必要的樣本消耗，直接導致層析分離及質譜分析的效能低落。紙電噴灑的工作原理為在廣義定義的尖端上施以正高壓電，帶正電的離子因為斥力而被排斥到紙片尖端，尖端帶正電的溶液因庫倫斥力形成泰勒錐，最終當庫倫斥力大於表面張力時，正離子團突破泰勒錐形成電噴灑。因此，本研究開發一創新抑制電極，如圖 3-4(B)所示，利用庫倫斥力，在外接的一對抑制電極上施以一正偏壓，正偏壓將會產生抑制電場，電場的大小與距離平方分之一成正比，位於抑制電極正中央的紙片尖端因為距離抑制電極最遠，將受到最小的斥力干擾，在適當的抑制電場下得以保留，且在電噴灑過程中，正電荷傾向於朝著最大壓降處前進，保留中央電噴灑同時也有助於維持單一電噴灑狀

態。反之，距離抑制電極越近的紙片尖端，將受到較大的庫倫斥力，帶正離子之溶液受干擾且電噴灑被抑制，成功在多紙尖結構中實現單一電噴灑。

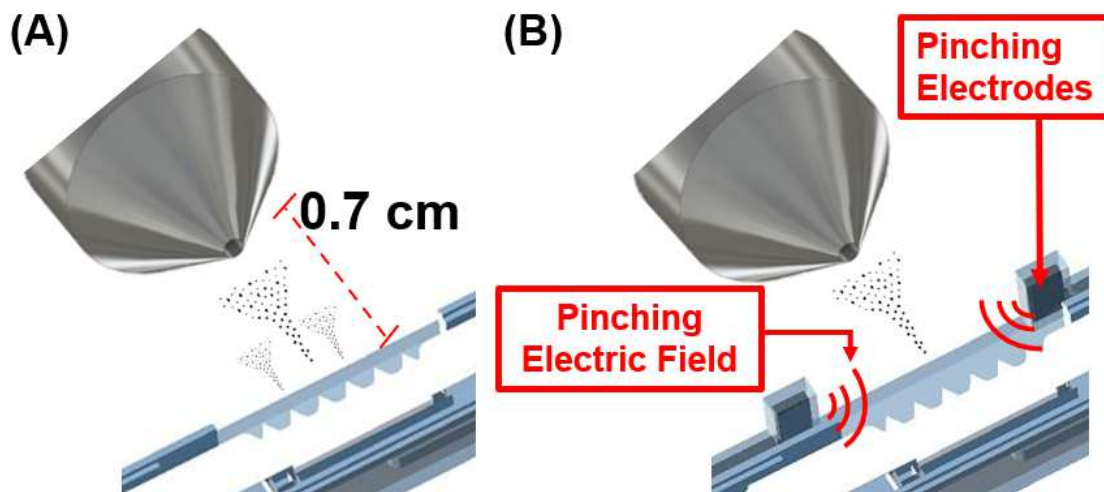


圖 3-4 (A)多重電噴灑與(B)單一電噴灑之示意圖，在質譜檢測過程中，鄰近尖端發生的電噴灑嚴重影響整體檢測效能。

### 3.3 創新抑制電極結構

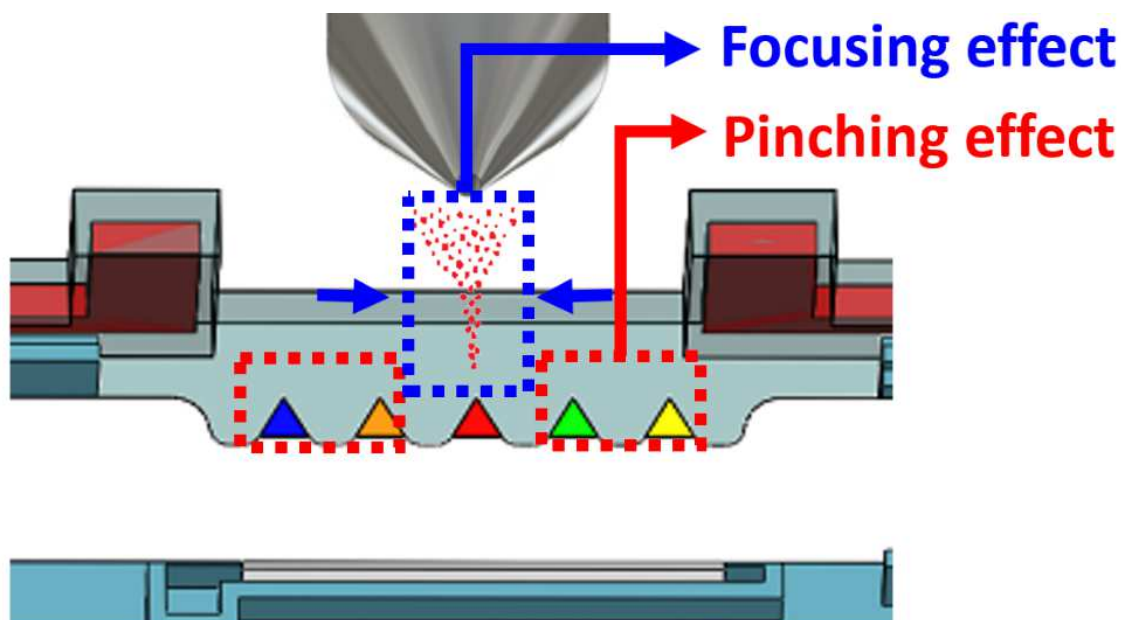


圖 3-5 抑制電極之電場影響下保留單一紙尖電噴灑游離狀況，及抑制電極產生的抑制效應及聚焦效應。

在過去的研究中，待測物經由層析分離濃縮，達到很好的樣本純化效果，而多紙尖的結構，是基於能夠在卡匣上直接當作質譜游離源，以降低污染源並提高訊雜比為原則而設計，避免直接接觸卡匣內部或是裁切紙片是必要的。而在進行紙電噴灑游離質譜法時，濕潤的紙片將視其為導體，而使得多重電噴灑的發生，導致檢測效能低落及操作難易度提高。因此，解決多紙尖結構上的多重電噴灑是非常有價值的。

本研究設計一對抑制電極，抑制電極的工作原理是因為抑制電場對紙尖的影響是距離平方的倒數，離抑制電極越近的紙尖抑制電場越高，中央紙尖抑制電場最低，因此不僅保留中心的電噴灑噴霧，並且在適當的電場下會抑制鄰近紙尖的多重電噴灑(圖 3-5)。在用於質譜檢測的紙電噴灑游離過程中，質譜儀高壓電連結至紙片，將設計的抑制電極連接到另一個高壓電源供應器(低於產生電噴灑游離的電壓)。在高電場  $8.5 \text{ kV/cm}$  的驅動下，帶電離子被排斥到紙片尖端處，產生平衡的泰勒錐，當正離子之庫倫斥力大於表面張力時，產生紙電噴霧灑，而釋放出的電噴灑噴霧為帶正電之液滴。因此，在抑制電極的正電場斥力影響之下，正離子之噴霧會往抑制電極中央移動，主電噴灑噴霧將聚焦在質譜入口處，達到聚焦效果。

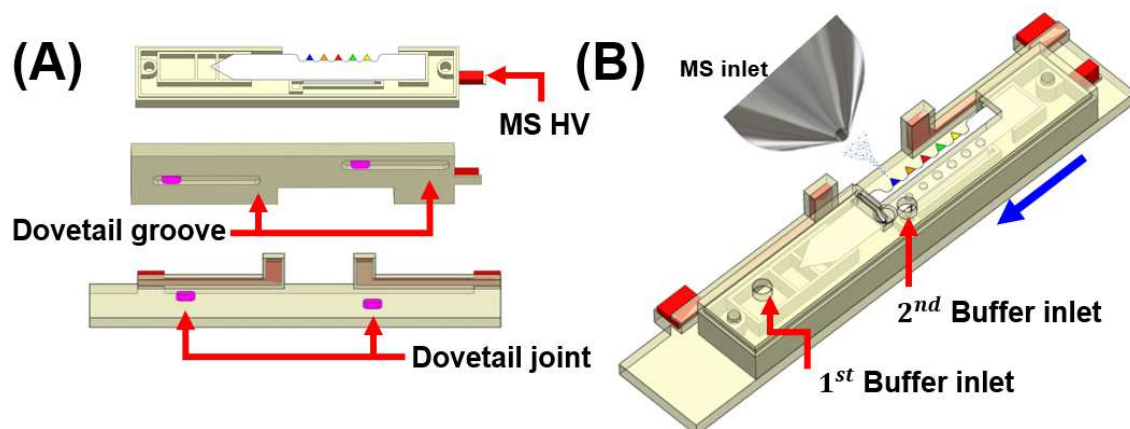


圖 3-6 (A)嵌入式電極及鳩尾槽結構設計的爆炸圖。(B)使用滑動底座依次對各個欲噴灑的紙片尖端進行紙電噴灑游離質譜分析。

在檢測過程中，本研究設計的抑制電極滑動底座連接至上卡匣，鳩尾槽允許卡匣層析結構層在滑動底座上移動，使本研究架構更容易操作。抑制電極卡匣底座由雙擠出 3D 列印機製造，能夠同時列印兩種材料因此可在單一製程下完成。嵌入式導電聚合物電極連接到質譜高壓，欲噴灑的紙片尖端也得以依順序與質譜入口對位，以進行紙電噴灑游離及質譜檢測，如圖 3-6。

在抑制電極的設計上，本研究使用商用多重物理場模擬軟體(COMSOL Multiphysics, COMSOL Inc., Sweden)，來驗證抑制電極結構在本研究中的效果，以及設定不同抑制電極形狀、間距及施加的電壓大小，最佳化的抑制電極設計參數。除此之外，本研究使用一 USB 數位顯微鏡，用來記錄卡匣上紙電噴灑及多重電噴灑被抑制的影像，放大倍率最大達 500 倍。解析度為 1600x1200 DPI，自帶可調式光源及快門按鈕進行實時截圖，以 USB 連結電腦紀錄影片或相片。後續以公共的圖像處理軟體(ImageJ, National Institutes of Health, USA)分析紙電噴灑之面積與抑制電場作用下之面積變化，作為評估抑制電極效能之依據。

### 3.4 實驗系統架設

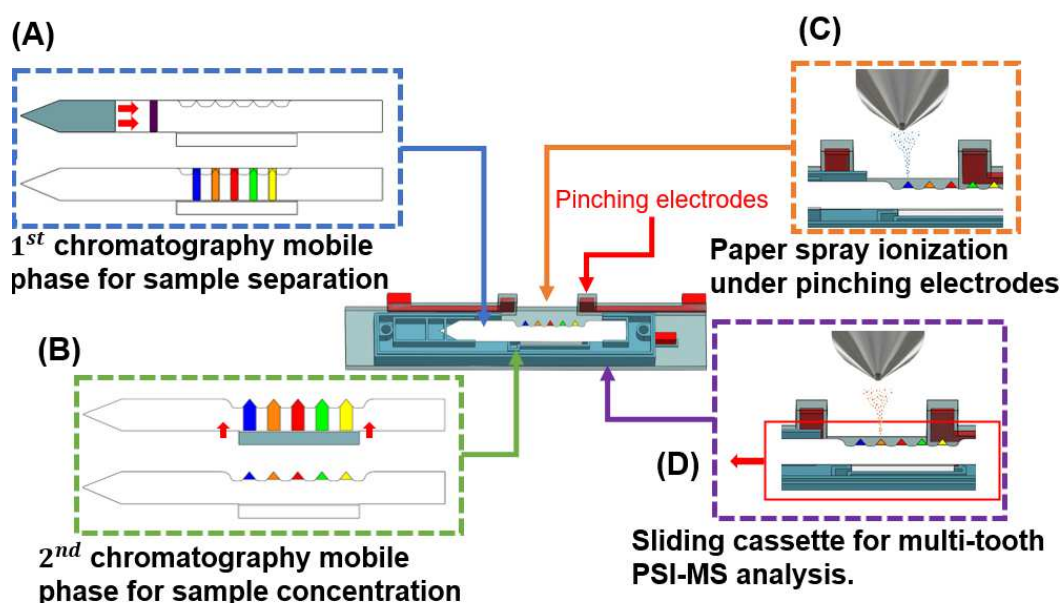


圖 3-7 插圖顯示了已開發的紙基流體卡匣的兩個主要功能，包括用於樣品分離及濃縮的二維層析法以及用於高效紙電噴灑游離及質譜檢測的滑動抑制電極對。

本研究由二維紙層析法與紙電噴灑質譜法聯用之技術，如圖 3-7 分析步驟所示，由 3D 列印之卡匣、抑制電極底座及雷射雕刻之紙晶片組合而成，設備包含一質譜儀及高壓電源供應器。在樣品純化的過程中，2.0  $\mu\text{L}$  的樣本從進樣口注入形成一樣本帶，第一維層析分離由 80.0  $\mu\text{L}$  甲醇水(甲醇:水=1:1)注入第一維層析儲液槽，展開液隨之分離樣本帶至後端的電噴灑區域。層析分離完成後，待紙晶片乾燥後，摘除一維層析之犧牲翼，顯現出紙電噴灑游離之多紙尖結構。接著注入 10.0  $\mu\text{L}$  之甲醇水展開液至二維層析儲液槽，此狹縫儲液槽幾乎只容納紙晶片之吸水側翼，因此毛細作用力均勻地將被分離之樣本帶推送至紙尖尖端，以此達到樣本濃縮，並提升質譜離子訊號強度。

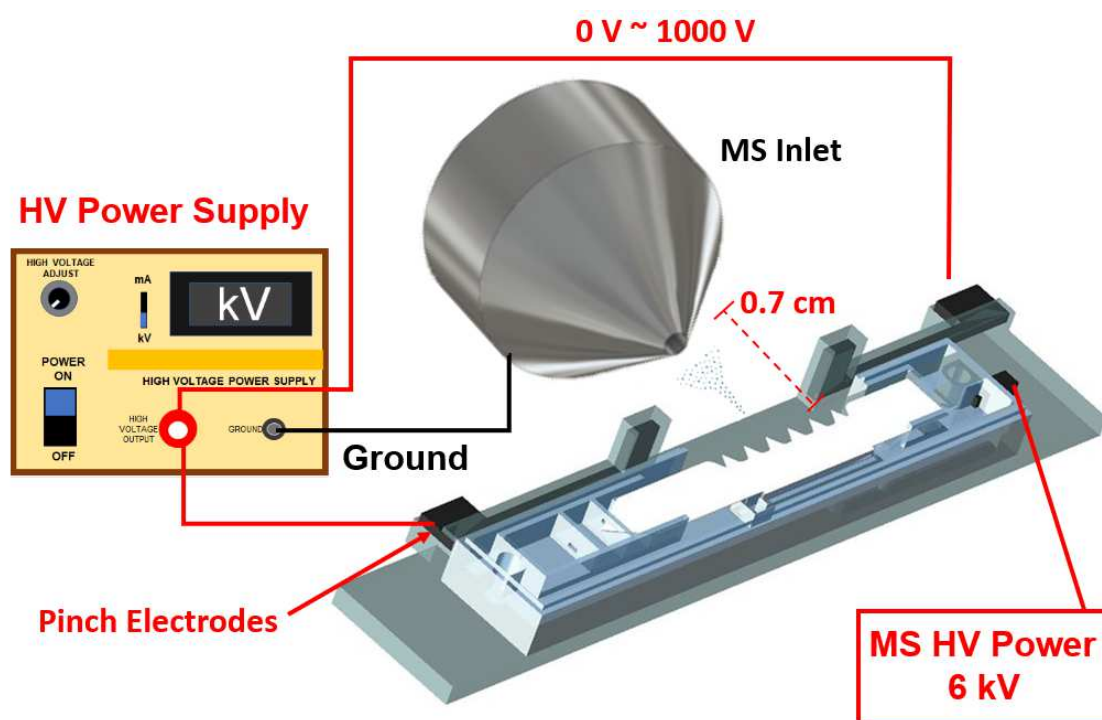


圖 3-8 本研究系統接電方式，插圖顯示了內嵌導電高分子電極與創新抑制電極對分別連接質譜高壓電與外接高壓電源供應器。

本研究的最終的分析步驟，如圖 3-8 所示，抑制電極將連接額外的高壓電源，在抑制電場的影響下確保只有欲噴灑的紙尖發生紙電噴灑游離，同時卡匣內的導電高分子連接質譜儀之高壓電，欲分析的紙片尖端結構形成穩定之電噴灑羽流，產

生霧化、去溶劑、離子化等游離過程。帶正電的離子被質譜入口的負偏壓吸引進入質量分析器，透過可調整的質荷比範圍，只有設定範圍內的正離子透過交替的電場而震盪前進，因質荷比不同而有相異的抵達時間，化合物含量的多寡對應到偵測器電訊號強度，最終經由質譜儀分析計算後，得到轉譯後的質譜圖，藉此可以觀察複雜混合物中的化合物種類。

本研究使用離子阱式質譜儀(LCQ DECA XP Plus, Thermo Fisher Scientific, USA)作為終端檢測設備，如圖 3-9 所示。相較於其他化學檢測技術如比色法、電化學法或顯微法，質譜法在定性及定量分析上都有非常強大的處理能力，也常用來當作法律規定的檢測方法。而離子阱相較於其他種類的分析器，體積小、掃描速度快，具有相對高的靈敏度，屬於緊湊型的質量分析器，非常適合針對目標化合物的荷質比進行定性分析。本研究所使用的離子阱質譜儀，主要由紙電噴灑游離源、三重四極柱之質量分析器、離子阱質量分析器及離子偵測器組成。離子阱的原理是在質量分析的腔體內設定兩個環狀電極，電極會根據選擇的質荷比範圍而產生相對應的電場震盪，只有目標內的離子會被篩選至質量偵測器。大於掃描範圍之離子，同樣會在固定的震盪電場中震盪，但過高的質荷比導致振幅越來越小最終撞上四極柱呈電中性。小於掃描範圍之離子，在固定電場中振幅會越來越大，最終同樣撞上四極柱呈電中性。

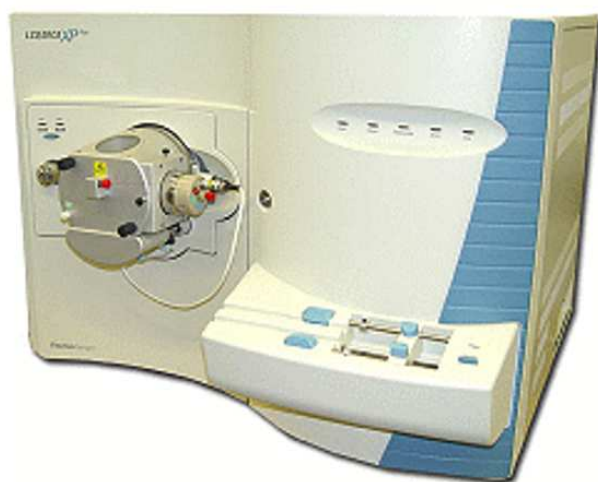


圖 3-9 本研究所用的 LCQ Deca XP Plus 離子阱質譜儀。

本研究所使用的質譜儀參數如下：質譜提供的高壓電設定為 6.0 kV，並連接至導電高分子電極，紙片尖端距離質譜入口 7.0 mm，產生約+8.5 kV/cm 之電壓梯度，以甲醇水 1：1 體積比(V/V)10.0  $\mu$ L 作為電噴灑緩衝溶液，質譜入口的毛細管溫度設定為 150°C，以利於溶劑(甲醇水)揮發，質譜通道的偏移電壓設定為-100.0 V。在進行單一三角形紙片紙電噴灑質譜法時，3.0-4.0 kV/cm 之電壓梯度足以產生紙電噴灑，並能夠成功偵測到三角形紙片上之樣品。但在本研究中，因為周圍紙尖同時濕潤，也具有高電壓，對欲噴灑之紙片尖端的電場也有抑制現象，經過測試，大約需要 8.5 kV/cm 之電壓梯度才足以讓本系統之多紙尖結構進行紙電噴灑游離，如此才能提供最基本的質譜檢測要求，如圖 3-10 所示。然而，在實際操作時，紙片尖端與質譜入口相對高的電場容易因為操作不當，導致紙片尖端對質譜電暈放電，此現象雖然有質譜的保護措施避免更重大的意外，但質譜必須重新開機且離子偵測器也在瞬間被迫關閉，對各個元件都可能造成損傷。因此，為維持實驗的安全性，本研究在平台上架設一手動 XYZ 三軸滑台，確保實驗架設在施加高壓電壓時可以微量調整距離。

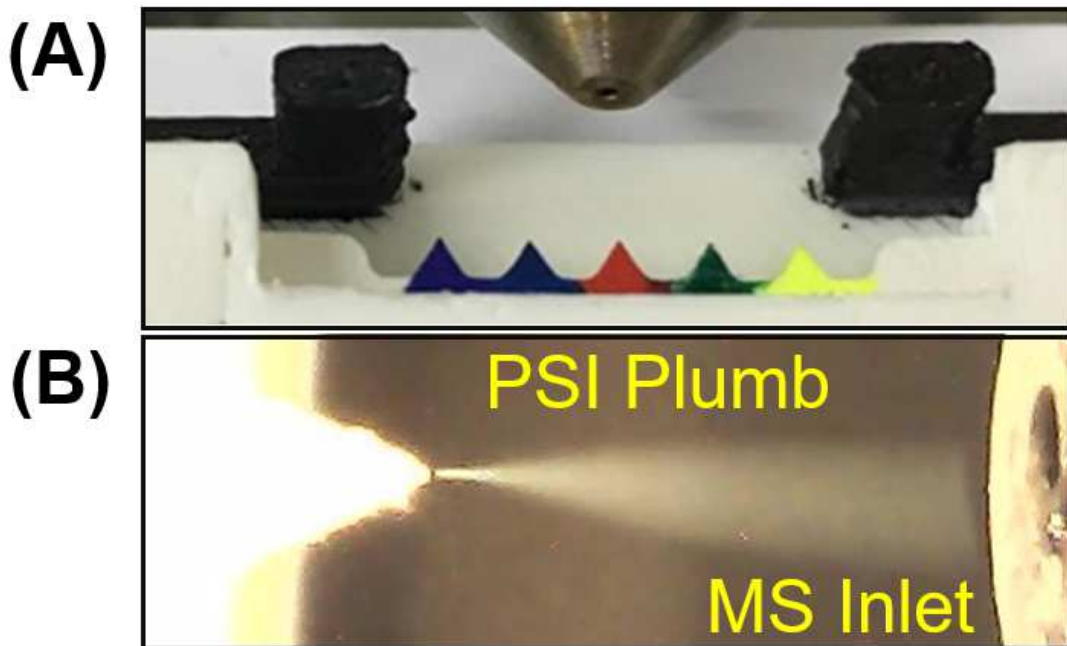


圖 3-10 照片顯示(A)多紙尖結構架設於質譜入口前之示意圖及(B)在抑制電場作用下在卡匣上實際產生紙電噴灑游離。



### 3.5 實驗檢測目標

目前主流的精準藥物檢測技術，仍為 GC-MS 或是 HPLC-MS 之相關技術，雖然這些方法具有非常良好的定性及定量分析能力，但因樣品前處理繁瑣、偵測條件嚴苛、需要實驗室大型設備等缺點，限制其在快篩方面的應用與發展。

實驗設計方面，由於多紙尖結構下發生多重電噴灑，使得層析成果失效及樣本的浪費，並造成干擾訊號等問題，進而導致檢測效能低落。創新的抑制電極是一解決方法，但是尚未有最佳化之設計結果。因此首先就抑制電極的設計著手，利用 COMSOL 模擬軟體找出在本系統結構下最佳的抑制電極間距，進而探討在不同電壓下的模擬結果，驗證抑制電極確實有效。

將抑制電極架構透過 3D 列印製造，並實際探討使用抑制電極對真實電噴灑的影響，使用影像分析軟體量化抑制成效，分析抑制電場對鄰近電噴灑的面積縮減率之影響。再者，分析抑制電極對中央電噴灑的聚焦效應，利用標準品來偵測在不同抑制電場下，同一個標準品偵測到的質譜總離子強度及訊雜比(Signal to Noise Ratio)，藉此量化抑制電極的聚焦效應，找到最適合的抑制電場，使得可靠度及整體效能大幅提升，是本研究的最大特點之一。

本研究開發一 3D 列印紙流體卡匣整合電噴灑抑制電極於高效能質譜檢測，在樣本前處理上，包含了進樣，第一維層析分離、第二維層析濃縮，利用樣本、展開液與紙晶片之間極性的不同，使混合物中的化合物在紙晶片上遷移速率產生差異，藉此達到樣本分離。取代傳統 GC-MS 或是 LC-MS 所需要的大型設備以及所需要的分離時間，創造一高效能、易使用、低汙染源、適合量產的樣品前處理裝置，整合質譜所需的游離源，只需要一台桌上型移動式大氣質譜儀，便可在現場採樣分析中，精準且迅速地得到分析結果。本研究之電噴灑游離質譜法，游離能量較低，不易產生離子碎片，適用於極性化合物之分析，若是分析未知樣本，則可以針對欲分析之藥物(維生素、感冒藥、安眠藥、中草藥、精神活性藥物等等)之質荷比進行追蹤。若是欲分析弱極性化合物，則可以使用較高能量的游離方法(電子電離、電暈

放電化學游離)，對弱極性化合物游離，才可以透過質譜儀檢測。

因此，本研究之實驗設計，首先由天然植物樣本樟樹葉作為待分析的複雜混合物，直接將樟樹葉搗碎並取其碎末，利用甲醇萃取得到樟樹葉萃取液。樟樹葉可以作為驗證層析分離系統的效能，比起直接分析混合物，層析分離的優點是可以分離混合物主要成分，並層析出更多低含量之待測物以利於後續分析。在質譜檢測中，若不經過樣本前處理而直接分析，主成分會響應出非常強的電訊號，以致於待測物之若訊號將被強訊號壓過，而很難被發現。本系統便是用此原理，將混合物分離在多重紙尖端結構，藉此偵測樟樹葉中的不同成分。測試植物樣本中的農藥殘留也是本研究的應用之一，水蜜桃作為相當嬌貴的水果，且水蜜桃表面之絨毛結構導致清洗不易，容易有農藥殘留。本研究取用 5.0 g 水蜜桃皮，搗碎後加入 10.0 mL 之甲醇，放入超音波洗淨機 5 分鐘萃取，取 2.0  $\mu$ L 作為待測樣本。

驗證層析分離質譜分析的效果之後，本研究主要目的為開發一個藥物濫用快篩裝置與質譜儀聯用進行快速、高精準度、可靠的藥物殘留分析。因此本研究首先分析人體皮脂樣本，採樣來自受試者服用維他命 C 錠兩個小時後之臉部皮脂，樣品經過萃取、二維紙層析純化後，搭配創新抑制電極，使用離子阱質譜儀，追蹤維他命 C 之特徵離子碎片進行針對性量測。

藥物攝取進入人體後，將因時間推移而被各種方式代謝，尿液是最常被用來檢測藥物濫用的樣本，優點是非常容易取得，且在攝入藥物後約 5 天內都可能在尿液裡殘留。在台灣，藥物濫用之標準尿液檢驗分為初步定性檢測及最終的定量檢測。初步檢測通常使用酵素免疫分析方法用於剔除陰性檢體之檢驗，尿液檢體中非法藥物或其代謝物之濃度在某閾值以上時，應判定為陽性，檢測時間約為 15 分鐘。如安非他命類藥物閾值為 500.0 ng/mL，鴉片代謝物閾值為 300.0 ng/mL，大麻代謝物閾值為 50.0 ng/mL。定性檢測結果在閾值以上或是有疑慮的樣本，將經由氣相層析質譜分析，做為最終法庭證據，檢測時間約需 3 小時。尿液樣品將進行複雜的前處理過程，包含水解、萃取、衍生化等，過濾色素、鹽類、尿素、肌酐及殘留的水解酶，降低基質效應並且純化樣本，最後打入氣相毛細管柱進行樣本分離及質譜檢

測。然而，在標準的尿液檢測中，酵素免疫分析法只針對常見的毒品進行篩檢，但日新月異的精神活性藥物，導致需要開發更多高度特異性之檢測試劑盒，成本高且檢測能量不足。此外，酵素免疫分析法容易受到其他藥物干擾，因此容易摻假，例如治療鼻炎之藥物苯丙醇胺(Phenylpropanolamine)與偽麻黃鹼(Pseudoephedrine)可能造成安非他命檢測假陽性。在初步檢驗往最終檢驗的過程中，尿液樣本還需要細心保存避免降解，保證運輸過程的安全性。最終之氣相層析質譜法檢測，則需要大型實驗室設備、訓練有素的專業操作人員才得以順利進行，長時間的質譜分析導致檢測效率不彰，可能會失去定罪黃金時間。本研究便採用受試者服用市售黑咖啡兩小時後之尿液樣本，來驗證本研究架構確實可以在人體代謝物中檢測短期的藥物濫用，省去複雜的尿液前處理過程，利用本研究二維紙層析來純化尿液，取 2.0  $\mu\text{L}$  作為待測樣本，如圖 3-11。

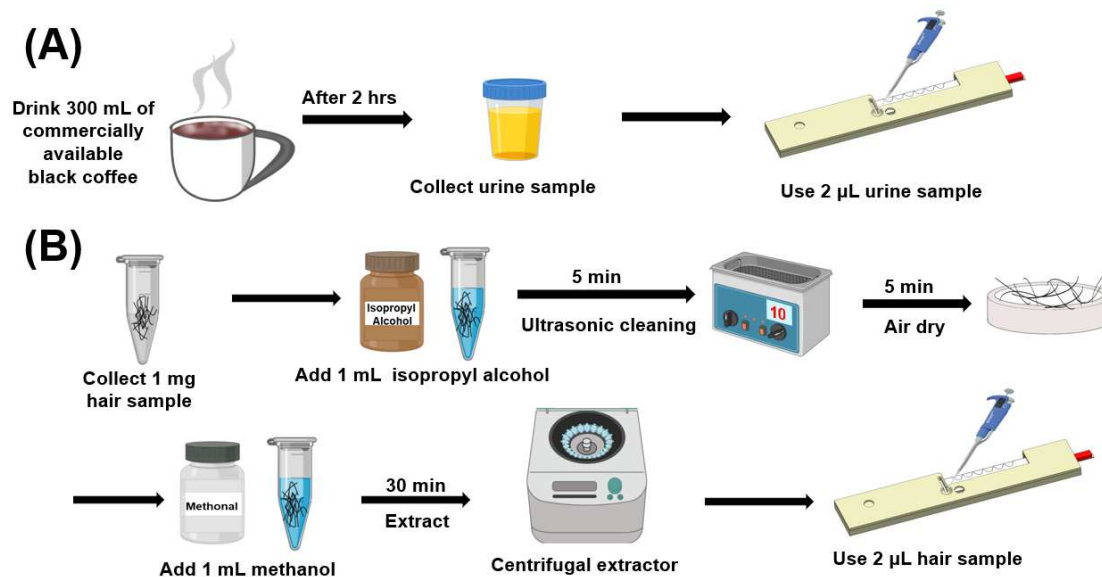


圖 3-11 尿液樣本採樣及頭髮樣本之萃取過程。

然而，若要追蹤一周以上的長期藥物濫用狀況，尿液分析較不實用，因為受測者只要在適當的時間戒斷藥物，便可以輕鬆通過尿液測試。頭髮是一種很好的檢體，優點包含性質安定、容易保存且不易造假，藥物攝入人體後雖然大約需要 7 天才

能在頭髮樣本中被偵測到，但可能在一年內都有可能在頭髮中測得藥物殘留證據。標準的頭髮藥物殘留檢測前處理包括秤重、清洗、超音波振盪及固相萃取，為確保足夠的待測物被萃取出，經常需要 12-18 個小時的萃取及孵育時間，最後採用高效液相層析質譜法進行檢測。本研究採用長期吸菸者之頭髮樣本，作為實驗用檢體，與傳統萃取方法相比，僅需要 45 分鐘即可完成秤重、清洗、萃取等樣本前處理，最終使用 2.0  $\mu\text{L}$  作為二維紙層析法之待測樣本。如圖 3-11 所示，驗證本研究架構確實可以在頭髮樣品中，得到長期藥物殘留證據。

### 3.6 實驗溶液配製

- (一) 本研究使用市售 HPLC 級的甲醇，作為二維紙層析之展開液，80.0  $\mu\text{L}$  用作第一維層析分離，10.0  $\mu\text{L}$  用作第二維層析濃縮。
- (二) 紙電噴灑質譜法所使用之輔助去溶劑，由去離子水(DI water)與甲醇以 1:1 之體積比配製，單一紙尖進行紙電噴灑游離法時每次添加約 15.0  $\mu\text{L}$ 。
- (三) 本研究使用樟樹葉作為分析天然植物之一，取三片新鮮的樟樹葉樣本，將其搗碎後與 5.0 mL 之甲醇混合，經濾紙過濾雜質後得到萃取溶液，取 2.0  $\mu\text{L}$  作為二維紙層析質譜法之樣本。
- (四) 水蜜桃表皮樣本作為農藥快篩檢體，以 5.0 g 水蜜桃皮，搗碎後加入 10.0 mL 之甲醇，放入超音波洗淨機 5 分鐘萃取，取 2.0  $\mu\text{L}$  作為待測樣本。
- (五) 皮脂生物樣本由受試者攝取藥物前先清過臉部清潔，再服用市售維他命 C 錠(1000.0 mg)及純水(300.0 mL)，經過兩小時後，使用採樣環從臉部皮膚刮取皮脂，溶於 2.0 mL 之乙醇中，得到皮脂樣本溶液。
- (六) 尿液樣本從年輕男性採樣。受測者攝取市售的 275.0 mL 無糖黑咖啡(UCC Black, UCC, Japan)，經過兩個小時後蒐集人體排泄之尿液，直接當作本研究之尿液樣本。
- (七) 頭髮樣本是從中年男性吸煙者採樣。將 1.0 mg 之毛髮樣品在超音波洗淨

機中用 1.0 mL 異丙醇清洗 5 分鐘，去除頭髮上大部分的雜質，且異丙醇避免了因頭髮膨脹而造成的不必要萃取。然後將清潔的頭髮乾燥，放入 1.0 mL 甲醇中使用離心機萃取樣品 30 分鐘，取其 2.0  $\mu$ L 萃取液。

## 第四章 實驗結果與討論

### 4.1 抑制電極效能分析

本節主要討論本二維紙層析質譜法卡匣系統中，創新抑制電極之效能分析。利用 COMSOL 模擬最佳化電極設計，實際 3D 列印出配合本研究二維紙層析卡匣之電噴灑抑制。針對鄰近紙尖區域之電噴灑抑制率，以影像處理進一步分析，量化抑制電極的電噴灑羽流抑制率，也針對抑制電極對中央電噴灑羽流的聚焦，以質譜之總離子濃度量化抑制電極帶來的電噴灑聚焦效應。

#### 4.1.1 新型二維紙層析紙電噴灑質譜法系統

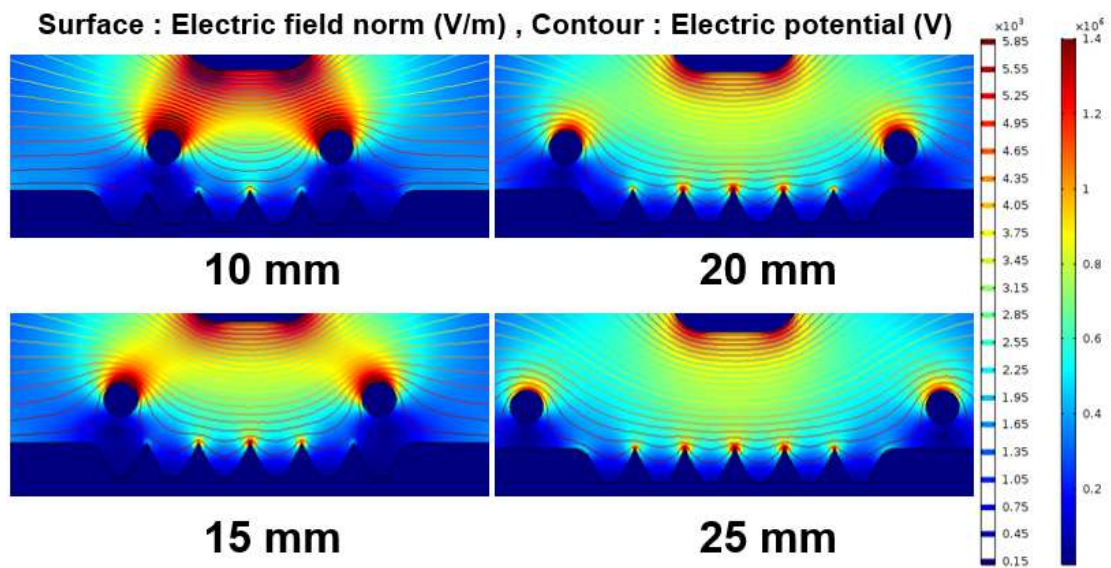


圖 4-1 在 COMSOL 中，計算了不同抑制電極距離下的電場分佈。可以判斷在 15 mm 的抑制電極間距下得到最好的模擬效果。

在多紙尖結構上發生的多重電噴灑導致檢測效能的低落，原因是在紙尖區域都達到足夠的電場導致多重電噴灑的發生。而本研究為了解決這個問題，設計一對碳黑導電高分子的抑制電極。為優化抑制電極的設計，本研究使用 COMSOL 中的幾何工具來模擬不同設計的電場分佈。首先使用 COMSOL 模型精靈，使用 2D 靜電

物理介面，可設定各個物件之電位、浮動電位、接地……等等，此介面常常被用來求解電位能，電荷守恆為主要特徵，具備定電位移場組成關係式的設定視窗。

使用 COMSOL 內的幾何繪圖套件，繪製出包含質譜入口、多紙尖結構之紙晶片及抑制電極。定義所有物件材料為銅，空白處之材料為空氣。設定物件之電壓，將質譜端設定為接地端，紙晶片端設定為 6.0 kV 並距離接地端 0.7 cm，抑制電極的操作電壓以及電極間距作為本次模擬之操作變因。在模擬結果的呈現上，色塊代表的是電場(V/m)，輪廓線代表的是電壓等位線(V)。圖 4-1 顯示出當施加固定的抑制電壓(6.0 kV/cm)時，在改變抑制電極間隔之後獲得相應的電場結果。模擬結果表示，當電極間距為 25.0 mm 時，由於距離長，對多紙尖區域的電場影響效果微不足道，可以看到最外側的紙尖端仍然維持相當高的電場。當電極距離縮短到 15.0 mm 時，可獲得最佳的抑制效果，有效削弱鄰近的電場並維持中央的電場強度。但是，當距離為 10.0 mm 時，因電場與距離的平方成反比，則過度的抑制電場會導致中央電場強度也被大幅削弱。

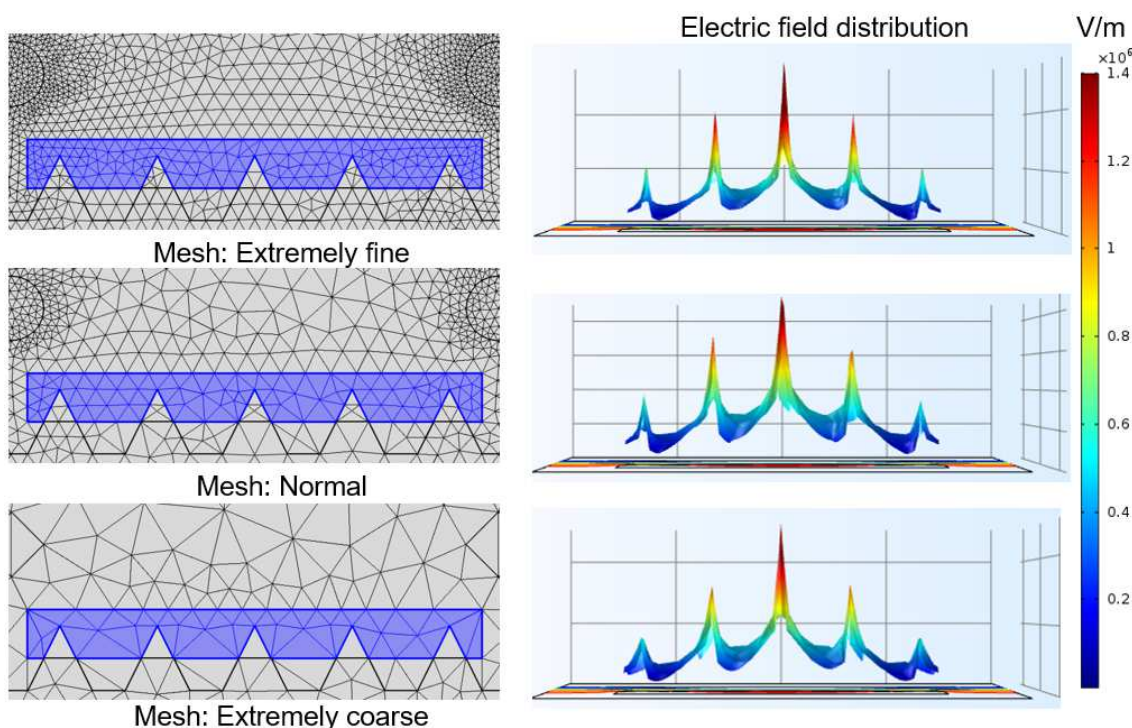


圖 4-2 在 COMSOL 中，在相同條件下(6 kV 抑制電壓、8.5 kV/cm 紙電噴灑電場)，不同網格密度計算出紙電噴灑尖端區域之電場分布。

在圖 4-2 中，使用物理控制的網格並選擇極端細化的元素尺寸，在任意點的電場為在該點附近被定義網格計算的平均值，在極端粗糙的網格中，抑制電極的表面網格分布對於細節描繪模糊，電力線分布將會更不均勻，最細緻的網格可以得到更準確的電場值。

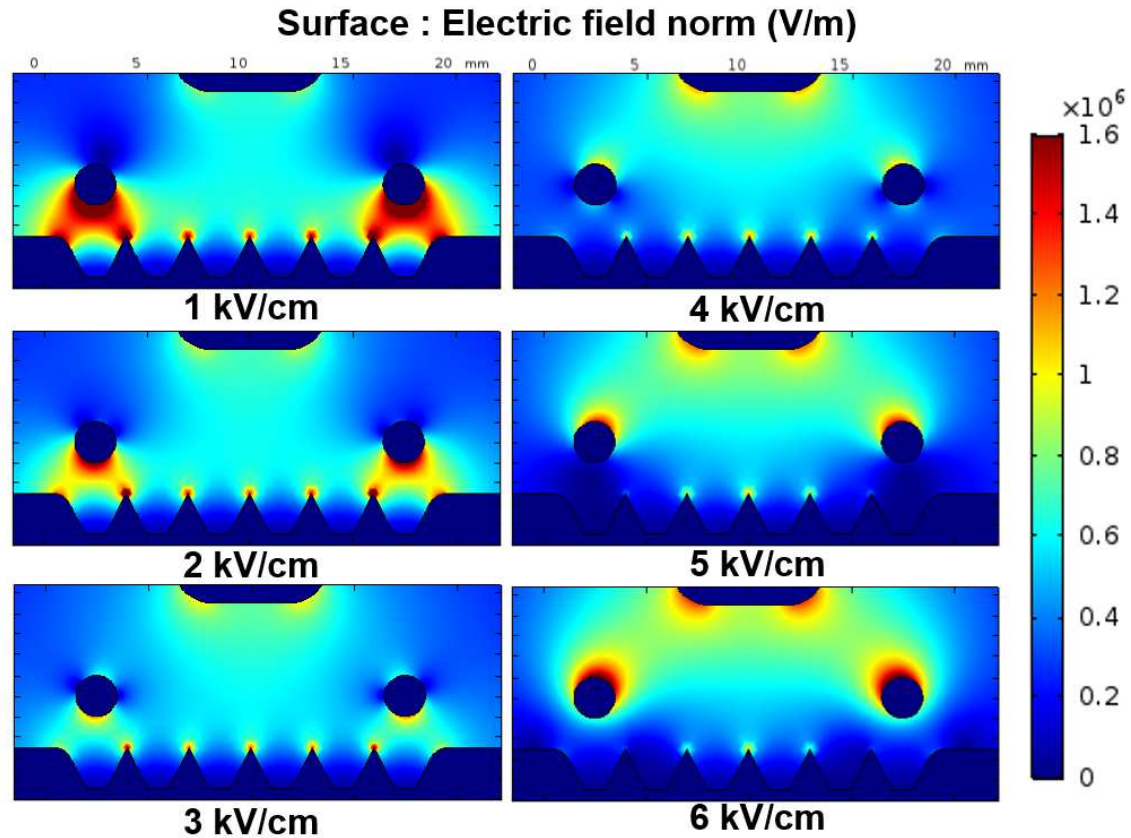


圖 4-3 在固定的電極距離下不同的抑制電場及計算出的電場分佈。

確定最佳電極間距後，使用 COMSOL 觀察最佳抑制電壓。從圖 4-3 中可以看出，當施加較低的抑制電壓(1.0-3.0 kV/cm)時，抑制電極太靠近外圍紙尖，導致高電場導致電噴霧。但是，隨著抑制電壓的逐漸增加(4.0-6.0 kV/cm)，紙尖周圍的電場逐漸變小，在實際操作中，不僅抑制鄰近紙尖非必要的紙電噴灑，還可以保持中央紙尖的電噴灑噴霧。總而言之，COMSOL 模擬電場分佈提供直接的證據來解釋抑制電極對電噴灑噴霧羽流的抑制效果。如圖 4-4 所示，在沒有抑制電場的情形下，實際發生多紙尖產生的電噴灑，能在模擬圖中得知，所有紙尖同時具有很高的



電場，雖然中央的紙尖端離接地端最近，電場也最高，但電噴灑可以在相對廣泛的範圍發生(6.2–8.7 kV/cm)，因此產生多重電噴灑。模擬結果表明，抑制電極對的設計相隔 15.0 mm，並且距離紙尖端邊緣約 2.5 mm，為最佳化設計。研究結果顯示，在適當設計的抑制電極的電場影響之下，成功克服多重電噴灑的缺點。因此，本研究延續前人所開發的卡匣系統，並利用抑制電極進行優化，於 COMSOL 中描繪紙晶片平面上的元件尺規，比較不同抑制電極條件下模擬之電場分布，再以最佳化條件，實際製造並應用於卡匣系統之中。

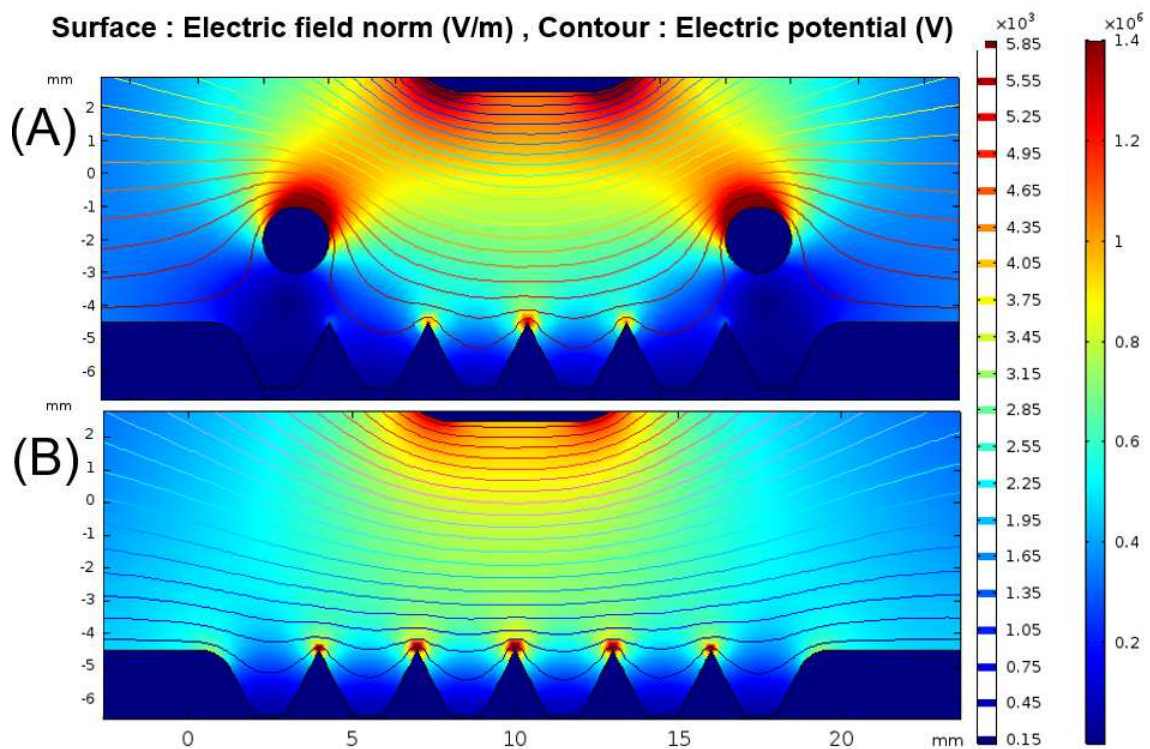


圖 4-4 (A)有抑制電場介入下之電場分布模擬圖，(B)沒有抑制電場作用下，多紙尖結構都具備很高的電場。

#### 4.1.2 新型二維紙層析紙電噴灑質譜法系統

本研究使用電噴灑羽流抑制率指標評估抑制電極設計的抑制效能。實驗條件如下：紙片工作電壓 6.0 kV、紙片距離地端 7.0 mm(電場 8.5 kV/cm)、接地端溫度 150°C、抑制電極間距 15.0 mm、抑制電壓 0-1.2 kV，使用 CCD 攝影機連續紀錄在不同施

加的抑制電場下的紙漿噴霧圖像。本研究計算抑制電極抑制鄰近電噴灑羽流的效能，以 ImageJ 圖像分析進行量化，圖 4-5 顯示抑制效應。橫軸是施加的電場，縱軸是電噴灑羽流抑制率。抑制比率(Plumb Pinched Ratio)定義為施加抑制電場之後及之前的電噴灑羽流面積的比率，在 0.8 kV/cm 的抑制電場下，可以減少 82% 的相鄰電噴霧。然而，較高的抑制電場可以進一步完全抑制周圍電噴灑噴霧，但是中央電噴灑羽流也將被逐漸抑制，並降低了質譜檢測中的離子強度。模擬結果與實際差異在於，COMSOL 模擬了紙晶片平面上的靜電場分布，但無法解決電噴灑在場中釋放電荷行為，因此 COMSOL 主要得到最佳化的抑制電極擺放位置，並且明顯地把周圍電場降低，以符合實際應用中，抑制周圍紙尖電場之實驗目標。

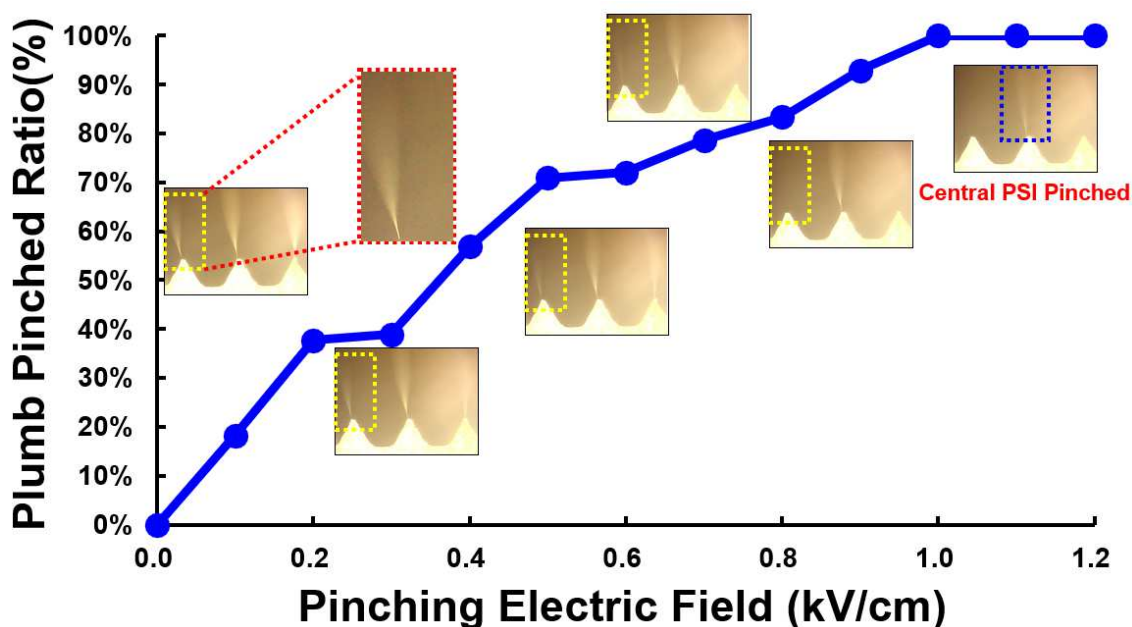


圖 4-5 相鄰電噴灑羽流中，施加的抑制電場與電噴灑羽流抑制率之間的關係，最終中央電噴灑也被抑制導致檢測效能降低。

#### 4.1.3 質譜標準品訊號效能分析

本研究使用 10.0 ppm 咖啡因之標準品分析質譜儀離子強度的變化驗證抑制電極的聚焦效應，圖 4-6 顯示創新抑制電極的效能。橫軸是施加的抑制電場，縱軸是咖啡因離子強度。在 0-1.2 kV/cm 的抑制電場條件下，滴入 2.0  $\mu$ L 之咖啡因標準品

及 10.0  $\mu\text{L}$  之輔助去溶劑，統計 3 分鐘內之咖啡因離子濃度及環境中之背景雜訊塑化劑(149.0  $m/z$ )[75]。本研究計算了創新抑制電極實際應用時提升的訊雜比，結果表明，當施加的抑制電場為 0.8  $\text{kV/cm}$  時，得到最佳的訊雜比(SNR)，比初始值高 3.1 倍。值得注意的是，當抑制電場持續升高時，中央電噴灑羽流會逐漸被抑制，導致質譜效能不佳，訊雜比下降。

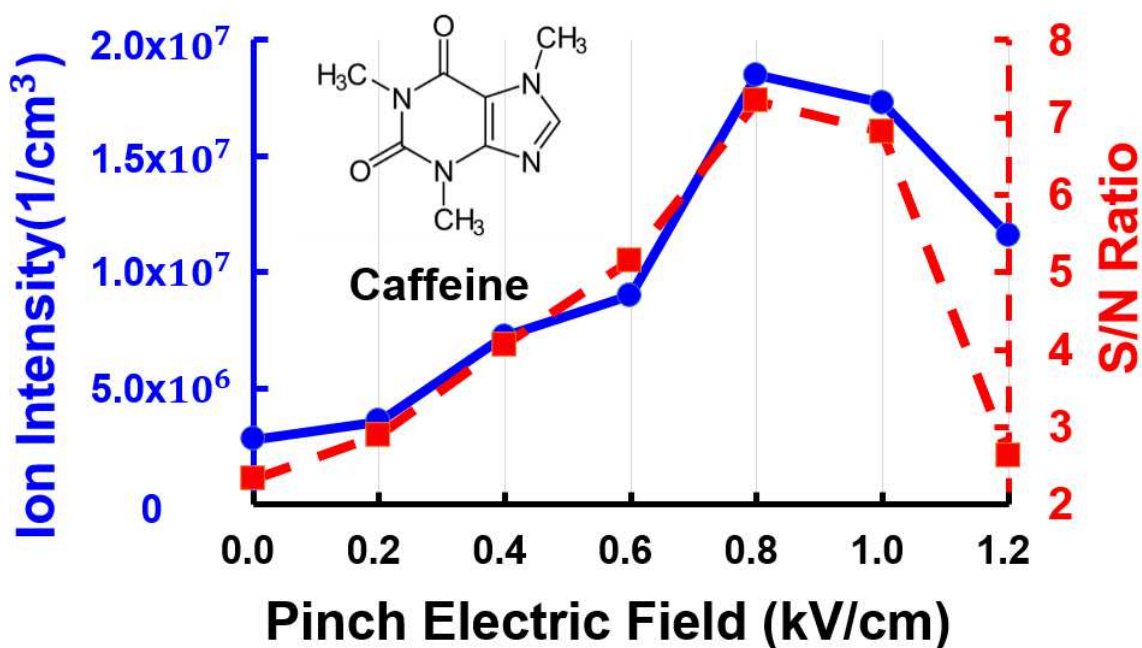


圖 4-6 在不同施加的抑制電場下檢測 10.0 ppm 之咖啡因標準品，統計的質譜總離子強度及峰值訊雜比變化。

## 4.2 天然植物樣本分析

本節主要討論二維紙層析分離之效能，分析植物樣本在食安領域、藥物檢測都有其發展，包含蔬菜農藥殘留、食品非法添加、中藥檢測等應用。傳統環境質譜法的缺點是樣本沒有經過高效率的前處理，導致待測物訊號被濃度更高的主要訊號壓抑。雖然選擇離子偵測模式(Selected Ion Monitoring)可以針對目標荷質比進行針對性量測，但前提必須先得知待測物及其離子碎片之質荷比，因此，選擇離子偵測也不適用於未知藥物殘留分析。本節利用天然之樟樹葉及市售之水蜜桃，作為本研究在藥物檢測及食安領域的驗證目標。

#### 4.2.1 天然樟樹樹葉成分分析

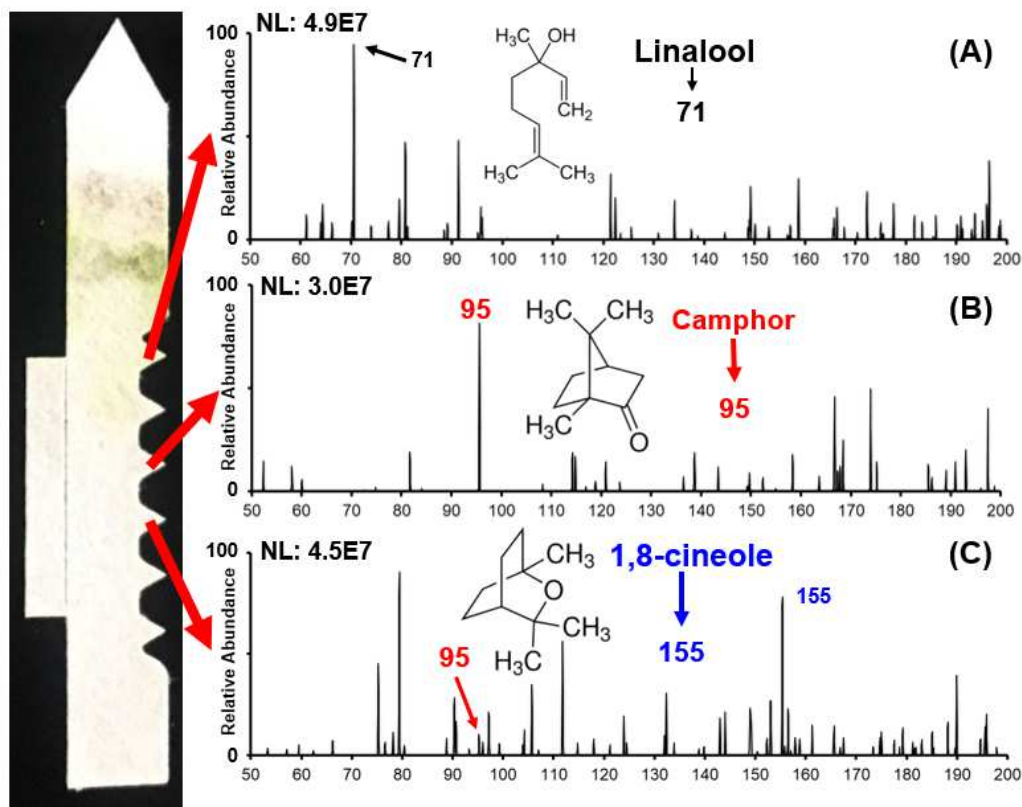


圖 4-7 樟樹葉樣本經由二維紙層析之層析影像及質譜分析結果，在第一、三、四個紙片尖端上，發現樟樹葉中不同的成分峰值。

本研究對樟樹葉進行萃取。將 3.0 g 樟樹葉搗碎後加入 10.0 mL 之甲醇萃取並過濾得到樣本，使用移液器吸取 2.0  $\mu\text{L}$  之樣本，滴定於卡匣進樣口，待其自然乾燥後，以移液器吸取 80.0  $\mu\text{L}$  的甲醇作為展開液，滴定於第一維層析展開液進樣口，待其層析完成，自然乾燥後，以移液器吸取 10.0  $\mu\text{L}$  的甲醇，滴定於第二維層析展開液進樣口，進行第二維層析濃縮。濃縮完成後將質譜提供之高壓電接上相對應的高分子電極，並且滴定 15.0  $\mu\text{L}$  的甲醇水溶液作為分析每個紙尖成分之電噴灑溶液，進行紙電噴灑質譜偵測。本次實驗設定參數如下：紙電噴灑電場為 8.5 kV/cm、欲分析紙片尖端離質譜儀入口 7.0 mm、抑制電極工作電場 0.8 kV/cm、質譜入口溫度

150°C、質譜通道偏移電壓 20.0 V，質荷比掃描範圍為 50-200 m/z。圖 4-7 之質譜圖結果可以看到樟樹葉中的芳樟醇(Linalool)71 [M+H]<sup>+</sup> [76]、樟腦(Camphor)95 [M+H]<sup>+</sup> [76]、桉葉油醇(1,8-Cineole)155 [M+H]<sup>+</sup> [77]，可以在紙層析中的第一、三、五根紙片尖端中，經由紙電噴灑質譜法偵測到，證實本研究開發的二維紙層析質譜法卡匣系統確實可以應用在分析天然植物中的成分，有別於傳統的 GC-MS、HPLC-MS，本研究所用的紙流體晶片，在低成本前處理裝置、桌上型質譜儀的條件下，也可以達到良好的定性成果。

#### 4.2.2 水蜜桃農藥殘留分析

糖分高的水果再越靠近收成期時，農害越嚴重，常見的因應方法是噴灑農藥，包含殺蟲劑、滅蟻藥、除蟎劑...等等，並且計算農藥的半衰期，而或是再收成過後進行一系列的清洗工序，期望水果送驗時可以通過食安標準。然而水蜜桃作為嬌貴的水果之一，糖分極高，表皮的絨毛結構導致清洗不易，容易導致農藥殘留。在質譜分析上，水果中大量糖分会導致嚴重的基質效應，若不經由前處理純化，將不利於質譜分析。因此本研究對水蜜桃果皮進行採樣，驗證本研究之二維紙層析質譜法在農產品農藥檢測上之適用性。首先將水蜜桃果皮從果肉上直接撕取，取 3.0 g 果皮樣本搗碎並與 10.0 g 甲醇混合，於超音波洗淨機中萃取 5 分鐘，取 2.0 μL 作為待測樣本，滴入二維紙層析卡匣中，接著注入 80.0 μL 之甲醇展開液分離樣本，待其乾燥後，取下犧牲翼，注入 10.0 μL 之甲醇作為二維層析濃縮之緩衝液，乾燥後便可進行紙電噴灑游離質譜法。本次實驗設定參數如下：紙電噴灑電場為 8.5 kV/cm、欲分析紙片尖端離質譜儀入口 7.0 mm、抑制電極工作電場 0.8 kV/cm、質譜入口溫度 200°C、質譜通道偏移電壓 -40.0 V，使用全掃描模式(Full Scan)，質荷比掃描範圍為 290-550 m/z。

如圖 4-8 所示，水蜜桃表皮樣本在經由二維紙層析法分離濃縮後，在第四個紙尖發現到大量的蔗糖訊號峰值 365 [M+Na]<sup>+</sup> 及 381 [M+K]<sup>+</sup> [78]，可能導致待測物

訊號相對濃度太低，以致於無法被偵測到。而在第二個紙片尖端上，因為大量的蔗糖被層析分離至後端紙片，而降低了高濃度蔗糖產生的基質效應，使得待測物滅蟻樂(Mirex)訊號峰值 545  $[M+H]^+$  [79]可以在質量圖譜中明顯地被顯示出來。研究結果顯示，在不到 10 分鐘的樣本前處理，及 15 分鐘以內的質譜分析，可以快速分離水果樣本，並且可以改善水果因大量糖分而造成的基質效應，檢測到水果中的農藥殘留，達到良好的定性分析結果。

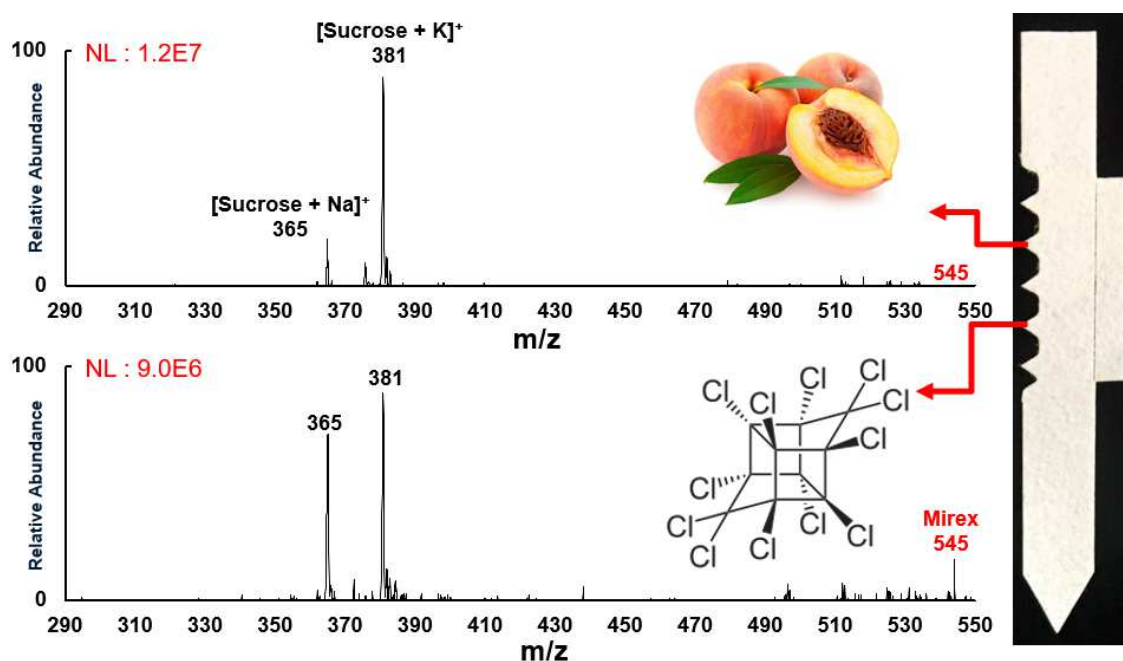


圖 4-8 水蜜桃表皮樣本經由二維紙層析質譜分析結果，再第二、四個紙片尖端上，發現了水蜜桃的蔗糖訊號以及滅蟻樂(Mirex)訊號峰值。

### 4.3 人體代謝物樣本分析

標準的藥物檢測方法是先利用酵素免疫分析法，利用比色法作為定性及半定量測試，陽性或是有疑慮的樣本會在進行氣相層析質譜法定量分析。酵素免疫分析法的原理是當人體服用毒品時會有蛋白質代謝物的異常，在酵素免疫分析法中，利用藥物導致的蛋白質異常，使用特定酵素抓取異常濃度的蛋白質來進行呈色反應。然而，不同種類的毒品在不同個體中會有不一樣的蛋白質代謝物表現，或者服用藥物也會影響蛋白質代謝物表現，因此可能造成假陽性、假陰性甚至陰性的結果。傳統

的酵素免疫分析法有其發展的局限性，包含精準度不佳以及無法直接分析小分子量化合物。氣相層析質譜法則需要長時間的樣本前處理純化，以及大型的實驗室分析設備，雖然定量結果非常精準，但是不適用於快篩現場分析。因此，本研究發展一個快速、低成本、適用於現場採樣檢測的檢測系統，可以在快篩現場對待測樣本進行簡單高效的樣本前處理純化，再利用移動式質譜儀進行定性檢測，不需特異性極高的酵素免疫法試劑盒便達到精準定性分析。為了驗證在毒品快篩分析上的適用性，使用人體代謝物包含臉部皮脂、尿液、頭髮樣本作為本研究使用的分析樣本。

#### 4.3.1 臉部皮脂藥物殘留分析

本研究採集臉部皮脂進行藥物殘留分析，受試者首先經過完整的臉部清潔，然後服用 1000.0 mg 之維他命 C 以及 300.0 mL 的水，超過人體吸收極限的藥物會以各種代謝方式被人體排出，包含油脂、汗液、尿液等。受測者服用藥物兩個小時後，以採樣環刮取臉上之皮脂，樣本溶於兩毫升的乙醇當中，充分混合後即可得到維他命 C 樣本萃取液。取 4.0  $\mu\text{L}$  樣本萃取液作為二維紙層析質譜法之待測物，注入進樣口後形成一樣本帶，加入 80.0  $\mu\text{L}$  之甲醇展開液，對樣本進行層析分離，待其乾燥後，摘除層析分離之犧牲翼，再往二維層析之除液槽注入 10.0  $\mu\text{L}$  之展開液，將被分離的樣本往紙片尖端濃縮，完成二維紙層析之樣本前處理。本次實驗設定參數如下：紙電噴灑電場為 8.5 kV/cm、欲分析紙片尖端離質譜儀入口 7.0 mm、抑制電極工作電場 0.8 kV/cm、質譜入口溫度 150°C、質譜入口毛細管偏移電壓 -20.0 V，使用選擇離子偵測模式，針對性選擇維他命 C 質荷比 176 m/z 及維他命 C 次級離子碎片 116 m/z[80]。

由於維他命 C 是極性化合物，甲醇作為移動相，與維他命 C 的溶解度很高，極性越強或是分子量越小，相比弱極性或是大分子量化合物，較容易被移動相推動，在本系統之紙層析表現上，容易被分離至較遠的紙片區域。在圖 4-9 中，第二根紙片尖端上並沒有發現明顯的維他命 C 訊號峰值，選擇離子偵測結果幾乎是雜訊。

而在第四根紙片尖端上，維他命 C 訊號峰值明顯被質譜儀量測到，總離子濃度達到  $1.2 \times 10^6$ 。由於紙電噴灑游離法屬於軟性電離，與其他硬性電離方法如電子游離 (EI)、大氣壓化學電離 (APCI)、基質輔助雷射解吸游離 (Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization, MALDI) 相比，紙電噴灑游離法的游離能量較低，被游離的化合物幾乎不會以次級離子碎片的形態存在，因此在圖中並沒有量測到維他命 C 的次級離子碎片訊號。

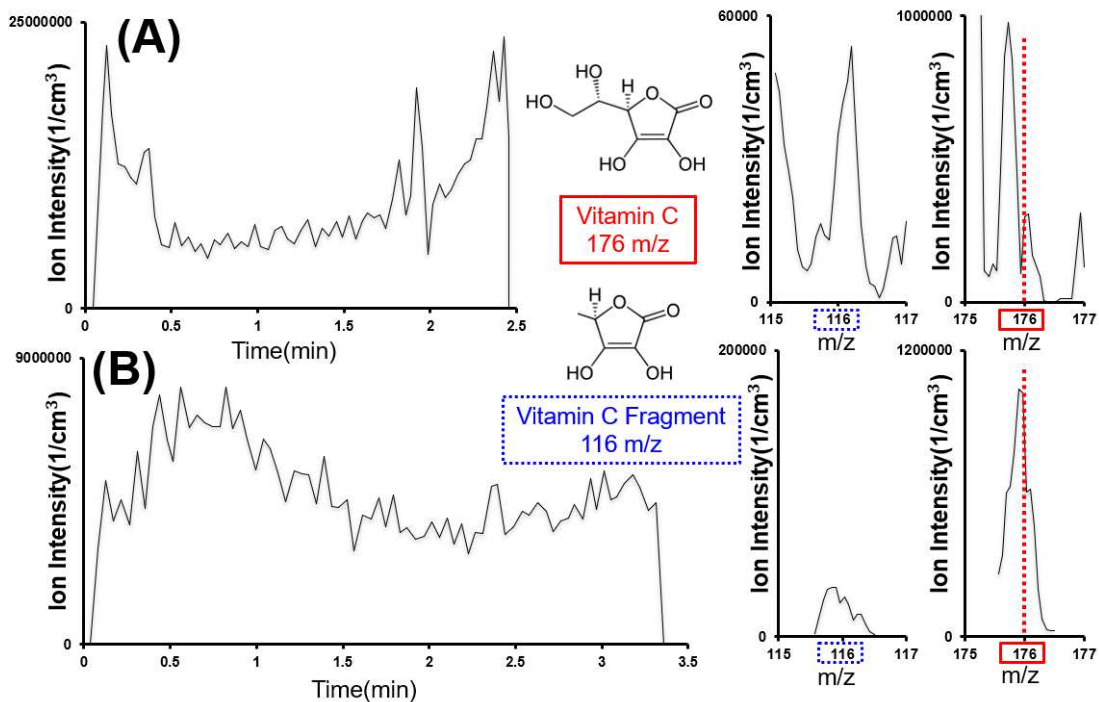


圖 4-9 使用二維紙層析質譜法進行臉部皮脂檢測，(A)在第二根紙尖上維他命 C 及其主要離子碎片訊號極低，(B)在第四根紙尖上發現明顯維他命 C 之訊號。

與酵素免疫分析法相比，雖然高度特異性的蛋白質檢測試劑盒有良好的定性分析能力，但是容易因為藥物或是個體差異，產生弱陽性或是弱陰性的結果。酵素免疫分析法之檢測試劑盒在新型精神活性藥物種類增長狀況下，需要額外開發製造更多不同種類的試劑盒，大幅提高檢測成本。選擇離子偵測的優點在於，當待測物有明確的目標，可以直接對目標進行針對性的量測。而本系統使用的紙電噴灑游離法，雖然因為不容易產生離子碎片，無法進行分子結構的分析，但對已知質荷比之待測物來說，不需要二次離子輔助判斷，選擇離子偵測可以提供非常高的靈敏度，



此外，可以同時追蹤 10 種藥物的訊號峰。因此只需知道新型非法藥物的分子量，便可以使用質譜儀直接輸入欲偵測藥物的荷質比，對有疑慮的生物樣本或是有嫌疑的未知粉末進行現場量測。

### 4.3.2 尿液藥物殘留分析

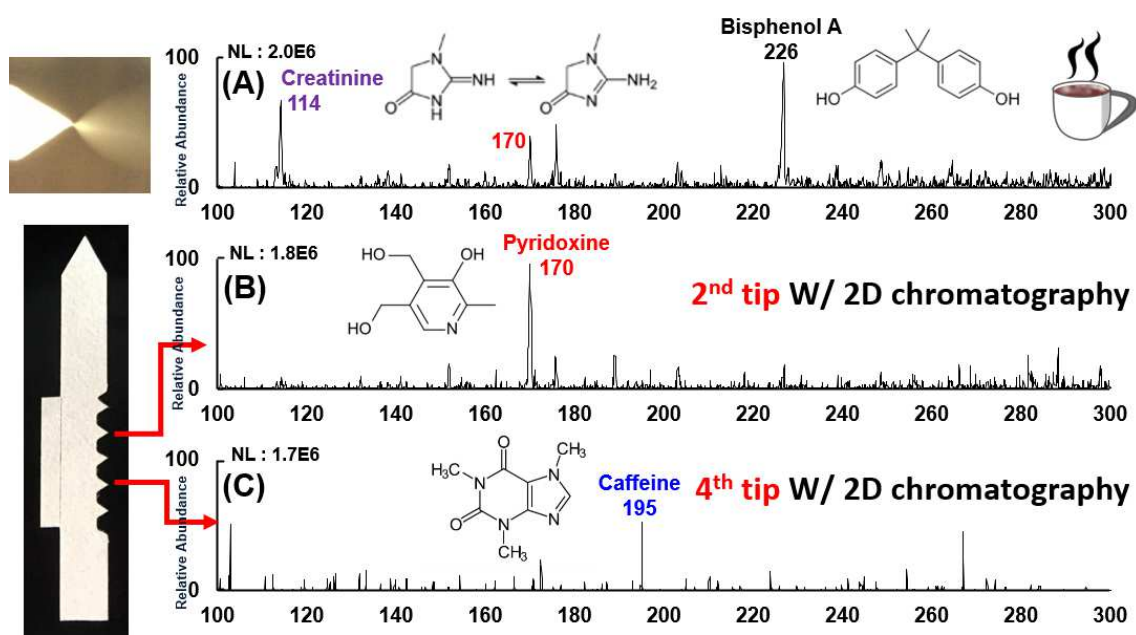


圖 4-10 檢測 25 歲年輕男性尿液中藥物殘留質譜圖。(A)為未經二維紙層析之樣品前處理，以三角形紙片直接電噴灑之質譜分析。(B)、(C)為經過二維紙層析法處理過的樣本，分別在第二與第四根紙尖端上檢測到的質譜圖。

人體服用藥物後，可以在三天內尿液代謝物中檢測到藥物殘留，為了評估本研究開發的創新二維紙層析質譜法卡匣裝置的感測效能，進行尿液藥物殘留分析，從攝取 275.0 mL 黑咖啡之年輕男性，經過兩個小時的代謝，採集尿液樣本。通過將 2.0  $\mu$ L 尿液樣品放入進樣口中進行二維紙層析法及紙電噴灑質譜法檢測，耗時 15 分鐘，以完成測試。所開發的卡匣可以直接分離尿液樣本，而無需進行複雜的樣本前處理。圖 4-10(A)中，直接進行三角形紙片之紙電噴灑質譜法，得到尿液中之肌酐酸(Creatinine)114  $[M+H]^+$  [81]、吡哆醇(Pyridoxine)170  $[M+H]^+$  [82]及酚甲烷

(Bisphenol A)226 [M+H]<sup>+</sup> [83]之明顯訊號峰，表明檢測到尿液樣品中的主要成分。而第 5 個紙尖獲得咖啡因(194 Da)的質譜圖，該紙尖是層析紙片上最遠的尖端，在質譜中清楚地觀察到對應於咖啡因訊號峰 195 [M+H]<sup>+</sup>。本次實驗設定參數如下：紙電噴灑電場為 8.5 kV/cm、欲分析紙片尖端離質譜儀入口 7.0 mm、抑制電極工作電場 0.8 kV/cm、質譜入口溫度 150°C、質譜通道偏移電壓-40.0 V，使用全掃描模式，質荷比掃描範圍為 100-300 m/z。

### 4.3.3 頭髮藥物殘留分析

頭髮在成長的過程中，毛囊細胞會吸取周圍皮脂或是血液中養分作為原料，因此皮脂、血液中的藥物，會隨著頭髮的成長而殘留。頭髮成長速度約為每個月 1.0-1.5 cm，而於對於剛使用的藥物，尿液檢測中的藥物濃度比頭髮高出許多，因此尿液藥物殘流量測較容易。但尿液中之藥物會因為時間而代謝或是降解，複雜的尿液基質可能不容易清楚判斷出服用非法藥物的種類。頭髮則為藥物行為之錄影帶，通常，攝入的化合物及其代謝產物會在頭髮中累積數十個月。然而，頭髮樣品中化合物的濃度約為尿液中化合物的 1/10，因此，檢測頭髮樣品中的特定化合物具有挑戰性。本研究採集一名中年男性吸煙者的 1.0 mg 頭髮樣本。毛髮樣品在超音波洗淨機中用 2.0 mL 異丙醇清洗 5 分鐘。然後將清潔的頭髮乾燥，放入離心管中，用 2.0 mL 甲醇提取樣品 30 分鐘。取 2.0  $\mu$ L 萃取溶液作為分析樣品，並用已開發的二維紙層析法及紙電噴灑質譜法進行分析。圖 4-11 顯示在未經層析及使用二維紙層析的情況下的質譜圖。在三角形紙片之紙電噴灑質譜法中，僅量測到微量尼古丁 (Nicotine)代謝物可替寧(Cotinine)訊號 177 [M+H]<sup>+</sup> [84]。而通過本研究開發之二維紙層析質譜法檢測，在第二根及第三根指尖上，可以清楚地檢測出吸煙者頭髮樣本中的尼古丁 163 [M+H]<sup>+</sup> [85]及其離子碎片 133 [M+H]<sup>+</sup> [84]，並有  $6.5 \times 10^5$  以上之總離子濃度。結果證實，與不使用層析分離的三角形紙片電噴灑質譜法相比，紙質流體卡匣提供了更好的檢測結果。實驗設定參數如下：紙電噴灑電場為 8.5 kV/cm、

欲分析紙片尖端離質譜儀入口 7.0 mm、抑制電極工作電場 0.8 kV/cm、質譜入口溫度 150°C、質譜通道偏移電壓 -40.0 V，使用全掃描模式，質荷比掃描範圍為 60-200 m/z。

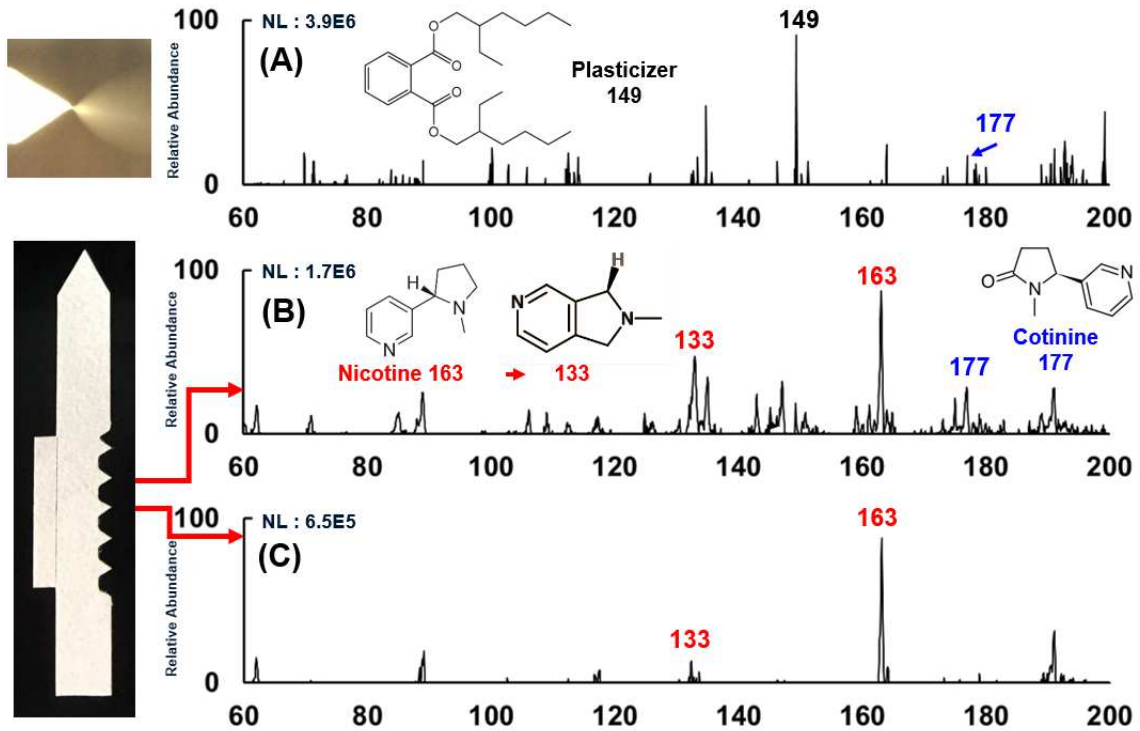


圖 4-11 檢測 45 歲重度吸菸男性(每天抽 20 支香煙)頭髮中藥物殘留質譜圖。(A) 為未經二維紙層析之樣品前處理，以三角形紙片直接電噴灑之質譜分析。(B)、(C) 為經過二維紙層析法處理過的樣本，分別在第二與第三根紙尖端上檢測到的質譜圖，在 163 m/z 處發現明顯的尼古丁訊號。

## 第五章 結論與未來展望

### 5.1 結論

本研究本文開發了一種創新的整合電噴灑抑制電極之紙基卡匣，此卡匣具有一對創新的抑制電極，不僅可以抑制不希望發生的電噴灑，確保只有單一根紙尖進行電噴灑，還可增強紙電噴灑質譜法的感測效能。此外，樣品的進樣，分離，濃縮及紙電噴灑游離可在單個中紙基側流式流體卡匣完成。在卡匣製造之前，針對創新抑制電極設計，本研究利用多重物理場模擬軟體 COMSOL 模擬了紙尖端上的電場分佈，最終達到抑制電極的最佳化設計，特別是抑制電極的間距。本研究針對創新抑制電極的效能進行一系列分析，利用 CCD 攝影機記錄電噴灑抑制之影像，使用 ImageJ 計算在抑制電場的變化下，周圍電噴灑羽流噴灑面積的縮減率，在對紙電噴灑中央位置  $1.2 \text{ kV/cm}$  的抑制電場下，可以完全抑制周圍的電噴灑噴霧，並且同時保留欲分析的中央紙電噴灑。此外，本研究為了量化抑制電極對中央電噴灑的聚焦效應，使用  $10.0 \text{ ppm}$  之咖啡因標準品樣本，對質譜分析之總離子濃度進行量測，在  $0.8 \text{ kV/cm}$  之抑制電場下，總離子濃度提升了 6.6 倍，以環境中之塑化劑雜訊相比，訊雜比提升了 3.1 倍之多。然而，在  $1.2 \text{ kV/cm}$  的抑制電場下，中心電噴灑也明顯的被壓抑，雖然可以完全抑制周圍多餘的電噴灑，但質譜總離子濃度及訊雜比表現不佳，因此選用  $0.8 \text{ kV/cm}$  為最佳抑制電場參數。

本研究使用天然的植物樣本，以及市售的水果樣本，來分析本研究所開發的二維紙層析分離濃縮，在質譜分析上的表現。樟樹葉作為天然植物樣本，成功偵測到芳樟醇(Linalool)、樟腦(Camphor)、桉葉油醇(1,8-Cineole)的質譜訊號峰值，並達到  $3.0 \times 10^7$  以上的總離子濃度，證明本研究之二維層析分離系統能夠成功有效的分析複雜天然植物樣本。水蜜桃作為市售的水果樣本，以二維紙層析質譜法對水蜜桃果皮及果肉進行分析，由於水果中大量的糖分在質譜分析中有非常強的訊號峰，而利用二維紙層析質譜分析，雖然在第二根紙尖上還是有很強的蔗糖訊號，但得利於二維紙層析分離濃縮，發現了微量農藥滅蟻樂(Mirex)之訊號峰值，達到  $9.0 \times 10^6$  之總

離子濃度，而大部分蔗糖被層析至第四根紙片尖端處，並有  $1.2 \times 10^7$  之總離子濃度。本研究之二維紙層析質譜法使用天然植物樣本，成功驗證樣品在被分離純化後，可以得到更好的定性分析表現，並且樣本採樣、前處理、檢測，僅需要不到 15 分鐘的時間，降低在植物成分分析、農產品農藥殘留的檢測成本。

藥物分析以及快速篩檢作為本研究的研究目標，首先以臉部皮脂為檢測目標。人體經循環系統的代謝物可以由多種途徑排出，代謝物包含汗液以及油脂，可以在臉部皮脂發現。在服用維他命 C 兩小時後，在 10 分鐘內完成皮脂採樣、萃取、二維紙層析質譜分析並使用選擇離子偵測模式，精準選擇維他命 C 的質譜訊號峰值，並在第四根紙片尖端上量測到維他命 C 之訊號峰，總離子濃度  $1.2 \times 10^6$  並可以持續 3 分鐘。尿液作為最常被拿來做藥物檢測的生物樣本之一，非常容易採樣且已經發展了非常多的尿液檢測快篩試劑盒，以及標準具法律意義之質譜檢測。在標準的 ELISA 中，雖然也可以在短時間內得到準確的定性結果，但容易受到藥物干擾呈假陽性或是假陰性，且典型檢測蛋白質的特色造成 ELISA 無法成為法庭上非法藥物殘留的確切證據。傳統之 GC-MS 方法可以進行定量分析，但動輒 3 小時之檢測時間不利於高通量分析。而本研究發展的二維紙層析紙電噴灑質譜法，可以在 5 分鐘內完成尿液樣本之前處理，且在 10 分鐘內完成紙電噴灑質譜法偵測，在量測服用咖啡的尿液結果中，檢測到尿液中大量基質，在層析過後之紙片尖端上，量測到明顯的咖啡因訊號峰值，達到  $1.7 \times 10^6$  之總離子濃度。標準頭髮樣品的質譜檢測需要 12-18 小時的樣品前處理時間，再進行 HPLC-MS 檢測，同樣不利於快篩現場之檢測。而本研究開發之檢測系統，可以 45 分鐘內完成樣本前處理，紙電噴灑質譜法檢測到總離子濃度  $6.5 \times 10^5$  之尼古丁訊號峰值。

最終，本研究證明可以在短時間內檢測尿液及頭髮中短期及長期藥物殘留的跡象，並保證多紙尖結構在進行電噴灑時，只有單一紙尖電噴灑。與 ELISA 相比，本研究同樣適合現場採樣、檢測，並且有很好的定效能力，且不受藥物干擾，不需考慮受測者服用藥物後之蛋白質代謝個體差異。結果證實，本研究發展的整合電噴灑抑制電極之二維紙層析紙電噴灑質譜法，具有藥物濫用快篩的巨大潛力。

## 5.2 未來展望

本研究所開發的整合電噴灑抑制電極之二維紙層析質譜法卡匣檢測系統，隨然有極佳的定效能力，但不夠精準的定量能力仍是本研究未來發展亟需解決的問題。標準品經由二維層析被稀釋的問題，可以在資料處理中選擇追蹤特定範圍的質荷比，包含待測物及標準品分子，可以計算層析圖譜中的內標及待測物之訊號波峰面積，整合所有紙片尖端的全面量測，得到樣品回收率及定量分析結果。而本研究之時驗架構對分析弱極性分子不具優勢，選擇不同的溶劑可以對弱極性分子得到分離效率，但與極性待測物只能擇一，因此，發展能夠同時偵測極性與弱極性之低成本檢測裝置具有實用上的意義。大氣壓電暈游離源(APCI)在電噴灑區加上電暈，游離弱極性之分子，帶電後由質譜儀偵測(圖5-1 A)。而本研究進行之紙電噴灑游離，在更高的電場下會發生電暈，最終往質譜儀放電。而這中間有紙電噴灑與電暈共存的狀態，高能量的電暈也可以游離弱極性分子(圖5-1 B)。因此，本研究發展的電噴灑抑制電極整合二維紙層析質譜法，若外加大氣壓電暈游離源，或在紙片上產生電暈，在未來都適合作為同時分析極性及弱極性化合物之檢測方式。

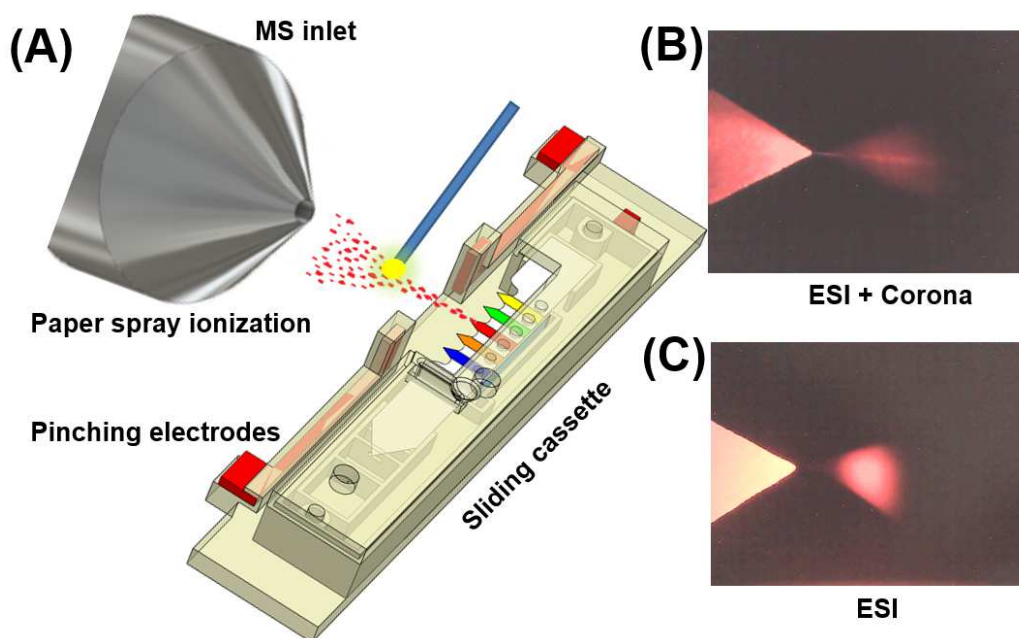


圖 5-1 創新電噴灑抑制電極二維紙層析質譜法整合(A)大氣壓電暈放電游離、(B)電暈電噴灑游離，同時偵測極性與弱極性化合物，(C)為普通電噴灑游離。

## 参考文献

- [1] J. M. Halket, D. Waterman, A. M. Przyborowska, R. K. Patel, P. D. Fraser, and P. M. Bramley: ‘Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolic profiling by GC/MS and LC/MS/MS’, *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56, (410), pp. 219-243
- [2] M. Vinaixa, E. L. Schymanski, S. Neumann, M. Navarro, R. M. Salek, and O. Yanes: ‘Mass spectral databases for LC/MS- and GC/MS-based metabolomics: State of the field and future prospects’, *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2016, 78, pp. 23-35
- [3] R. M. Alberici, R. C. Simas, G. B. Sanvido, W. Romão, P. M. Lalli, M. Benassi, I. B. Cunha, and M. N. Eberlin: ‘Ambient mass spectrometry: bringing MS into the “real world”’, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 398, (1), pp. 265-294
- [4] R. G. Cooks, Z. Ouyang, Z. Takats, and J. M. Wiseman: ‘Ambient mass spectrometry’, *Science*, 2006, 311, (5767), pp. 1566-1570
- [5] A. W. Martinez, S. T. Phillips, G. M. Whitesides, and E. Carrilho: ‘Diagnostics for the developing world: microfluidic paper-based analytical devices’, *Analytical Chemistry*, 2010, 82, (1), pp. 3-10
- [6] Y. Y. Xia, J. Si, and Z. Y. Li: ‘Fabrication techniques for microfluidic paper-based analytical devices and their applications for biological testing: A review’, *Biosensors & Bioelectronics*, 2016, 77, pp. 774-789
- [7] S. L. Kacinko, A. J. Barnes, I. Kim, E. T. Moolchan, L. Wilson, G. A. Cooper, C. Reid, D. Baldwin, C. W. Hand, and M. A. Huestis: ‘Performance characteristics of the Cozart RapiScan Oral Fluid Drug Testing System for opiates in comparison to ELISA and GC/MS following controlled codeine administration’, *Forensic Science International*, 2004, 141, (1), pp. 41-48
- [8] T. Kupiec, L. DeCicco, V. Spiehler, G. Sneed, and P. Kemp: ‘Choice of an ELISA assay for screening postmortem blood for amphetamine and/or methamphetamine’, *Journal of Analytical Toxicology*, 2002, 26, (7), pp. 513-518
- [9] E. B. Strong, C. Knutsen, J. T. Wells, A. R. Jangid, M. L. Mitchell, N. W. Martinez, and A. W. Martinez: ‘Wax-printed fluidic time delays for automating multi-step assays in paper-based microfluidic devices (MicroPADs)’, *Inventions*, 2019, 4, (1), pp. 20
- [10] E. B. Strong, S. A. Schultz, A. W. Martinez, and N. W. Martinez: ‘Fabrication of Miniaturized Paper-Based Microfluidic Devices (MicroPADs)’, *Nature*, 2019, 9, (1), pp. 7
- [11] M. N. Stojanovic, and D. W. Landry: ‘Aptamer-based colorimetric probe for cocaine’, *Journal of the American Chemical Society*, 2002, 124, (33), pp. 9678-9679

- [12] M. He, Z. Li, Y. Ge, and Z. Liu: 'Portable Upconversion Nanoparticles-Based Paper Device for Field Testing of Drug Abuse', *Analytical Chemistry*, 2016, 88, (3), pp. 1530-1534
- [13] P. S. Cheng, C. Y. Fu, C. H. Lee, C. Liu, and C. S. Chien: 'GC-MS quantification of ketamine, norketamine, and dehydronorketamine in urine specimens and comparative study using ELISA as the preliminary test methodology', *Journal of Chromatography B*, 2007, 852, (1-2), pp. 443-449
- [14] Y. Al-Saffar, N. N. Stephanson, and O. Beck: 'Multicomponent LC-MS/MS screening method for detection of new psychoactive drugs, legal highs, in urine—experience from the Swedish population', *Journal of Chromatography B*, 2013, 930, pp. 112-120
- [15] X. Pei, B. Zhang, J. Tang, B. Liu, W. Lai, and D. Tang: 'Sandwich-type immunosensors and immunoassays exploiting nanostructure labels: A review', *Analytica Chimica Acta*, 2013, 758, pp. 1-18
- [16] Y. Garcia, K. Smolinska-Kempisty, E. Pereira, E. Piletska, and S. Piletsky: 'Development of competitive 'pseudo'-ELISA assay for measurement of cocaine and its metabolites using molecularly imprinted polymer nanoparticles', *Analytical Methods*, 2017, 9, (31), pp. 4592-4598
- [17] H. Miyaguchi, H. Takahashi, T. Ohashi, K. Mawatari, Y. T. Iwata, H. Inoue, and T. Kitamori: 'Rapid analysis of methamphetamine in hair by micropulverized extraction and microchip-based competitive ELISA', *Forensic Science International*, 2009, 184, (1-3), pp. 1-5
- [18] L. Z. Li: 'A pre-tracer approach for improving the accuracy of metabolic measurements by hyperpolarized nuclear magnetic resonance', *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 2016, 6, (5), pp. 612-614
- [19] E. F. Goktas, and F. Arioz: 'A review of chromatographic methods for ketamine and its metabolites norketamine and dehydronorketamine', *Biomedical Chromatography*, 2018, 32, (1), pp. e4014
- [20] C. A. Chen, P. W. Wang, Y. C. Yen, H. L. Lin, Y. C. Fan, S. M. Wu, and C. F. Chen: 'Fast analysis of ketamine using a colorimetric immunosorbent assay on a paper-based analytical device', *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2019, 282, pp. 251-258
- [21] I. Barbulovic-Nad, H. Yang, P. S. Park, and A. R. Wheeler: 'Digital microfluidics for cell-based assays', *Lab on a Chip*, 2008, 8, (4), pp. 519-526
- [22] K. Choi, A. H. Ng, R. Fobel, and A. R. Wheeler: 'Digital microfluidics', *Annual Review of Analytical Chemistry*, 2012, 5, pp. 413-440
- [23] K. Choi, A. H. Ng, R. Fobel, D. A. Chang-Yen, L. E. Yarnell, E. L. Pearson, C. M. Oleksak, A. T. Fischer, R. P. Luoma, J. M. Robinson, J. Audet, and A. R. Wheeler: 'Automated digital microfluidic platform for magnetic-particle-based



- immunoassays with optimization by design of experiments’, *Analytical Chemistry*, 2013, 85, (20), pp. 9638-9646
- [24] N. M. Lafreniere, S. C. C. Shih, P. Abu-Rabie, M. J. Jebrail, N. Spooner, and A. R. Wheeler: ‘Multiplexed extraction and quantitative analysis of pharmaceuticals from DBS samples using digital microfluidics’, *Bioanalysis*, 2014, 6, (3), pp. 307-318
- [25] M. J. Jebrail, H. Yang, J. M. Mudrik, N. M. Lafreniere, C. McRoberts, O. Y. Al-Dirbashi, L. Fisher, P. Chakraborty, and A. R. Wheeler: ‘A digital microfluidic method for dried blood spot analysis’, *Lab on a Chip*, 2011, 11, (19), pp. 3218-3224
- [26] A. E. Kirby, N. M. Lafreniere, B. Seale, P. I. Hendricks, R. G. Cooks, and A. R. Wheeler: ‘Analysis on the go: quantitation of drugs of abuse in dried urine with digital microfluidics and miniature mass spectrometry’, *Analytical Chemistry*, 2014, 86, (12), pp. 6121-6129
- [27] W. Gao, S. Emaminejad, H. Y. Y. Nyein, S. Challa, K. Chen, A. Peck, H. M. Fahad, H. Ota, H. Shiraki, D. Kiriya, D. H. Lien, G. A. Brooks, R. W. Davis, and A. Javey: ‘Fully integrated wearable sensor arrays for multiplexed in situ perspiration analysis’, *Nature*, 2016, 529, (7587), pp. 509-514
- [28] J. R. Choi, J. Hu, R. H. Tang, Y. Gong, S. S. Feng, H. Ren, T. Wen, X. J. Li, W. A. W. Abas, B. Pingguan-Murphy, and F. Xu: ‘An integrated paper-based sample-to-answer biosensor for nucleic acid testing at the point of care’, *Lab on a Chip*, 2016, 16, (3), pp. 611-621
- [29] A. Pantelopoulos, and N. G. Bourbakis: ‘A survey on wearable sensor-based systems for health monitoring and prognosis’, *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, Part C (Applications and Reviews)*, 2009, 40, (1), pp. 1-12
- [30] H. Ahmar, A. R. Fakhari, H. Tabani, and A. Shahsavani: ‘Optimization of electromembrane extraction combined with differential pulse voltammetry using modified screen-printed electrode for the determination of sufentanil’, *Electrochimica Acta*, 2013, 96, pp. 117-123
- [31] L. Scholl, P. Seth, M. Kariisa, N. Wilson, and G. Baldwin: ‘Drug and opioid-involved overdose deaths—United States, 2013–2017’, *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2019, 67, (51-52), pp. 1419
- [32] J. Suzuki, and S. El-Haddad: ‘A review: Fentanyl and non-pharmaceutical fentanyls’, *Drug and Alcohol Dependence*, 2017, 171, pp. 107-116
- [33] M. L. Snyder, P. Jarolim, and S. E. Melanson: ‘A new automated urine fentanyl immunoassay: technical performance and clinical utility for monitoring fentanyl compliance’, *Clinica Chimica Acta*, 2011, 412, (11-12), pp. 946-951
- [34] A. Mochizuki, H. Nakazawa, N. Adachi, K. Takekawa, and H. Shojo: ‘Identification and quantification of mepirapim and acetyl fentanyl in authentic human whole blood and urine samples by GC/MS/MS and LC/MS/MS’, *Forensic Toxicology*, 2018, 36,

- (1), pp. 81-87
- [35] W. A. Khan, M. B. Arain, Y. Yamini, N. Shah, T. G. Kazi, S. Pedersen-Bjergaard, and M. Tajik: ‘Hollow fiber-based liquid phase microextraction followed by analytical instrumental techniques for quantitative analysis of heavy metal ions and pharmaceuticals’, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2020, 10, (2), pp. 109-122
- [36] A. Barfidokht, R. K. Mishra, R. Seenivasan, S. Y. Liu, L. J. Hubble, J. Wang, and D. A. Hall: ‘Wearable electrochemical glove-based sensor for rapid and on-site detection of fentanyl’, *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2019, 296, pp. 126422
- [37] R. K. Mishra, L. J. Hubble, A. Martin, R. Kumar, A. Barfidokht, J. Kim, M. M. Musameh, I. L. Kyratzis, and J. Wang: ‘Wearable Flexible and Stretchable Glove Biosensor for On-Site Detection of Organophosphorus Chemical Threats’, *ACS Sensors*, 2017, 2, (4), pp. 553-561
- [38] A. J. Bandodkar, A. M. O'Mahony, J. Ramírez, I. A. Samek, S. M. Anderson, J. R. Windmiller, and J. Wang: ‘Solid-state Forensic Finger sensor for integrated sampling and detection of gunshot residue and explosives: towards ‘Lab-on-a-finger’’, *Analyst*, 2013, 138, (18), pp. 5288-5295
- [39] L. J. Hubble, and J. Wang: ‘Sensing at your fingertips: glove-based wearable chemical sensors’, *Electroanalysis*, 2019, 31, (3), pp. 428-436
- [40] P. C. Mills, B. M. Magnusson, and S. E. Cross: ‘Investigation of in vitro transdermal absorption of fentanyl from patches placed on skin samples obtained from various anatomic regions of dogs’, *American Journal of Veterinary Research*, 2004, 65, (12), pp. 1697-1700
- [41] V. Pitschmann, L. Matejovsky, K. Lunerova, M. Dymak, M. Urban, and L. Kralik: ‘Detection Papers with Chromogenic Chemosensors for Direct Visual Detection and Distinction of Liquid Chemical Warfare Agents’, *Chemosensors*, 2019, 7, (3), pp. 30
- [42] N. Amend, K. V. Niessen, T. Seeger, T. Wille, F. Worek, and H. Thiermann: ‘Diagnostics and treatment of nerve agent poisoning—current status and future developments’, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2020
- [43] R. K. Mishra, K. Y. Goud, Z. Li, C. Moonla, M. A. Mohamed, F. Tehrani, H. Teymourian, and J. Wang: ‘Continuous Opioid Monitoring along with Nerve Agents on a Wearable Microneedle Sensor Array’, *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142, (13), pp. 5991-5995
- [44] T. Chi, J. S. Park, J. C. Butts, T. A. Hookway, A. Su, C. Zhu, M. P. Styczynski, T. C. McDevitt, and H. Wang: ‘A Multi-Modality CMOS Sensor Array for Cell-Based Assay and Drug Screening’, *IEEE Transaction on Biomedical Circuits and Systems*, 2015, 9, (6), pp. 801-814
- [45] A. Stett, U. Egert, E. Guenther, F. Hofmann, T. Meyer, W. Nisch, and H. Haemmerle: ‘Biological application of microelectrode arrays in drug discovery and basic

- research', *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, 377, (3), pp. 486-495
- [46] P. Lillsunde, and T. Korte: 'Comprehensive Drug Screening in Urine Using Solid-Phase Extraction and Combined Tlc and GC/MS Identification', *Journal of Analytical Toxicology*, 1991, 15, (2), pp. 71-81
- [47] M. Uhl: 'Determination of drugs in hair using GC/MS/MS', *Forensic Science International*, 1997, 84, (1-3), pp. 281-294
- [48] P. Ullucci, R. Cadoret, P. Stasiowski, and H. Martin: 'A comprehensive GC/MS drug screening procedure', *Journal of Analytical Toxicology*, 1978, 2, (2), pp. 33-38
- [49] R. Clouette, M. Jacob, P. Koteel, and M. Spain: 'Confirmation of 11-nor- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol in urine as its t-butyldimethylsilyl derivative using GC/MS', *Journal of Analytical Toxicology*, 1993, 17, (1), pp. 1-4
- [50] R. West, and D. Ritz: 'GC/MS analysis of five common benzodiazepine metabolites in urine as tert-butyl-dimethylsilyl derivatives', *Journal of Analytical Toxicology*, 1993, 17, (2), pp. 114-116
- [51] J. H. Kennedy, C. Aurand, R. Shirey, B. C. Laughlin, and J. M. Wiseman: 'Coupling desorption electrospray ionization with solid-phase microextraction for screening and quantitative analysis of drugs in urine', *Analytical Chemistry*, 2010, 82, (17), pp. 7502-7508
- [52] S. D. Brown, D. J. Rhodes, and B. J. Pritchard: 'A validated SPME-GC-MS method for simultaneous quantification of club drugs in human urine', *Forensic Science International*, 2007, 171, (2-3), pp. 142-150
- [53] J. LaPointe, B. Musselman, T. O'neill, and J. R. Shepard: 'Detection of "bath salt" synthetic cathinones and metabolites in urine via DART-MS and solid phase microextraction', *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2014, 26, (1), pp. 159-165
- [54] M. J. Pavlovich, B. Musselman, and A. B. Hall: 'Direct analysis in real time—Mass spectrometry (DART-MS) in forensic and security applications', *Mass Spectrometry Reviews*, 2018, 37, (2), pp. 171-187
- [55] B. Hu, Y. Y. Huang, G. Yin, G. F. Zhang, L. Y. Zhang, T. J. Wang, and Z. P. Yao: 'Rapid detection of adulterated drugs in herbal dietary supplements by wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry', *Analytical Methods*, 2016, 8, (38), pp. 6840-6846
- [56] T. C. Carvalho, I. F. Oliveira, L. V. Tose, G. Vanini, J. B. Kill, A. C. Neto, L. F. Machado, J. C. L. Ambrosio, V. Lacerda, B. G. Vaz, and W. Romao: 'Qualitative analysis of designer drugs by paper spray ionisation mass spectrometry (PSI-MS)', *Analytical Methods*, 2016, 8, (3), pp. 614-620
- [57] O. S. Frankfurt, and A. Krishan: 'Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the specific detection of apoptotic cells and its application to rapid drug screening',

- Journal of Immunological Methods, 2001, 253, (1-2), pp. 133-144
- [58] A. Mikulskis, D. Yeung, M. Subramanyam, and L. Amaravadi: 'Solution ELISA as a platform of choice for development of robust, drug tolerant immunogenicity assays in support of drug development', *Journal of Immunological Methods*, 2011, 365, (1-2), pp. 38-49
- [59] N. Badawi, K. W. Simonsen, A. Steentoft, I. M. Bernhoft, and K. Linnet: 'Simultaneous screening and quantification of 29 drugs of abuse in oral fluid by solid-phase extraction and ultraperformance LC-MS/MS', *Clinical Chemistry*, 2009, 55, (11), pp. 2004-2018
- [60] M. Kang, W. Zhang, L. Dong, X. Ren, Y. Zhu, Z. Wang, L. Liang, J. Xue, Y. Zhang, W. Zhang, and Z. Ouyang: 'On-site testing of multiple drugs of abuse in urine by a miniature dual-LIT mass spectrometer', *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1101, pp. 74-80
- [61] L. Li, T. C. Chen, Y. Ren, P. I. Hendricks, R. G. Cooks, and Z. Ouyang: 'Mini 12, Miniature Mass Spectrometer for Clinical and Other Applications Introduction and Characterization', *Analytical Chemistry*, 2014, 86, (6), pp. 2909-2916
- [62] Y. Jiang, P. C. Wang, L. E. Locascio, and C. S. Lee: 'Integrated plastic microfluidic devices with ESI-MS for drug screening and residue analysis', *Analytical Chemistry*, 2001, 73, (9), pp. 2048-2053
- [63] M. Haag, A. Schmidt, T. Sachsenheimer, and B. Brugger: 'Quantification of Signaling Lipids by Nano-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (Nano-ESI MS/MS)', *Metabolites*, 2012, 2, (1), pp. 57-76
- [64] S. Saha, M. K. Mandal, and K. Hiraoka: 'Direct detection of trace level illicit drugs in human body fluids by probe electrospray ionization mass spectrometry (PESI-MS)', *Analytical Methods*, 2013, 5, (18), pp. 4731-4738
- [65] H. Wang, P. K. So, T. T. Ng, and Z. P. Yao: 'Rapid analysis of raw solution samples by C18 pipette-tip electrospray ionization mass spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 2014, 844, pp. 1-7
- [66] T. T. Ng, P. K. So, B. Hu, and Z. P. Yao: 'Rapid detection and quantitation of drugs-of-abuse by wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry', *Journal of Food and Drug Analysis*, 2019, 27, (2), pp. 428-438
- [67] B. Hu, P. K. So, H. W. Chen, and Z. P. Yao: 'Electrospray Ionization Using Wooden Tips', *Analytical Chemistry*, 2011, 83, (21), pp. 8201-8207
- [68] T. Ng, P. So, B. Hu, B. Zheng, and Z. Yao: 'Rapid detection and quantitation of drugs-of-abuse in urine and oral fluid by mass spectrometry', *Journal of Food and Drug Analysis*, 2019, 27, (2), pp. 428-438
- [69] G. T. Winter, J. A. Wilhide, and W. R. LaCourse: 'Characterization of a Direct Sample Analysis (DSA) Ambient Ionization Source', *Journal of the American*

- Society for Mass Spectrometry, 2015, 26, (9), pp. 1502-1507
- [70] H. J. Issaq, T. D. Veenstra, T. P. Conrads, and D. Felschow: 'The SELDI-TOF MS approach to proteomics: protein profiling and biomarker identification', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 292, (3), pp. 587-592
- [71] A. Moore, J. Foss, M. Juhascik, S. Botch-Jones, and F. Kero: 'Rapid screening of opioids in seized street drugs using ambient ionization high resolution time-of-flight mass spectrometry', *Forensic Chemistry*, 2019, 13, pp. 100149
- [72] 陳仲祥: '創新二維紙層析分離及電噴灑游離快速檢測卡匣於質譜分析之應用', 中山大學機械與機電工程學系研究所學位論文, 2016, pp. 1-95
- [73] M. H. Cheng, and C. H. Lin: 'Novel paper-based microfluidic cassette for 2D paper chromatography and paper spray mass spectrometry (PS-MS) for drug metabolism analysis in urine', *The 31st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (IEEE MEMS)*, 2019, pp. 1233-1236
- [74] S. Banerjee, and S. Mazumdar: 'Electrospray ionization mass spectrometry: a technique to access the information beyond the molecular weight of the analyte', *International Journal of Analytical Chemistry*, 2012, 2012, pp. 282574
- [75] H. A. Dirven, P. H. van den Broek, and F. J. Jongeneelen: 'Determination of four metabolites of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate in human urine samples', *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 1993, 64, (8), pp. 555-560
- [76] C. Cagliero, B. Sgorbini, C. Cordero, E. Liberto, P. Rubiolo, and C. Bicchi: 'Cyclodextrin Derivatives as Stationary Phases for the GC Separation of Enantiomers in the Flavor and Fragrance Field': 'Importance of Chirality to Flavor Compounds', *Journal of the American Chemical Society*, 2015, pp. 15-34
- [77] H. Nishimura, Y. Noma, and J. Mizutani: 'Eucalyptus as Biomass - Novel Compounds from Microbial Conversion of 1,8-Cineole', *Agricultural and Biological Chemistry*, 1982, 46, (10), pp. 2601-2604
- [78] M. Sakairi, and H. Kambara: 'Atmospheric-Pressure Spray Mass-Spectrometry - Characteristics of the Mass-Spectra of Saccharides', *Analytical Sciences*, 1993, 9, (6), pp. 771-774
- [79] S. Hrouzková, M. Brišová, and A. Szarka: 'Development of fast, efficient and ecological method employing vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction combined with fast gas chromatography-mass spectrometry for pesticide residues analysis in alcohol-content samples', *Journal of Chromatography A*, 2017, 1506, pp. 18-26
- [80] D. Trivedi, M. K. Trivedi, A. Branton, G. Nayak, and S. Jana: 'Evaluation of the Impact of Consciousness Energy Healing Treatment On the Isotopic Abundance

- Ratios (pm+ 1/pm and Pm+ 2/pm) of Ofloxacin', *Journal of New Developments in Chemistry*, 2019, 2, (3), pp. 49
- [81] R. Huskova, P. Chrastina, T. Adam, and P. Schneiderka: 'Determination of creatinine in urine by tandem mass spectrometry', *Clinica Chimica Acta*, 2004, 350, (1-2), pp. 99-106
- [82] M. Aranda, and G. Morlock: 'Simultaneous determination of riboflavin, pyridoxine, nicotinamide, caffeine and taurine in energy drinks by planar chromatography-multiple detection with confirmation by electrospray ionization mass spectrometry', *Journal of Chromatography A*, 2006, 1131, (1-2), pp. 253-260
- [83] R. K. Kuester, and I. G. Sipes: 'Prediction of metabolic clearance of bisphenol A (4, 4'-dihydroxy-2, 2-diphenylpropane) using cryopreserved human hepatocytes', *Drug Metabolism and Disposition*, 2007, 35, (10), pp. 1910-1915
- [84] N. Urakawa, T. Nagata, K. Kudo, K. Kimura, and T. Imamura: 'Simultaneous determination of nicotine and cotinine in various human tissues using capillary gas chromatography/mass spectrometry', *International Journal of Legal Medicine*, 1994, 106, (5), pp. 232-236
- [85] M. Meger, I. Meger-Kossien, A. Schuler-Metz, D. Janket, and G. Scherer: 'Simultaneous determination of nicotine and eight nicotine metabolites in urine of smokers using liquid chromatography–tandem mass spectrometry', *Journal of Chromatography B*, 2002, 778, (1-2), pp. 251-261

# 論文原創性比對

3D列印紙微流體卡匣整合電噴灑抑制電極於高效能尼古丁與咖啡因代謝物檢測

## ORIGINALITY REPORT

4%

SIMILARITY INDEX

4%

INTERNET SOURCES

1%

PUBLICATIONS

1%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1	Submitted to National Sun Yat-sen University Student Paper	<1%
2	<a href="http://www.kmuh.org.tw">www.kmuh.org.tw</a> Internet Source	<1%
3	<a href="http://zh.wikipedia.org">zh.wikipedia.org</a> Internet Source	<1%
4	Yi-Chieh Li, Ming-Hsu Cheng, Che-Hsin Lin. "High-Performance Paper-Based Fluidic Cassette for Mass Spectrometry Analyzing Caffeine and Nicotine Metabolites", 2020 IEEE 33rd International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), 2020 Publication	<1%
5	<a href="http://scitechvista.nat.gov.tw">scitechvista.nat.gov.tw</a> Internet Source	<1%
6	<a href="http://zh.unionpedia.org">zh.unionpedia.org</a> Internet Source	<1%
7	<a href="http://etd.lib.nsysu.edu.tw">etd.lib.nsysu.edu.tw</a>	

## 自述

姓名：李奕韻 (Yi-Chieh, Li)

出生日期：1994/10/28

性別：男

出生地：台南市

電子信箱：m073020035@student.nsysu.edu.tw

學歷：

國立中山大學 機械與機電工程研究所 碩士 2018/09~2020/06

國立中山大學 機械與機電工程研究所 學士 2013/09~2018/06

私立黎明高級中學 2010/09~2013/06

發表著作：

國際研討會

1. **Yi-Chieh Li**, Che-Hsin Lin, “Paper Microfluidic Cassette Integrated with Pinching Electrodes for Spray Plum Focusing and High-Performance MS Detections” *The 23th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2019)*, Basel, Switzerland, October, 2019
2. **Yi-Chieh Li**, Ming-Hsu Cheng, Che-Hsin Lin, “High-Performance Paper-Based Fluidic Cassette for Mass Spectrometry Analyzing Caffeine and Nicotine Metabolites” *The 33st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2020)*, Vancouver, Canada, January, 2020

