

尿液中卡西酮類之檢驗方法(一)

Method of Test for Synthetic Cathinones in Urine (1)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於尿液中N-benzylmethcathinone等24品項卡西酮類成分及代謝物(品項見附表)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經淨化及衍生化後，以氣相層析質譜儀(gas chromatograph/mass spectrometer, GC/MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 氣相層析質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電子游離(electron ionization, EI)。
 - 2.1.1.2. 層析管：HP-5MS毛細管，內膜厚度0.25 μm ，內徑0.25 mm \times 30 m，或同級品。
 - 2.1.2. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.1.3. 酸鹼度測定儀(pH meter)。
 - 2.1.4. 加熱裝置(Heater)。
 - 2.1.5. 氮氣濃縮裝置(Nitrogen evaporator)。
 - 2.1.6. 真空固相萃取裝置(Solid phase vacuum extraction manifold)。
 - 2.2. 試藥：甲醇、異丙醇及乙酸乙酯均採用液相層析級；醋酸、二氯甲烷及氨水(32%)均採用分析級；無水磷酸氫二鉀、無水磷酸二氫鉀、氫氧化鈉、人工尿液及七氟丁酸酐(heptafluorobutyric anhydride)均採用試藥級；去離子水(比電阻於25°C可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；N-benzylmethcathinone等24品項對照用標準品；butylone-d₃、3,4-dimethylmethcathinone norephedrine-d₄、N-ethylcathinone ephedrine-d₅、ethylone-d₅、4-fluoroephedrine-d₃、methcathinone-d₃、4-methylephedrine-d₃、4-methyl-N-ethyl-norephedrine-d₅、4-methylmethcathinone-d₃及methylone-d₃同位素內部標準品。
 - 2.3. 器具與材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：10 mL及1000 mL。
 - 2.3.2. 固相萃取匣：Bond Elut SPEC DAU cartridge，15 mg，3 mL，或同級品。
 - 2.3.3. 錐形底玻璃微量反應瓶：3 mL。
 - 2.4. 試劑之調製：

2.4.1. 5 M氫氧化鈉溶液：

取氫氧化鈉200 g，以去離子水溶解使成1000 mL。

2.4.2. 0.1 M磷酸緩衝溶液：

取無水磷酸氫二鉀1.7 g及無水磷酸二氫鉀12.14 g，加去離子水900 mL溶解，以5 M氫氧化鈉溶液調整pH值至6.0，再加去離子水使成1000 mL。

2.4.3. 0.1 M醋酸溶液：

取醋酸6 g，加去離子水使成1000 mL。

2.4.4. 沖提溶液：

取二氯甲烷80 mL、異丙醇20 mL及氨水2 mL，混合均勻。

2.5. 內部標準溶液之配製：

取同位素內部標準品各約1 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至10 mL，作為內部標準原液，於-20°C避光儲存。臨用時取適量各內部標準原液混合，以甲醇稀釋至10 µg/mL，供作內部標準溶液。

2.6. 標準溶液之配製：

取對照用標準品各約1 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至10 mL，作為標準原液，於-20°C避光儲存。臨用時取適量各標準原液混合，以甲醇稀釋至10 µg/mL，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

將檢體混勻，精確量取2 mL，加入內部標準溶液20 µL及0.1 M磷酸緩衝溶液1 mL，混合均勻，注入預先以甲醇1 mL及去離子水1 mL潤洗之固相萃取匣，棄流出液。依序以0.1 M醋酸溶液1 mL及甲醇1 mL流洗，棄流出液。以氮氣吹乾4分鐘，再以沖提溶液2 mL進行沖提，收集沖提液於錐形底玻璃微量反應瓶中，於40°C以氮氣吹乾。殘留物加入衍生化試劑七氟丁酸酐50 µL及乙酸乙酯50 µL，加蓋混勻，於90°C反應15分鐘。冷卻至室溫，於40°C以氮氣吹乾，殘留物以乙酸乙酯100 µL溶解，供作檢液。

2.8. 檢量線之製作：

取人工尿液作為空白檢體，分別添加標準溶液10~400 µL，使體積為2 mL，再加入內部標準溶液20 µL及0.1 M磷酸緩衝溶液1 mL，依2.7.節調製檢量線溶液，並依下列條件進行分析，就各卡西酮類與其內部標準品之波峰面積比，與對應之各卡西酮類濃度，分別製作1~40 µg/mL之檢量線。

氣相層析質譜分析測定條件^(註)：

層析管：HP-5MS，內膜厚度0.25 μm，內徑0.25 mm × 30 m。

層析管溫度：初溫：140 °C，1 min；

升溫速率：2 °C/min；

中溫 1：150 °C，10 min；

升溫速率：5°C/min；

中溫 2：180°C，7min；

升溫速率：20°C/min；

終溫：200 °C。

注入器溫度：260°C。

注入量：2 μL。

移動相流速：氦氣，0.8 mL/min。

介面溫度：280°C。

離子化模式：EI，70 eV。

離子源溫度：230°C。

注入模式：不分流(splitless)。

偵測模式：選擇性離子偵測(selected ion monitoring, SIM)，偵測離子如附表。

註：上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

2.9. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及檢量線溶液各2 μL，分別注入氣相層析質譜儀中，依2.8.節條件進行分析。就檢體與檢量線溶液所得波峰之滯留時間及相對離子強度^(註)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各卡西酮類之含量(ng/mL)：

$$\text{檢體中各卡西酮類之含量(ng/mL)} = \frac{C \times V \times 1000}{M}$$

C：由檢量線求得檢液中各卡西酮類之濃度(μg/mL)

V：檢體最後定容之體積(0.1 mL)

M：取樣分析檢體之體積(mL)

註：相對離子強度由定性離子與定量離子之波峰面積相除而得，容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 10

> 20~50	± 15
> 10~20	± 20
≤ 10	± 50

附註：1. 本檢驗方法之定量極限，N-benzylmethcathinone等24品項均為50 ng/mL。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

Hong, W. Y., Ko, Y. C., Lin, M. C., Wang, P. Y., Chen, Y. P., Chiueh, L. C., Shih, D. Y., Chou, H. K. and Cheng, H. F. 2016. Determination of synthetic cathinones in urine using gas chromatography-mass spectrometry techniques. *J. Anal. Toxicol.* 40: 12-16.

附表、4-Bromomethcathinone 等 24 項卡西酮類及內部標準品之 SIM 模式偵測離子

分析物	偵測離子(m/z)	內部標準品
N-Benzylmethcathinone	171*、143、431	4-Methylmethcathinone-d ₃
4-Bromomethcathinone	254*、183、210	4-Methylmethcathinone-d ₃
Butylone	268*、210、269	Butylone-d ₃
4-Chloromethcathinone	254*、139、210	4-Methylmethcathinone-d ₃
2,5-Dimethoxy-4-methylmethcathinone	179*、136、254	4-Methylmethcathinone-d ₃
3,4-Dimethylmethcathinone	133*、105、254	4-Methylmethcathinone-d ₃
3,4-Dimethylmethcathinone norephedrine	331*、240、358	3,4-Dimethylmethcathinone norephedrine-d ₄
Ethcathinone	268*、240、105	Methcathinone-d ₃
N-Ethylcathinone ephedrine	268*、240、358	N-Ethylcathinone ephedrine-d ₅
4-Ethylethcathinone	133*、268、240	4-Methylmethcathinone-d ₃
4-Ethylmethcathinone	133*、254、105	4-Methylmethcathinone-d ₃
Ethylone	268*、240、269	Ethylone-d ₅
4-Fluoroethcathinone	268*、240、123	Methcathinone-d ₃
4-Fluoroephedrine	254*、210、362	4-Fluoroephedrine-d ₃
4-Fluoromethcathinone	254*、210、213	Methcathinone-d ₃
Methcathinone	254*、210、105	Methcathinone-d ₃
4-Methoxyethcathinone	135*、268、240	4-Methylmethcathinone-d ₃
4-Methoxymethcathinone	135*、254、210	4-Methylmethcathinone-d ₃
4-Methylephedrine	254*、210、358	4-Methylephedrine-d ₃
4-Methylethcathinone	119*、268、240	4-Methylmethcathinone-d ₃
4-Methyl-N-ethyl-norephedrine	268*、240、372	4-Methyl-N-ethyl-norephedrine-d ₅
4-Methylmethcathinone	254*、210、255	4-Methylmethcathinone-d ₃
Methylone	254*、210、255	Methylone-d ₃
Pentylone	149*、282、240	Ethylone-d ₅
Butylone-d ₃ (I.S.)	271*	-
3,4-Dimethylmethcathinone norephedrine-d ₄ (I.S.)	243*	-
N-Ethylcathinone ephedrine-d ₅ (I.S.)	273*	-
Ethylone-d ₅ (I.S.)	273*	-
4-Fluoroephedrine-d ₃ (I.S.)	257*	-
Methcathinone-d ₃ (I.S.)	257*	-
4-Methylephedrine-d ₃ (I.S.)	257*	-
4-Methyl-N-ethyl-norephedrine-d ₅ (I.S.)	273*	-
4-Methylmethcathinone-d ₃ (I.S.)	257*	-
Methylone-d ₃ (I.S.)	257*	-

*定量離子