

國立臺灣大學醫學院法醫學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Forensic Medicine

College of Medicine

National Taiwan University

Master's Thesis

利用箭型頭固相微萃取技術開發有機性揮發物分析平
台與法醫應用可行性評估

Development of an analytical method for volatile organic
compounds using a novel solid-phase microextraction
arrow approach and assessment of its feasibility on
forensic investigations

張晏維

Yen-Wei Chang

指導教授：翁德怡 博士、陳冠元 博士

Advisors: Te-I Weng, Ph. D. & Guan-Yuan Chen, Ph. D.

中華民國 113 年 07 月

July, 2024



口試委員會審定書



國立臺灣大學碩士學位論文 口試委員會審定書 MASTER'S THESIS ACCEPTANCE CERTIFICATE NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY

利用箭型頭固相微萃取技術開發有機性揮發物分析平台與法醫應用可行性評估

Development of an analytical method for volatile organic compounds using a novel solid-phase microextraction arrow approach and assessment of its applicability in forensic investigations

本論文徐張晏維 (R09452001) 在國立臺灣大學法醫學研究所完成之碩士學位論文，於民國 113 年 07 月 11 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明。

The undersigned, appointed by the Department Institute of Forensic Medicine on 11, July, 2024 have examined a Master's Thesis entitled above presented by Yen-Wei Chang (R09452001) candidate and hereby certify that it is worthy of acceptance.

口試委員 Oral examination committee:

翁德怡

(指導教授)

廖曉偉

陳冠廷

系主任、所長 Director:

翁德怡

致謝



我即將結束為期四年的碩士班生涯，心中充滿感激之情。首先我要感謝毒化實驗室的兩位指導老師 — 翁德怡老師和陳冠元老師，他們不僅給了我接觸非我專業領域的機會，還教導我法醫毒物學的理论知識、實際操作技巧以及提供研究方向，使我能順利完成本次研究。同時也感謝廖曉偉老師在口試中的指導與建議，使我的論文更加完整。

特別感謝實驗室的夥伴們，尤其是前幹事儒佑學長，他不僅帶領我熟悉每一台儀器的操作流程，還耐心地教導我實驗的原理。同時我也要向坤城學長致歉，因為我實驗時間有限，常常會在他使用儀器時造成干擾，不得不請他調整工作時間。育樑學長、玟陵和家瑋則在實驗過程中給予我各種形式的幫助，使我能順利完成實驗。

感謝所有同學、學長姊及學弟妹們在我撰寫論文和準備口試過程中的支持與協助。特別要提到依庭，從我踏入毒化實驗室到論文最終完成，她總是不厭其煩地解答我的各種問題。同樣感謝宜芳在論文格式方面的細心指導，使我能順利地完成論文撰寫。

最後感謝其他老師，包括李俊億老師、孫家棟老師、吳木榮老師、張晉誠老師以及所有客座教授，他們慷慨地分享了他們的知識，拓展了我在法醫學各個方面的見解。這些學習將使我未來在法醫實踐中更加得心應手。同時我也要特別感謝淑芬姊，在我整個學術生涯中在行政上給予的無微不至的支持和幫助。

中文摘要



揮發性有機分子 (volatile organic compounds, VOC) 是一群具有高蒸氣壓和低水溶性之化合物，充斥於整個環境當中。而人體體內所存在的各種菌相，依據其不同的代謝途徑，會產生各式各樣的 VOC，在過去已陸續針對人體所呼出 VOC 以及人體死後所產生的 VOC 進行研究分析。本研究使用近年來新發展出的箭型頭固相微萃取法 (SPME arrow) 進行實驗及開發分析平台。在建立 VOC 的萃取方法後，實際應用在法醫層面，分析不同環境或不同時間作用下，其微生物相所產生的 VOC 亦不盡相同，亦針對同個環境下比較不同器官所產生 VOC 的差異性，建立其所產生的 VOC 種類，並討論可能影響的變因。此外使用人體組織進行實驗，試圖找出潛在 VOC 用於對死後時間間隔的研判。然而實際法醫檢體有取得上的困難及相關資訊的不足，以及影響死後變化的變因過多，尚未能有效找出合適於判斷死後時間間隔之 VOC。

關鍵字：揮發性有機化合物 (VOC)、箭型頭固相微萃取法 (SPME arrow)、氣相層析質譜儀、法醫檢體及死後時間間隔。

英文摘要



Volatile organic compounds (VOCs) are a group of compounds with high vapor pressure and low water solubility, prevalent in the environment. Various microbial communities within the human body produce diverse VOCs through different metabolic pathways. Previous studies have systematically analyzed VOCs exhaled by humans and those produced post-mortem. This study employs the recently developed solid-phase microextraction arrow (SPME arrow) method to experimentally develop an analysis platform. After establishing methods for VOC extraction, practical applications in forensic science involve analyzing VOCs produced by microbial communities under different environmental conditions and over time. The study also compares VOCs produced by different organs within the same environment, categorizing their types and discussing influencing factors. Additionally, experiments using human tissues aim to identify potential VOCs for estimating post-mortem intervals. Challenges in obtaining forensic samples and insufficient related information, coupled with numerous variables affecting post-mortem changes, have hindered the effective identification of VOCs suitable for determining post-mortem intervals.

KEY WORDS: Volatile organic compounds (VOCs), Solid phase microextraction arrow (SPME arrow), Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS), Forensic, Post-Mortem Interval (PMI).

目次



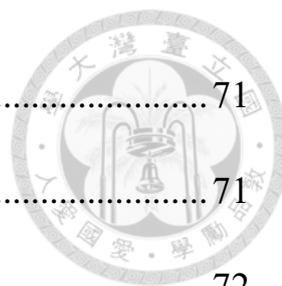
口試委員會審定書	i
致謝	ii
中文摘要	iii
英文摘要	iv
目次	v
圖次	viii
表次	xii
第一章 緒論	1
1.1 固相微萃取法 SPME (Solid-phase microextraction) 原理	5
1.2 固相微萃取法纖維頭 SPME Fiber.....	5
1.3 箭型頭固相微萃取法 SPME arrow.....	7
1.4 氣相層析質譜儀 GC-MS (Gas chromatography-Mass spectrometry).....	8
第二章 材料與方法	9
2.1 材料	9
2.1.1 不同吸附材質的纖維頭 (SPME Fiber).....	9
2.1.2 箭型頭 (SPME Arrow).....	9



2.1.3	收集容器	9
2.1.4	標準品	11
2.1.5	研究設備	12
2.1.5.1	頂空進樣氣相層析質譜儀 HS-GC-MS	12
2.1.5.2	氣相層析質譜儀參數設定.....	12
2.1.6	分析軟體	14
2.2	實驗方法	14
2.2.1	建立固相微萃取法萃取揮發性有機化合物 (VOC) 的 實驗流程	14
2.2.1.1	比較不同吸附材質纖維頭.....	15
2.2.1.2	比較相同吸附材質的纖維頭及箭型頭.....	15
2.2.1.3	優化萃取時間.....	15
2.2.1.4	頂空瓶的保存效果.....	16
2.2.1.5	分析方法的確效.....	16
2.2.2	實際應用	17
2.2.2.1	食物的氣味.....	17
2.2.2.2	人體呼出氣體 VOC	17
2.2.2.3	飲食前後的 VOC	18
2.2.2.4	不同地點屍體氣味.....	18

2.2.3	死後時間間隔分析	19
第三章	結果	20
3.1	建立並優化固相微萃取法	20
3.1.1	標準品 EPA 及 Alkanes 的遲滯時間	20
3.1.2	不同吸附材質的纖維頭	22
3.1.3	相同吸附材質的纖維頭與箭型頭	23
3.1.4	優化萃取時間	24
3.1.5	頂空瓶的保存效果	25
3.2	實際應用	36
3.2.1	食物的氣味	36
3.2.2	人體呼出的氣體	39
3.2.3	飲食前後的 VOC	40
3.2.4	不同屍體的氣味	40
3.2.4.1	水浮屍的氣味的比較	40
3.2.4.2	山林間屍體的氣味	49
3.2.4.3	家中屍體的氣味	52
3.2.4.4	相同臟器但不同陳屍處的氣味比較	54
3.3	死後時間間隔分析	59
第四章	討論	66





第五章	結論.....	71
第六章	限制.....	71
第七章	參考文獻.....	72

圖次

圖 1	人體肺臟中含有的揮發性有機分子 (VOC) 示意圖。	2
圖 2	SPME Fiber 基本構造圖，當 Plunger 下壓時，金屬針管內的 Fiber 會裸露出來。	6
圖 3	SPME Fiber 萃取時示意圖，讓金屬針管進到待萃取空間時，再將 Fiber 裸露，進行萃取。	6
圖 4	SPME Arrow 基本構造圖，與 Fiber 不同點在於最下端裝有「箭形頭」。 ...	6
圖 5	Thermo Scientific™ Glass Crimp Top Headspace Vials 20 毫升頂空瓶，將待測物加入瓶內後將帶有軟塞的旋蓋旋緊，萃取時再藉由穿過軟塞進行後續萃取。 ..	8
圖 6	三種 SPME Fiber 外觀示意圖，除依照仿單上指示不同顏色的螺帽頭具有不同的吸附材質外，纖維頭本身並無任何關於成分的標幟。	10
圖 7	SPME Arrow 外觀示意圖，和纖維頭相同均以不同顏色的螺帽頭用來區分，和纖維頭不同的部位在於最下端有一個箭形尖端，用以保護纖的纖細的纖維頭。	10
圖 8	頂空氣相層析質譜儀示意圖，右上方樣品進樣處則改以手動將固相微萃取法所萃取出的樣品打進入樣口。	13
圖 9	分析管柱升溫折線圖。	14
圖 10	箭型頭固相微萃取法檢驗標準品，以氣相層析質譜圖呈現。	21
圖 11	比較不同吸附材質之纖維頭，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 CWR，綠色	

標籤為 DVB/CWR/PDMS，藍色標籤為 PDMS/DVB，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。	22
圖 12 EPA 作為標準品，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 Arrow，綠色標籤為 Fiber，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。	23
圖 13 Alkane 作為標準品，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 Arrow，綠色標籤為 Fiber，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。	24
圖 14 不同萃取時間之比較，EPA 作為標準品，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 10 分鐘，綠色為 15 分鐘，藍色為 30 分鐘，天青色為 5 分鐘，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。	25
圖 15 不同萃取時間之比較，混合 EPA 及 Alkane 兩種標準品，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 10 分鐘，綠色為 15 分鐘，藍色為 30 分鐘，天青色為 5 分鐘，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。	26
圖 16 混合標準品 10 µg/mL，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 0 天，綠色為 3 天後，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。	27
圖 17 混合標準品 100 µg/mL，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 0 天，綠色為 3 天後，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。	28
圖 18 標準品各 VOC 線性迴歸圖。	35
圖 19 氣相層析質譜層析圖 (上圖為對照組，下圖為加入食物汁液)。	38
圖 20 加入食物之對照，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為有食物汁液，綠色為對照組，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。	38
圖 21 氣相層析質譜層析圖 (上圖為對照組，下圖為收集人體所呼出之氣體)。	39
圖 22 氣相層析質譜層析圖 (上圖為飲食之前，下圖為飲食之後)。	40
圖 23 氣相層析質譜層析圖 (上圖為對照組，下圖為加入水浮屍肺臟組織)。	41
圖 24 加入水浮屍肺臟組織之對照，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為加入水浮屍組織，綠色為對照組，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區	



分)。..... 43

圖 25 不同海邊水浮屍組織比較，以氣相層析質譜層析圖呈現 (上圖為中部海邊，下圖為北部海邊)。..... 44

圖 26 各器官重疊之氣相層析質譜層析圖 (藍色為腦部，紅色為肺臟，綠色為肝臟，粉色為小腸，天青色為腎臟)。..... 45

圖 27 腹腔內器官重疊之氣相層析質譜層析圖 (藍色為肝臟，紅色為小腸)。.... 46

圖 28 水浮屍各器官所含 VOC 比較，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為腦部，綠色為小腸，藍色為腎臟，天青色為肝臟，粉色為肺臟，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。..... 47

圖 29 氣相層析質譜層析圖 (上圖為對照組，下圖為加入山林間屍體組織)。.... 49

圖 30 山林間屍體組織所含 VOC 比較，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為加入屍體組織，綠色為對照組，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。..... 51

圖 31 各器官之氣相層析質譜層析圖比較，自上到下依序為對照組、大腦、肺臟、肝臟、小腸及腎臟。..... 53

圖 32 家中腐屍各器官組織所含 VOC 比較，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為大腦，綠色為小腸，藍色為腎臟，天青色為肝臟，粉色為肺臟，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。..... 54

圖 33 位於不同區域屍體的大腦所含 VOC，以重疊之氣相層析質譜層析圖呈現 (藍色為水浮屍，紅色為家中腐屍)..... 55

圖 34 位於不同區域屍體的肺臟所含 VOC，以重疊之氣相層析質譜層析圖呈現 (藍色為水浮屍，紅色為家中腐屍)..... 55

圖 35 位於不同區域屍體的肝臟所含 VOC，以重疊之氣相層析質譜層析圖呈現 (藍色為水浮屍，紅色為家中腐屍)..... 56

圖 36 位於不同區域屍體的小腸所含 VOC，以重疊之氣相層析質譜層析圖呈現

(藍色為水浮屍，紅色為家中腐屍).....	56
圖 37 位於不同區域屍體的腎臟所含 VOC，以重疊之氣相層析質譜層析圖呈現 (藍色為水浮屍，紅色為家中腐屍).....	57
圖 38 實際檢體放置環境與時序圖，到第 2 個月時已無殘餘組織。.....	60
圖 39 第 0 天檢體之氣相層析質譜層析圖比較 (上圖為對照組，中間為肺臟，下 圖為肝臟)。	61
圖 40 第 3 天檢體之氣相層析質譜層析圖比較 (上圖為對照組，中間為肺臟，下 圖為肝臟)。	61
圖 41 第 7 天檢體之氣相層析質譜層析圖比較 (上圖為對照組，中間為肺臟，下 圖為肝臟)。	62
圖 42 第 14 天檢體之氣相層析質譜層析圖比較 (上圖為對照組，下圖為肺臟)	62
圖 43 第 28 天檢體之氣相層析質譜層析圖比較 (上圖為對照組，下圖為肺臟)。	63
圖 44 肺臟在不同腐敗時間的變化比較，以氣相層析質譜層析圖呈現，自上到下 依序為第 0、3、7、14 及 28 天)。	63
圖 45 肺臟在不同腐敗時間所含 VOC 比較，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為第 14 天，綠色為第 28 天，藍色為第 3 天，天青色為第 7 天，粉色為第 0 天， 萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分).....	64
圖 46 肝臟在不同腐敗時間的變化比較，以氣相層析質譜層析圖呈現，自上到下 依序為第 0、3 及 7 天).....	65
圖 47 肝臟在不同腐敗時間所含 VOC 比較，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為第 3 天，綠色為第 78 天，藍色為第 0 天，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖 啡色至深藍色為區分)。	65
圖 48 檢出 VOC 與 NIST 圖譜中 Dimethyl Disulfide 的匹配程度及離子片段。	68

圖 49 檢出 VOC 與 NIST 圖譜中 Dimethyl Trisulfide 的匹配程度及離子片段。

69

表次

表 1 人體位於不同狀況下潛在生物指標之 VOC 分子。.....	2
表 2 三種 SPME Fiber 的仿單資料，分別列出吸附材質、Fiber 粗細及長度、萃 取目標物及其分子量範圍.....	7
表 3 標準品 EPA 所含 VOC 成分列表。.....	11
表 4 標準品 Alkanes 所含 Alkanes 成分列表。.....	12
表 5 分析管柱升溫圖參數設定。.....	13
表 6 標準品 EPA 及 Alkanes 內檢出 VOC 之遲滯時間。.....	20
表 7 分別為各標準品 VOC 之線性迴歸公式，線性關係 (R^2)，QC、精確度、線 性範圍、LOD ($\mu\text{g/mL}$) 及 LOQ ($\mu\text{g/mL}$)。.....	29
表 8 該食物所含 VOC 及其延遲時間 (RT)。.....	36
表 9 中部海邊水浮屍組織所含 VOC 及其延遲時間 (RT)。.....	41
表 10 北部海邊水浮屍組織所含 VOC 及其延遲時間 (RT)。.....	47
表 11 山林間屍體組織所含 VOC 及其延遲時間 (RT)。.....	50
表 12 家中腐屍組織所含 VOC 及其延遲時間 (RT)。.....	52
表 13 不同陳屍地點所含 VOC 之比較 (左欄為家中腐屍，右欄為水浮屍)。...	57



第一章 緒論

由於科技技術的進步，從過往開刀的診斷、血液檢查、影像攝影，到目前低劑量的電腦斷層診斷，其目的是希望把對人體傷害降到最低的情況下做出確切診斷，即使低劑量電腦斷層，仍需接受到少量輻射線。近年來由於 COVID-19 疫情爆發，額外接觸患者的檢體就有可能增加感染的風險，然而無論是快速篩檢或是 RT-PCR 的確診性方法，均需要採檢鼻咽拭子 (nasopharyngeal swab)，其操作需要專業醫療人員較能確保採集位置的準確性，但其操作過程亦容易使操作者暴露在較高的感染風險。使用呼氣這類非侵入性的方法所取得的檢體進行研究，一方面對於高傳染性疾病可以降低醫療人員被感染的機率，另一方面則可達到對人體無傷害的診斷方式¹。

揮發性有機分子 (volatile organic compounds, VOC) 是一群具有高蒸氣壓和低水溶性之化合物，包括含硫化合物、含氮化合物、醚類、烷類、烯類、芳香環等分子，充斥於整個環境當中。而人體體內所存在的各種菌相，依據其不同的代謝途徑，像是吲哚 (indole) 來自於色胺酸 (tryptophan) 代謝、對硫甲酚 (p-cresol) 則是來自於酪胺酸 (tyrosine) 代謝，會產生各式各樣的 VOC (如圖 1)，在過去已陸續針對人體所呼出 VOC 進行研究分析，其 VOC 的含量與人體當下的狀態有關。當身體狀況改變時，包含飲食的差異、受到感染或是罹患不同疾病等，其呼出的 VOC 會有些許的差異性 (如表 1)。藉由分析 VOC 的含量差異作為疾病的篩檢是非常具有潛力的方式之一。除上述對疾病的研究外，目前亦已有文獻透過感染 COVID-19 的與否進行 VOC 的分析。Ruszkiewicz 等人利用氣相層析離子遷移光譜儀 (GC-IMS) 在英國與德國兩地各別招募 33 與 65 個受試者，分別包含 21 與 10 個 PCR 確認之陽性患者，分析其呼氣 VOC 之圖譜¹。

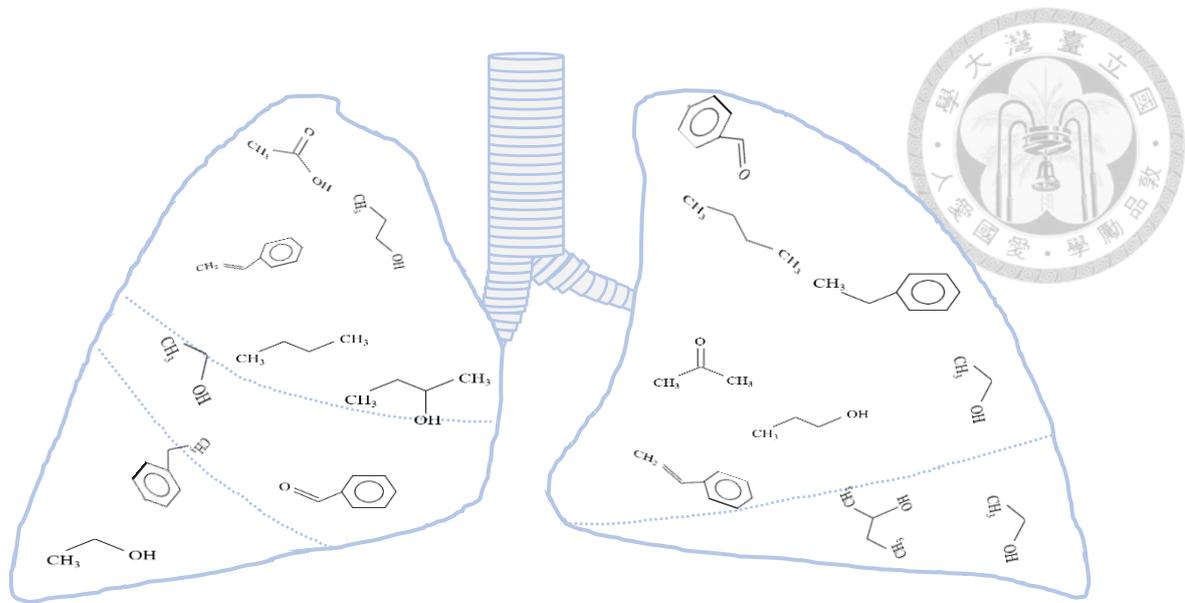


圖 1 人體肺臟中含有的揮發性有機分子 (VOC) 示意圖。

表 1 人體位於不同狀況下潛在生物指標之 VOC 分子。

疾病	VOC 分子
Alcoholism	Acetaldehyde ²
Bacterial infection	Ethanol ²
Stomach cancer	Acetone, carbon disulfide, 2-propanol, ethyl alcohol, ethyl acetate ³
Liver cirrhosis	Carbon disulfide, dimethyl sulfide, acetone, 2-butanone, 2-pentanone ⁴
Active pulmonary tuberculosis	Oxetane, dodecane, cyclohexane, benzene, decane, tridecane, heptane and derivatives ⁵
Emphysema	2-methylbutanal ⁶
Lung cancer	1-butanol, 3-hydroxy-2-butanone ⁷ ; Dimethyl sulfide, butane, butanal ⁸ ; Pentanal, hexanal, octanal, nonanal ⁹
Chronic Obstructive Pulmonary Disease	Decane, 6-ethyl-2-methyl- ¹⁰

Cystic fibrosis	Methyl thiocyanate ¹¹ ; Hydrogen cyanide ^{12, 13}
Breast cancer	(S)-1,2-propanediol, cyclopentanone, ethylene carbonate, 3-methoxy-1,2-propanediol, 3-methylpyridine, phenol, and tetramethylsilane ¹⁴
Whole grain diets	Benzoic acid derivatives, phenolic compounds, and furanones ¹⁵

文獻上關於如何收集人體呼出氣體的容器有以下數種方式：第一類是使用 Sorbent trap 收集 ^{2, 4, 5, 16-24}，第二類是使用 Tedlar bag 收集 ^{3, 6, 7, 10, 12, 25}，上述兩種均需要其他機器配合使用；第三種則是直接取受測者肺泡空氣注入 Gastight syringe 再移至 20 毫升頂空瓶內 ^{8, 9, 14}，而近年來發展出非侵入式手持設備 RTube™，受試者可正常呼吸到設備中後冷凝收集 ²⁶⁻²⁸，而為了能更即時檢測及比較不同時間點呼出代謝體學的研究，亦發展出直接將呼出氣體導入 Secondary Electrospray Ionization (SESI) 和 High-Resolution Mass Spectrometry 相連之機器進行分析 ²⁹。

除了改變收集氣體之方法外，在針對呼出的 VOC 濃度過低 (ng/mL) 的問題，直接頂空注射分析可能無法取得最佳之偵測模式。因此許多濃縮萃取裝置，像是固相萃取法 SPME (Solid-phase microextraction) 或是搭配熱脫附 TDU (Thermal Desorption Unit) 套件提升偵測靈敏度。然而不同材質的吸附劑像是 Tenax TA、Tenax GR 或是 Carboxen fibers 等可能都會對 VOC 的萃取回收率有影響，必須仔細評估後，才能作為開發生物指標分子之用。Eckert 等人發現 CWR/PDMS arrow 比 traditional CWR/PDMS fiber 或其他種類吸附劑的萃取率、敏感度、偵測化合物的範圍均較好，並針對 *B. subtilis* 微生物的產物進行分析 ³⁰。

於 2005 年開始，Statheropoulos 等人就曾用 Sorbent trap 收集兩具屍體的屍袋中的氣體後，以 GC-MS 進行分析，並於其中找出 dimethyl disulfide、toluene、



hexane、benzene 1,2,4-trimethyl、2-propanone 及 3-pentanone 較為突出的 VOC，亦認為這些 VOC 所檢測到的濃度可能與屍體的分解速率有關³¹。由於 VOC 是由不同菌相的代謝途徑所產生，後續亦有學者針對單獨分析不同菌相間所產生的 VOC^{30, 32}、或是針對儲藏屍體（埋葬或是藏匿用）的周邊土壤環境分析其 VOC，Stadler 等人藉由整理過去文獻後整理出人體死後常見的 VOC 種類如醇類（1-Propanol、1,2-Propanediol、1-Butanol、1-Butanol, 3-methyl、2-Butanol、1-Pentanol、1-Hexanol、1-Heptanol、1-Octanol 及 1-Octen-3-ol）、醛類（Butanal, 3-methyl、Pentanal、Pentanal, 2-methyl、Hexanal、Heptanal、2-Heptenal、Octanal 及 2-Decenal）、芳香類（Benzaldehyde、Benzonitrile、Benzenesulfonic acid, 4-hydroxy、Indole、Indole, 3-methyl、Phenol 及 Phenol, 4-methyl）、有機酸類（Acetic Acid、Propanoic acid、Propanoic acid, 2-methyl、Butanoic acid、Butanoic acid, 2-methyl、Butanoic acid, 3-methyl、Pentanoic acid 及 Hexanoic acid）、烷類（1-Octene、Octane、Nonane、1,11-Dodecadiene 及 1-Undecene）、酮類（2-Butanone、2-Butanone, 3-methyl、2-Pentanone、2-Heptanone、2-Octanone、1-Octen-3-one、2-Nonanone、2-Decanone、2-Undecanone、3-Octanone 及 3-Octen-2-one）、含氮化合物（Trimethylamine、Aziridine、Ethanamine, N-methyl、Ethylenimine、Octodrine、Hexanenitrile 及 Pyrazine, 2-6-dimethyl）和含硫化合物（Dimethyl Disulfide、Dimethyl Trisulfide 及 Dimethyl Tetrasulfide）等等³³；其他法醫學方面的應用包含現場遺留的紡織品上的遺留氣味³⁴、活人的體味差異³⁵及人種鑑別等方面³⁶。而劉蓓蓓等人則是分析大鼠肌肉產生的 VOC 討論其變化規律與死亡時間的關係³⁷，並對不同種的 VOC 濃度找出其回歸方程式，顯示 VOC 除了檢出的種類外，更可進一步反推可能的死亡時間，可以更有效的應用在法醫學上。

由於 VOC 的含量極低，大部分的文獻均採用不同的濃縮萃取方法以提高萃取效果，即使使用 SPME 多數也是使用 SPME Fiber 進行實驗，在臺灣尚未有人使用 SPME Arrow 進行法醫學方面的實驗。因此本研究在比較 Fiber 與

Arrow 的萃取效率後，建立 SPME Arrow 的檢測方法，並以實際法醫的案件進一步應用分析。



1.1 固相微萃取法 SPME (Solid-phase microextraction) 原理

固相微萃取法是由 Pawliszyn 教授研究團隊所開發，將取樣、萃取、濃縮及進樣四者整合為單一步驟，僅使用一支於表層塗覆不同材質（固定相）的熔融矽纖維，將其暴露在待測的液相或氣相待測物中，等待分析物吸附上去後，便可將其進樣到氣相層析質譜儀 (GC-MS) 或液相層析質譜儀 (HPLC-MS) 等進行分析。一開始發展為類似針筒型設計 (如圖 2)，萃取端為細金屬針管，被針筒推出後為裸露的纖維，因此稱為固相微萃取法纖維頭 SPME Fiber，萃取方法如圖 3 所示。由於單純保護纖維頭的細金屬針管在實驗過程中容易折損，連帶其保護的纖維頭會一併損毀，因此 CTC Analytic AG 開發出箭型頭固相微萃取法 SPME Arrow (如圖 4)，於纖維前端添加金屬針桿使其使用壽命增加以減少實驗室的消耗成本。

1.2 固相微萃取法纖維頭 SPME Fiber

固相微萃取法纖維頭 (SPME Fiber，後面簡稱為纖維頭)，是指在萃取端以纖維為基本材質，塗上不同的表層材質以方便萃取所需要的分析物後，再注入到氣相層析質譜儀中進行分析。目前常見的材質如活性碳吸附劑 (CarboxenTM, CAR, Carbowax®, CW)、二乙烯基苯 (divinylbenzene, DVB)、聚丙烯酸 (polyacrylate, PA)、聚二甲基矽氧烷 (polydimethylsiloxane, PDMS)，亦有相互混合以增加吸附效果如 PDMS/DVB、DVB/CAR/PDMS 等等，除了用以吸附的材質不同之外，也有依據不同的需求更改纖維自身的厚度以供使用。吸附材質若為 PDMS，是建議用來分析揮發性物質 (分子量介於 80-500 之間)；若為 PDMS/DVB 則建議使用於食物及飲料的部分；而 DVB/CAR/PDMS 則是建議用來分析揮發性或半揮發性物質 (碳鏈長 C3-C20，分子量介於為 40-275 之間) (如表 2)。

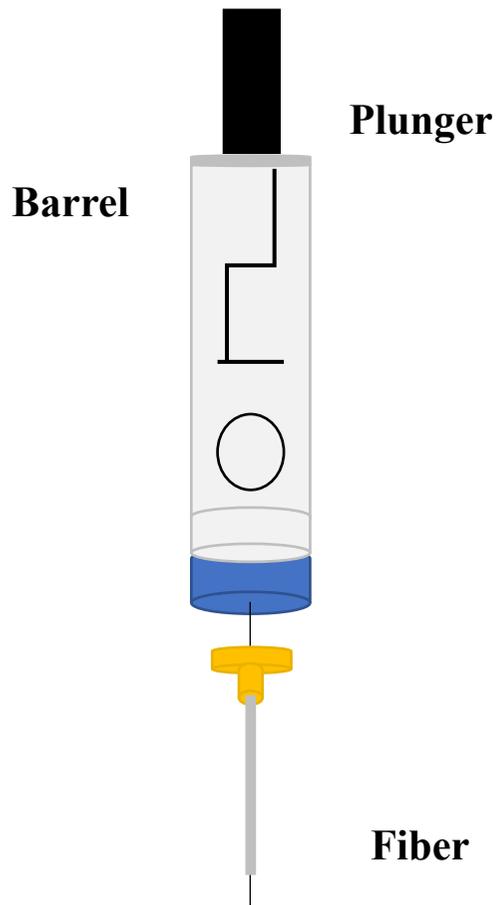


圖 2 SPME Fiber 基本構造圖，當 Plunger 下壓時，金屬針管內的 Fiber 會裸露出來。

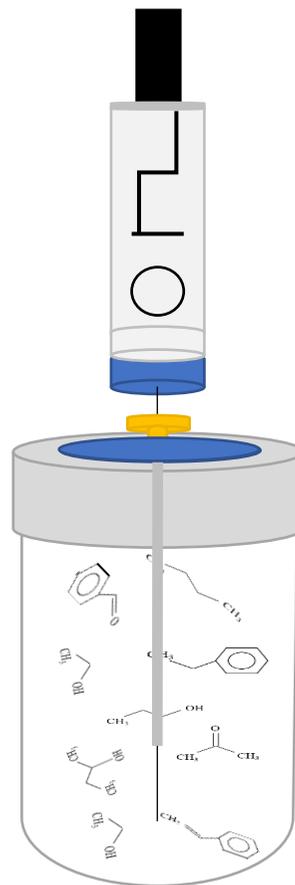


圖 3 SPME Fiber 萃取時示意圖，讓金屬針管進到待萃取空間時，再將 Fiber 裸露，進行萃取。

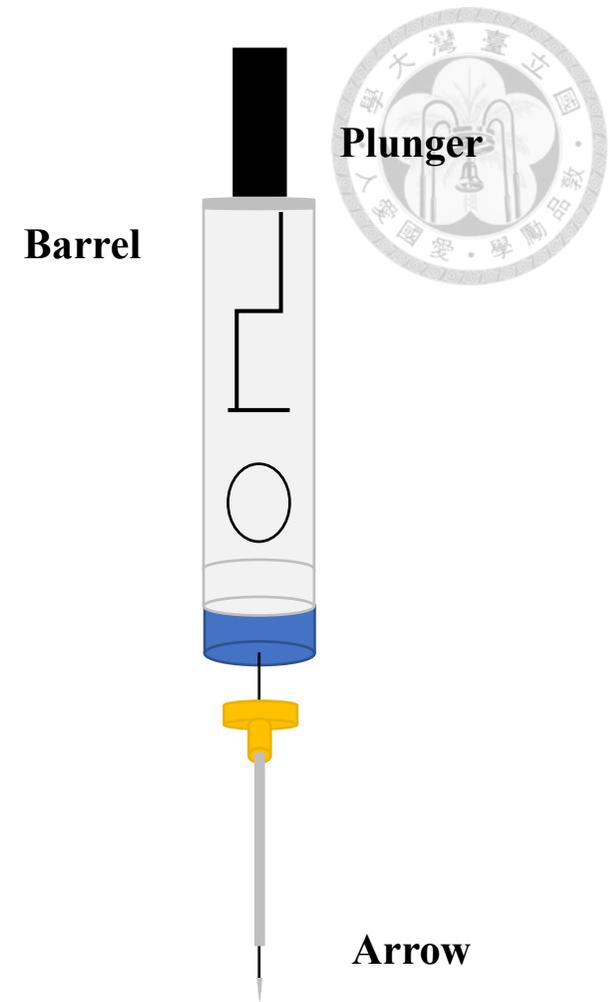


圖 4 SPME Arrow 基本構造圖，與 Fiber 不同點在於最下端裝有「箭形頭」。

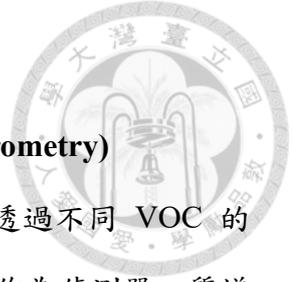


表 2 三種 SPME Fiber 的仿單資料，分別列出吸附材質、Fiber 粗細及長度、萃取目標物及其分子量範圍

廠牌	Restek®	Restek®	Supelco
Stationary Phase	Carbon Wide Range (CWR) /PDMS	DVB/CWR/PDMS	PDMS/DVB
Thickness (µm)	95	80 (50 DVB/30 CWR)	60
Target Analytes	Highly Volatile	Volatile and semivolatile	
Molecular Weight	30-225	40-275	
Length	10 mm	10 mm	

1.3 箭型頭固相微萃取法 SPME arrow

由於纖維頭在未萃取時是縮在細金屬針管內進行保護，需要萃取時才從針筒推出，無論是需穿過軟塞進入密閉環境的容器內萃取液體或揮發性氣體，抑或是在注入氣相層析質譜儀時穿過的軟墊，都可能因其細金屬針管硬度不夠而在穿透軟墊過程中折損，連帶損壞纖維頭而使實驗無法進行，為改善此狀況，箭型頭固相微萃取法（後面簡稱為箭型頭）因而被開發出來，如圖 4 所示，與纖維頭不同的是在裸露的纖維前端再添加金屬針桿，其硬度可以直接用來穿透 Thermo Scientific™ Glass Crimp Top Headspace Vials 20 毫升頂空瓶（如圖 5，後面簡稱為頂空瓶）的瓶蓋，此外對於萃取效率也有所提升，與纖維頭相同的是可以依據分析物的性質及需求以選用不同的表層材質及厚度。目前所提供的材質包含單一材質聚丙烯酸 (Polyacrylate, PA) 及聚二甲基矽氧烷 (Polydimethylsiloxane, PDMS) 和複合材質 CWR/PDMS 及 DVB/CWR/PDMS。



1.4 氣相層析質譜儀 GC-MS (Gas chromatography-Mass spectrometry)

目前針對 VOC 的測量主要是靠氣相層析儀為分離工具，透過不同 VOC 的滯留時間 RT (Retention time) 將 VOC 分開，後面再以質譜儀作為偵測器，質譜儀目前已廣泛的應用於生物醫學上，透過將生物分子離子化技術，將生物分子帶電後偵測各生物分子間產生不同的荷質比 (m/z)，兩者合併使用可作為 VOC 的鑑定工具。



圖 5 Thermo Scientific™ Glass Crimp Top Headspace Vials 20 毫升頂空瓶，將待測物加入瓶內後將帶有軟塞的旋蓋旋緊，萃取時再藉由穿過軟塞進行後續萃取。



第二章 材料與方法

2.1. 材料

2.1.1 不同吸附材質的纖維頭 (SPME Fiber)

目前市售的纖維頭有不同的吸附材質，仿單上亦有提供各自適合的分析物，為比較不同材質間在使用本實驗室所用之標準品的萃取效率，本實驗室目前使用的纖維頭為下列三者：Supelco SPME Fiber 60 μm PDVB/DVB、Restek[®] SPME Fiber CWR 及 Restek[®] SPME Fiber DVB/CWR/PDMS。三種纖維頭的資料整理於表 2，三者的外觀如圖 6，唯一能區別三者的只有在用來固定的螺帽顏色。

2.1.2 箭型頭 (SPME Arrow)

市售的箭型頭有各式各樣不同的吸附材質，本研究僅使用與纖維頭具有相同的吸附材質進行比較，選用廠商為 Resteck[®]、吸附材質為 DVB/CWR/PDMS，thickness 120 μm 及 length 20 mm 的箭型頭用來萃取分析物 (如圖 7)，其箭型頭的尖端為硬金屬材質，方便穿透各種軟塞或是軟墊而不會折損到後方的萃取處。

2.1.3 收集容器

考慮到收集氣體或放置檢體的方便性及且減少重覆開關容器影響密封效果，本研究是選用 Thermo Scientific[™] Glass Crimp Top Headspace Vials 20 毫升 (後面以頂空瓶稱之，如圖 5)，可以直接讓受試者將呼出之氣體吹入瓶身內後封蓋，抑或是將液體或小塊檢體直接加入瓶身內再封蓋，待氣體平衡後再將纖維頭或是箭型頭直接從頂空瓶蓋上之軟墊插入進行萃取，以減少萃取時打開瓶蓋造成的人為誤差，萃取方式之示意圖如圖 3。

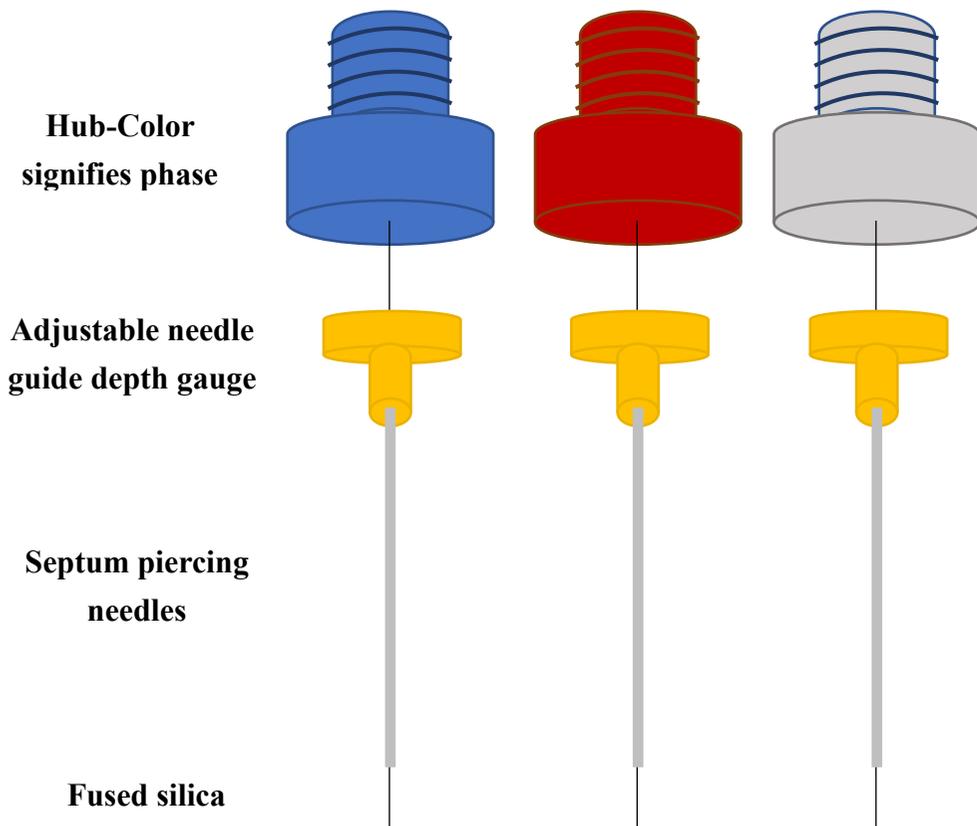


圖 6 三種 SPME Fiber 外觀示意圖，除依照仿單上指示不同顏色的螺帽頭具有不同的吸附材質外，纖維頭本身並無任何關於成分的標幟。

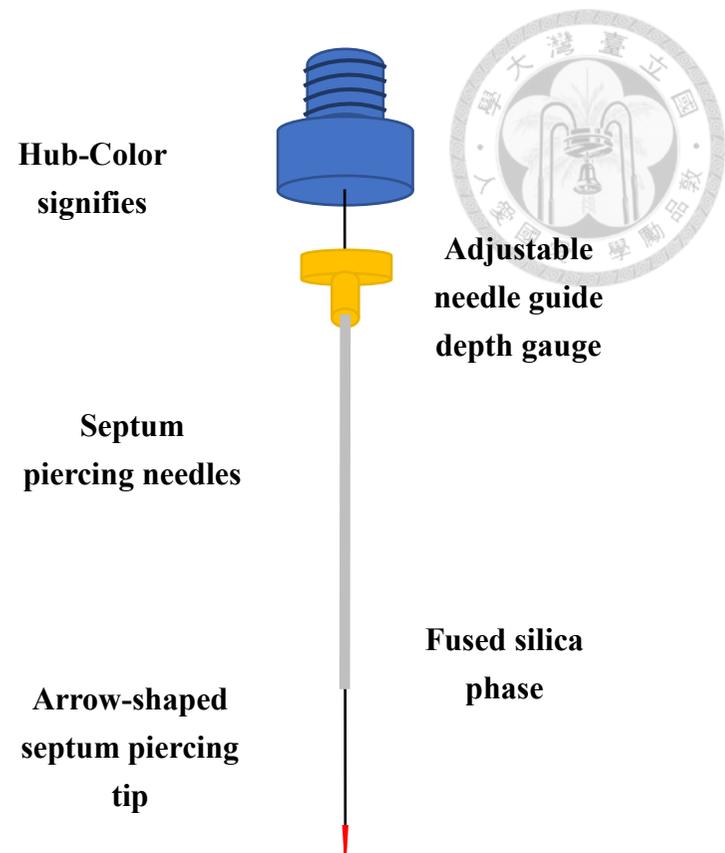


圖 7 SPME Arrow 外觀示意圖，和纖維頭相同均以不同顏色的螺帽頭用來區分，和纖維頭不同的部位在於最下端有一個箭形尖端，用以保護纖的纖細的纖維頭。



2.1.4 標準品

本研究使用兩種由 Sigma-Aldrich 公司市售的 VOC 標準品作為方法開發使用，分別為 EPA 502/524 Volatiles Organic Calibration Mix (後面簡稱標準品 EPA) 和 C7-C30 Saturated Alkanes (後面簡稱標準品 Alkanes)，其中標準品 EPA 包含 63 種 VOC (如表 3)，而標準品 Alkanes 包含 C7-C30 的直鏈烷類 (如表 4)。

表 3 標準品 EPA 所含 VOC 成分列表。

Benzene	1,3-Dichlorobenzene	Naphthalene
Bromobenzene	1,4-Dichlorobenzene	Propylbenzene
Bromochloromethane	1,1-Dichloroethane	Styrene
Bromodichloromethane	1,2-Dichloroethane	1,1,1,2-Tetrachloroethane
Bromoform	1,1-Dichloroethylene	1,1,2,2-Tetrachloroethane
Butylbenzene	cis-1,2-Dichloroethylene	Tetrachloroethylene
sec-Butylbenzene	trans-1,2-Dichloroethylene	Toluene
tert-Butylbenzene	Dichloromethane	1,2,3-Trichlorobenzene
Carbon tetrachloride	1,2-Dichloropropane	1,2,4-Trichlorobenzene
Chlorobenzene	1,3-Dichloropropane	1,1,1-Trichloroethane
Chloroform	2,2-Dichloropropane	1,1,2-Trichloroethane
2-Chlorotoluene	1,1-Dichloro-1-propene	Trichloroethylene
4-Chlorotoluene	cis-1,3-Dichloropropene	1,2,3-Trichloropropane
Dibromochloromethane	trans-1,3-Dichloropropene	1,2,4-Trimethylbenzene
1,2-Dibromo-3-chloropropane	Ethylbenzene	Mesitylene
1,2-Dibromoethane	Hexachloro-1,3-butadiene	m-Xylene
Dibromomethane	Cumene	p-Xylene
1,2-Dichlorobenzene	p-Cymene	o-Xylene

表 4 標準品 Alkanes 所含 Alkanes 成分列表。

Decane	Hexadecane	Pentacosane
Docosane	Heptane	Pentadecane
Dodecane	Nonacosane	Tetracosane
Eicosane	Nonadecane	Tetradecane
Heneicosane	Nonane	Triacontane
Heptacosane	Octacosane	Tricosane
Heptadecane	Octadecane	Tridecane
Hexacosane	Octane	Undecane

2.1.5 研究設備

2.1.5.1 頂空進樣氣相層析質譜儀 HS-GC-MS

本研究使用頂空進樣氣相層析質譜儀 (Headspace-Gas Chromatograph-Mass Spectrometry, HS-GC-MS) 為 Thermo Scientific™ 公司所製造生產，型號為 Thermo Scientific™ TRACE 1300 Series GC gas chromatograph 及 Thermo Scientific ISQ 7000 single quadrupole GC-MS system，分析管柱為 Rtx-BAC2 (30 m x 0.32 mm ID, 1.2 μ m df)，分析使用的載流氣體 (carrier gas) 為氦氣 (He) (如圖 8)。由於無法將固相微萃取法的設備安裝在頂空進樣的位置，讓機器自動萃取後注入氣相層析質譜儀，因此取消前半段自動萃取步驟，改以手動萃取後，再將樣品注入氣相層析儀進行分析。

2.1.5.2 氣相層析質譜儀參數設定

本研究將進樣口溫度設定為 200°C，可使注入進樣口的纖維頭及箭型頭上所吸附的分析物脫附，將分析物充分氣化後進行進到管柱內分析，經高溫脫附後的纖維頭及箭型頭可直接重複使用進行下一輪萃取。分析管柱升溫梯度由 40°C 維持 2 分鐘後，以每分鐘上升 15°C 到達 85°C，再以每分鐘上升 7°C 到達 200°C，接著以每分鐘上升 10°C 到達 210°C，維持 2 分鐘，以確保所有待測物質



均已被層析出來。串聯質譜儀設置則是設定為全掃描模式 (Full scan mode)，M/Z 介於 35-250 的質譜碎片，以獲得各目標物完整的揮發性有機物質譜碎片資訊 (表 5 及圖 9)。



圖 8 頂空氣相層析質譜儀示意圖，右上方樣品進樣處則改以手動將固相微萃取法所萃取出之樣品打進入樣口。

表 5 分析管柱升溫圖參數設定。

Retention Time (min)	Rate (°C/min)	Target Temperature (°C)	Hold time (min)
0	Run		
2	0	40	2
5	15	85	0
21.43	7	200	0
24.43	10	210	2

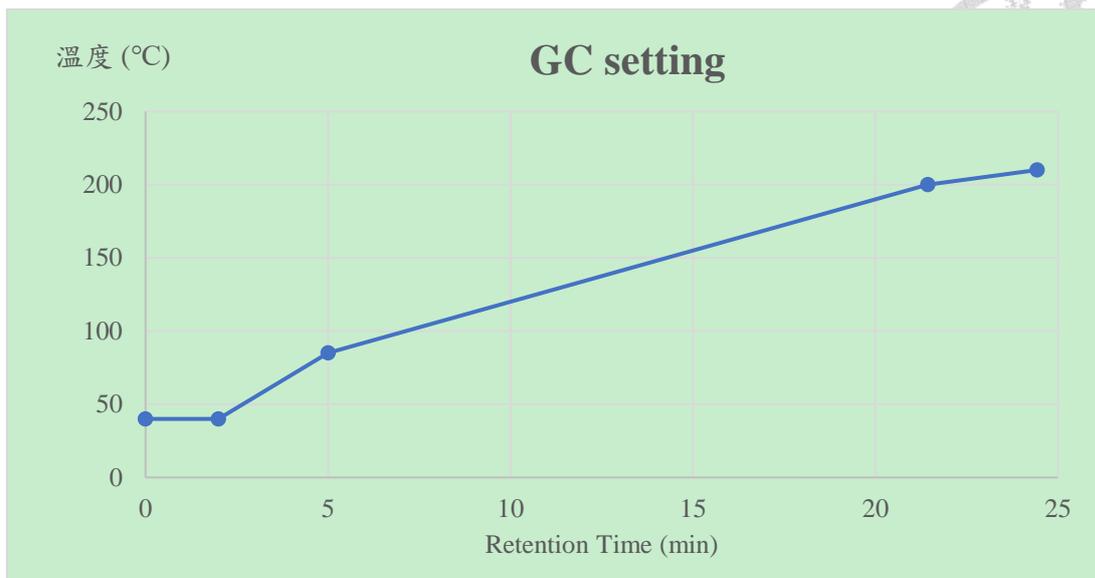


圖 9 分析管柱升溫折線圖。

2.1.6 分析軟體

將氣相層析質譜儀所取得的原始資料，以 MZ mine 2 進行資料彙整，並用 Metaboanalysis 將 MZ mine 2 所彙整的資料比較其差異性。

2.2. 實驗方法

本研究分成三大部分，第一部分是建立並優化固相微萃取法萃取 VOC 的實驗流程；第二部分是實際使用可取得的食物或是屍體組織；第三部分則是人為控制變因之實驗。

2.2.1 建立固相微萃取法萃取揮發性有機化合物 (VOC) 的實驗流程

第一部分包含比較目前市售上不同材質的纖維頭其萃取標準品的萃取效率、相同吸附材質纖維頭與箭型頭其兩者萃取標準品的萃取效率、比較萃取時間長短的萃取效率、檢量線製作及實驗確效，同時也比較標準品置於頂空瓶內經過不同時間的保存效果。



2.2.1.1 比較不同吸附材質纖維頭

為比較市售不同吸附材質的纖維頭其萃取標準品的萃取效率，於頂空瓶內加入 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標準品 EPA 0.5 μL 靜置 5 分鐘待其平衡後，分別將不同吸附材質的纖維頭 (CWR/PDWS、DVB/CWR/PDWS、PDWS/DVB) 插入頂空瓶後，於常溫下萃取 15 分鐘後，再以手動進樣注入 GC-MS 進樣口中進行分析。

2.2.1.2 比較相同吸附材質的纖維頭及箭型頭

本研究為比較及選出較靈敏的固相微萃取法的設備以利後續研究使用。由於前實驗 (2.2.1.1) 結果顯示為 DVB/CWR/PDWS 萃取效果優於另兩者 (其結果於 3.1.2 進行討論)，因此直接比較同為 DVB/CWR/PDWS 吸附材質的纖維頭及箭型頭。於頂空瓶內加入 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的標準品 EPA 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的標準品 Alkane 共 0.5 μL 後靜置 5 分鐘待其平衡後，分別將相同吸附材質的纖維頭及箭型頭各自插入，於常溫下萃取 15 分鐘後，再人工進樣注入 GC-MS 進樣口中進行分析。

2.2.1.3 優化萃取時間

於 2.2.1.2 實驗中比較相同吸附材質纖維頭及箭型頭後，可發現箭型頭萃取效果優於纖維頭，合併 2.2.1.1 實驗結果，本實驗室所擁有之固相微萃取法設備中，以吸附材質為 DVB/CWR/PDWS 的箭型頭其萃取效果最好 (於 3.1.2 進行討論)，本研究後續實驗將以吸附材質為 DVB/CWR/PDWS 的箭型頭固相微萃取法作為萃取的設備。

在搜尋文獻後發現使用纖維頭作為萃取設備時，均需要使用較高的萃取溫度或較長的萃取時間^{10, 14}。由前述實驗結果箭型頭的萃取效果優於纖維頭，為萃取的方便性及時效性，嘗試將萃取狀況設定為常溫下，進而比較不同的萃取時間，以優化實驗流程。在頂空瓶內加入 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的標準品 EPA 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的標準品 Alkane 共 0.5 μL 後靜置 5 分鐘，分別以箭型頭於常溫下依次萃取，萃取時間



分別為 5 分鐘、10 分鐘、15 分鐘及 30 分鐘後，再人工進樣注入 GC-MS 進樣口中進行分析。

2.2.1.4 頂空瓶的保存效果

本研究曾以市售夾鏈袋收集 VOC 進行實驗，雖然一樣可以萃取出標準品，但同時由於箭型頭萃取的高靈敏度，會一併萃取出原本存在於夾鏈袋內的 VOC，可能與夾鏈袋的製成材質有關。為減少容器自身材質而產生的 VOC 在實驗中被萃取出來，進而影響實驗分析，因此選用 Thermo Scientific™ Glass Crimp Top Headspace Vials 20 毫升的頂空瓶。由於頂空瓶原本用途即作為氣相層析儀用來裝入待測物液體，待其揮發後再萃取瓶內上方已揮發之化合物進行分析，可預期該頂空瓶除操作時存在的環境空氣外，應該未含有其他 VOC 以影響實驗流程，因此本實驗採用該頂空瓶進行後續實驗。

然而考慮到頂空瓶為實驗當下所使用之器皿，並非用來長時間保存氣體，因此若將檢體置於瓶內一段時間，不確定是否會有保存的問題產生，進一步造成實驗上的誤差。為此考量下，本研究設計在 6 瓶頂空瓶內加入 10 µg/mL 的標準品 EPA 和 10 µg/mL 的標準品 Alkane 共 0.5 µL 以及 6 瓶頂空瓶內加入 100 µg/mL 的標準品 EPA 和 100 µg/mL 的標準品 Alkane 共 0.5 µL，取不同濃度的標準品各 3 瓶於加入後當日進行實驗，而將剩下不同濃度各 3 瓶於常溫下保存 3 天後再進行萃取分析。

2.2.1.5 分析方法的確效

在建立以箭型頭萃取 VOC 的分析方法後，透過一系列之方法確效，包括測定線性、定量下限 (LOQ)、偵測下限 (LOD)、精密度及準確度，均按照 FDA 關於生物分析方法驗證的指南草案進行測量³⁸。

線性部分是以標準品的連續稀釋液繪製校正曲線。LOQ 的部分定義為標準曲



線的最低濃度下在可接受的準確度 $\pm 20\%$ 。LOD 的部分則為自定義分析儀器之訊號值。準確度則以純標準品的高、中、低濃度品質管制 (HQC、MQC 和 LQC) 來評估，以回收率 (%) 來衡量，期望能落在 $100\% \pm 20\%$ 之間。另外由於固相微萃取法的纖維頭或箭型頭均為重複使用之器具，因此殘留效應 (carry-over) 亦需要謹慎評估。

2.2.2 實際應用

第二部分則以實際物質收集 VOC 進行比較，包含市售食物、人體呼出氣體在飲食前後之比較以及收集不同地點的腐敗屍體上組織進行分析比較。

2.2.2.1 食物的氣味

以標準品的 VOC 建立箭型頭固相微萃取法的方法後，本研究想了解該方法是否可以檢測出其他非標準品所產生的 VOC。首先以正常狀況下人體依嗅覺即可判斷之食物作為實驗素材 (即臭豆腐湯)，於頂空瓶加入市場購買上述食物汁液 1 ml 靜置 5 分鐘後，與空白頂空瓶 (對照組) 相互比較，以箭型頭於常溫下萃取。

2.2.2.2 人體呼出氣體 VOC

依先前文獻所提及，人體所呼出氣體所含 VOC 可能可以作為罹患疾病之預測，然而依一般人經驗來說，並無法在與人交談時所聞得對方呼出之氣體便可區分有無罹患疾病，顯示藉由收集人體呼出氣體設備及萃取工具可以偵測出呼出氣體中微量的 VOC。由於先前研究大多使用纖維頭作為萃取設備，本研究則是使用萃取效率較好之箭型頭作為萃取設備，嘗試是否可以單純以頂空瓶收集人體呼出氣體後即可檢測出 VOC。實驗方法是讓受測者處於該正常環境下約 1 小時後，將呼出氣體吹入頂空瓶內數次後密封，再與裝有一般空氣之頂空瓶進行分析比較，分別以箭型頭於常溫下萃取。



2.2.2.3 飲食前後的 VOC

相較於實驗 2.2.2.2，考慮到人體食用氣味較濃郁的食物後，短時間內所呼出的氣體確實可以讓旁人感受到該人曾食用過該食物。因此同樣請受測者在正常環境下約 1 小時後，先將呼出之氣體吹入頂空瓶內數次後密封。於該環境下飲用食物 (選用實驗 2.2.2.1. 所述食物) 後結束後約 5 分鐘，再將呼出之氣體吹入頂空瓶內數次後密封，再分別以箭型頭於常溫下萃取。

2.2.2.4 不同地點屍體氣味

回歸到法醫學層面，針對不同陳屍處的屍體腐敗後，由於體內的菌相及不同環境所含有的微生物菌相的差異性，對屍體作用後所產生的 VOC 應不盡相同，因此所散發出的氣味亦有所差異，此部分由人類嗅覺即可有所分辨。雖然新鮮組織亦會產生不同的 VOC，但在法醫學的層面主要想要解決發現屍體的死亡時間間隔 (Postmortem Interval, PMI) 以及發現屍體的所在處是否為第一現場，因此本研究需先從已知的陳屍處進行分析，找出不同陳屍處的差異性，才能進一步探討不同的死亡時間間隔對於產生 VOC 的變化。

本研究設計以評估箭型頭固相微萃取法分辨不同陳屍處的差異性。其中屍體來源分別為兩件水浮屍、一件山林間屍體及一件家中腐屍三大地方進行比較，一共四具屍體均為男性死者。然組織來源、屍體腐敗程度及死亡時間間隔為不可控制變因，且均為實際案例，故無法公布進一步人別之基本資料。該件山林間屍體由於較晚被發生，屍體遭蟲類啃食後，僅剩少許體內皮下組織，無肉眼可辨認之殘存內臟臟器組織可以進一步分類，故僅取殘存軟組織進行分析；而水浮屍屍體有兩個案件，分別於北部及中部海邊被發現，其中於中部海邊發現之屍體亦較晚發現，故僅取得其肺臟組織進行分析，另一具北部海邊發現之屍體與家中腐屍均相對完整，可以各自取得不同體腔內的臟器進行比較。後兩具較完整屍體，本研究將分成顱腔 (大腦

組織)、胸腔 (肺臟組織)、腹腔 (肝臟組織及小腸組織) 和後腹腔 (腎臟組織) 五個部位，採取組織約 0.5 cm^2 大小，分別置入頂空瓶內，待靜置平衡後，再分別以箭型頭於常溫下萃取。



2.2.3 死後時間間隔分析

如前面所述，以實際案件為實驗素材，在調查上就已無法得知屍體遭發現時其確切的死後時間間隔，在臺灣亦無法將人類實際死亡案件放置在特定地點觀察其死亡變化，因此取而代之的方法如動物實驗進行分析³⁷，然動物實驗雖能控制其變因，但並無法確實人體組織等同於所選用的動物組織，故本研究以實際的死亡案件，採取其組織後放入塑膠盒後置於戶外，直接模擬戶外環境，預計於第 0 天 (取樣當天)、第 3 天、一週後、二週後、一個月、二個月及三個月後，分別採取組織約 0.5 cm^2 大小，分別置入頂空瓶內，待靜置平衡後，再分別以箭型頭於常溫下萃取，萃取時間為 10 分鐘進行比較分析。該組織檢體來源為一男性死者，其事件發生後立即被發現送醫不治，經相驗後因需解剖鑑定便以冷藏保存，可視為尚未經過腐敗過程，而經解剖送驗後發現肺臟及肝臟並無明顯疾病或導致死亡之原因，故採取肺臟及肝臟組織作為實驗素材，以評估死後時間間隔與產生之 VOC 的相關性。



第三章 結果

3.1. 建立並優化固相微萃取法

3.1.1 標準品 EPA 及 Alkanes 的遲滯時間

本研究依據所加入的標準品 EPA 及 Alkanes 後，分別以纖維頭及箭型頭萃取分析後，在本研究中氣相層析質譜儀所設定的參數下，所檢出的 VOC 與其對應的遲滯時間 (Retention time) (如表 6) 及氣相層析質譜圖 (圖 10)。兩者針對檢出的 VOC 其誤差時間小於 0.1 分鐘。

表 6 標準品 EPA 及 Alkanes 內檢出 VOC 之遲滯時間。

VOC	Retention time (min)
Octane	5.3
Nonane	6.92
Decane	8.75
Undecane	10.67
Dodecane	12.62
Tridecane	14.54
Tetradecane	16.41
Pentadecane	18.2
Hexadecane	19.9
Benzene	5.06
1,2-Dichloropropane	6.52
Dibromomethane	6.89
Bromodichloromethane	7
Toluene	7.21
Tetrachloroethylene	7.25
1,3-Dichloropropane	8.41
1,1,2-Trichloroethane	8.73
1,3-Dichloropropane	8.86
Ethylbenzene	9.05
p-Xylene	9.2
1,1,1,2-Tetrachloroethane	9.53

o-Xylene	9.91
Styrene	10.16
Propylbenzene	10.65
1,2,3-Trimethylbenzene	10.95
Tribromomethane	110.3
tert-Butylbenzene	11.27
4-Chlorotoluene	11.34
1,2,4-Trimethylbenzene	11.55
p-cymene	11.75
o-cymene	11.82
1,2,3-trichloropropane	12.06
1,3-Dichlorobenzene	12.28
Butylbenzene	12.4
1,4-Dichlorobenzene	12.53
1,2-Dichlorobenzene	13.19
Hexachloro-1,3-butadiene	14.94
1,2-Dibromo-3-chloropropane	15.48
1,2,4-Trichlorobenzen	15.75
Naphthalene	16.94
1,2,3-Trichlorobenzene	17.07

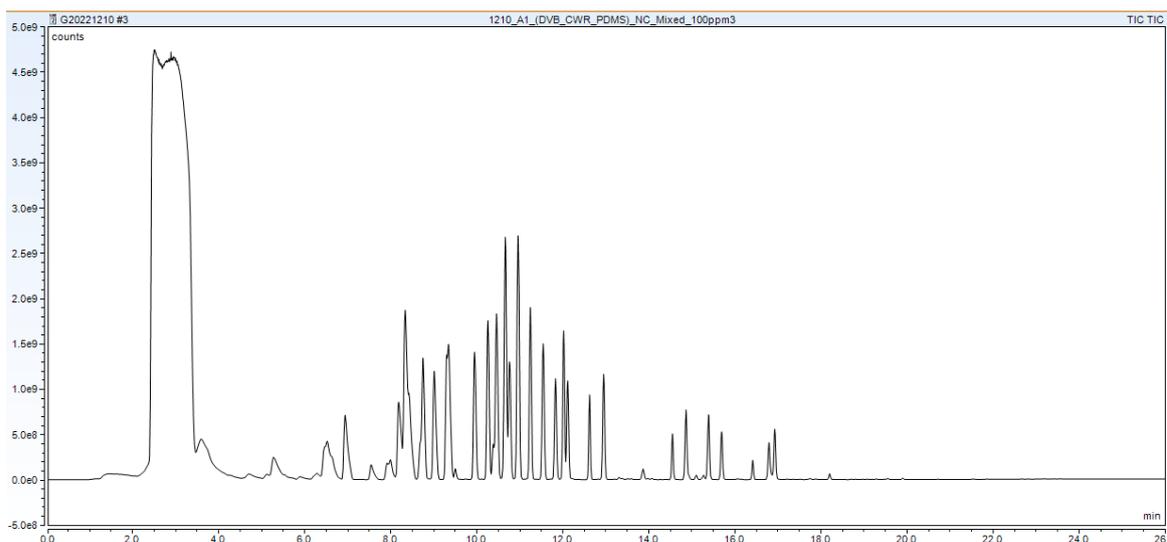


圖 10 箭型頭固相微萃取法檢驗標準品，以氣相層析質譜圖呈現。



3.1.2 不同吸附材質的纖維頭

實驗 2.2.1.1 比較不同吸附材質的纖維頭，根據氣相層析質譜儀產生的 Raw Data 進一步分析比對後，透過 Heatmap 的方式呈現比較結果 (如圖 11)，可以發現同一個吸附材質的纖維頭在三次實驗中的萃取結果是相近的，而三個不同吸附材質的纖維頭對於已知標準品的萃取效率並不相同；三種吸附材質中，若其中含有「CWR」對於標準品的 VOC 萃取效率較好，而「DVB/CWR/PDMS」這種複合吸附材質在同樣濃度的標準品下，其整體表現萃取效率較優於「CWR」。

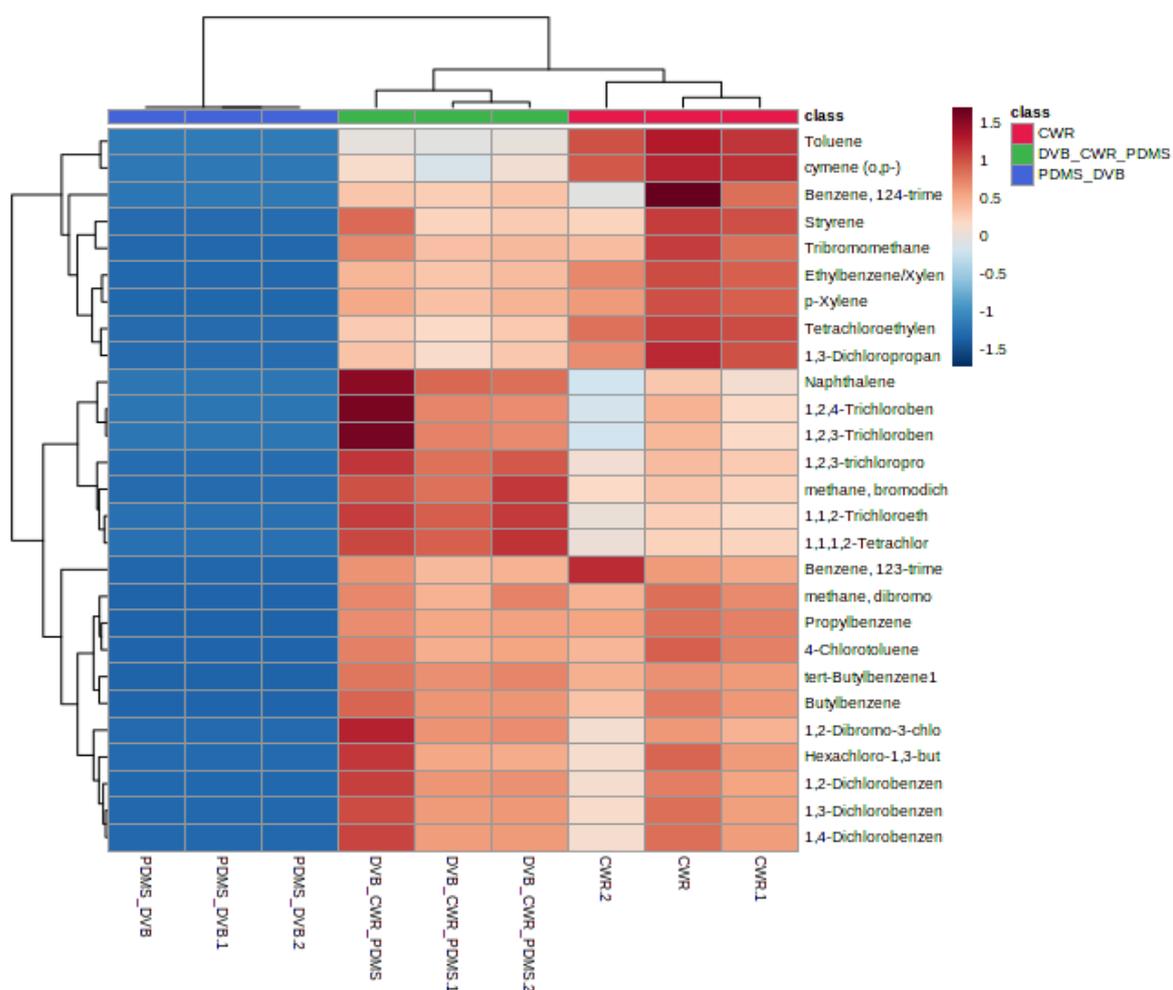


圖 11 比較不同吸附材質之纖維頭，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 CWR，綠色標籤為 DVB/CWR/PDMS，藍色標籤為 PDMS/DVB，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。



3.1.3 相同吸附材質的纖維頭與箭型頭

實驗 2.2.1.2 中採用相同吸附材質的纖維頭與箭型頭，比較兩者萃取效率。單純以標準品 EPA 的 VOC 比較分析，透過 Heatmap 的方式呈現比較結果 (如圖 12)，可以發現箭型頭整體平均來說相較於纖維頭有更好的萃取效果。

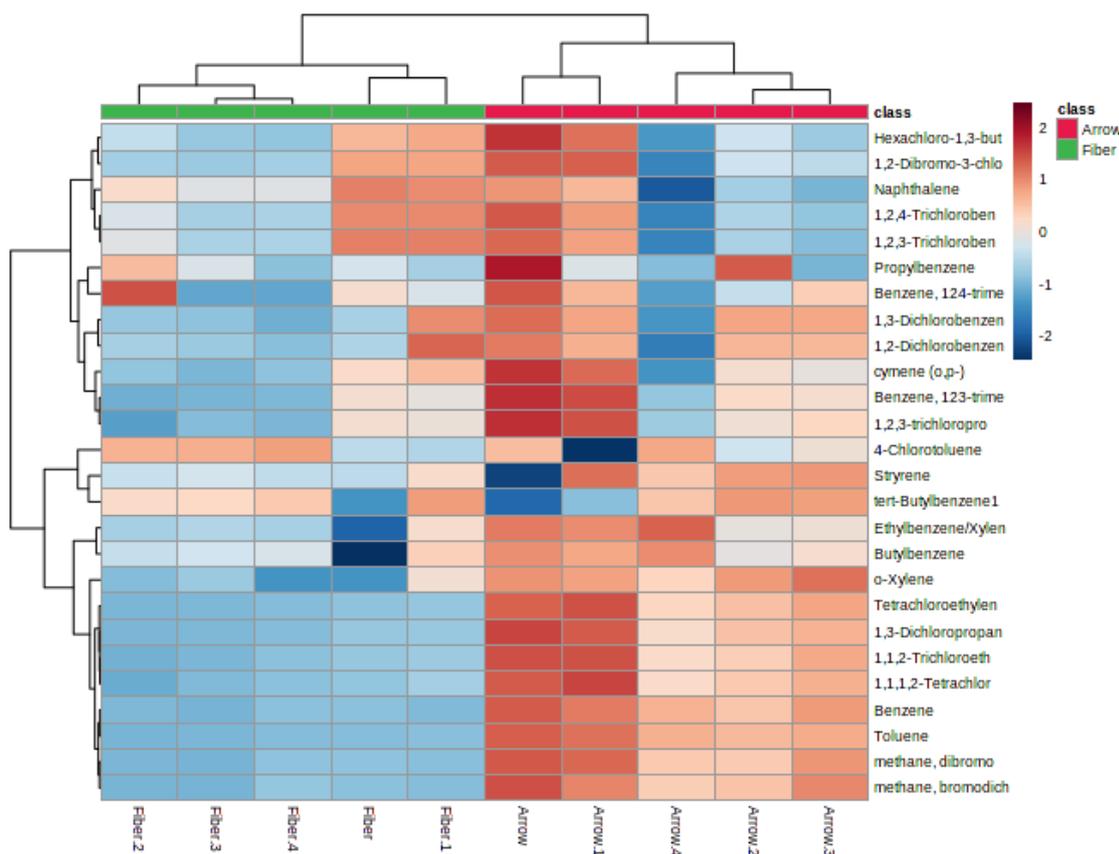


圖 12 EPA 作為標準品，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 Arrow，綠色標籤為 Fiber，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。

而單純用 Alkanes 作為標準品時進行分析，透過 Heatmap 的方式呈現比較結果 (如圖 13)，平均來說仍以箭型頭萃取時會有更好的萃取效果。

依據 3.1.2. 的實驗結果，我們可以得知同樣為纖維頭但使用不同的吸附材質時，具有複合的吸附材質 DVB/CWR/PDWS 有較好的萃取效果；而根據 3.1.3 的實驗結果，使用同樣複合的吸附材質 DVB/CWR/PDWS 於箭型頭及纖維頭時，可

以得到箭型頭的萃取效果平均優於纖維頭。綜合兩邊的實驗結果，可以間接推導出本實驗室中所添購的固相微萃取法的設備中，箭型頭且以 DVB/CWR/PDWS 作為吸附材質會有最好的萃取效果，因此本研究的後半段實驗均會以使用箭型頭固相微萃取法的複合吸附材質 DVB/CWR/PDMS 作為萃取設備。

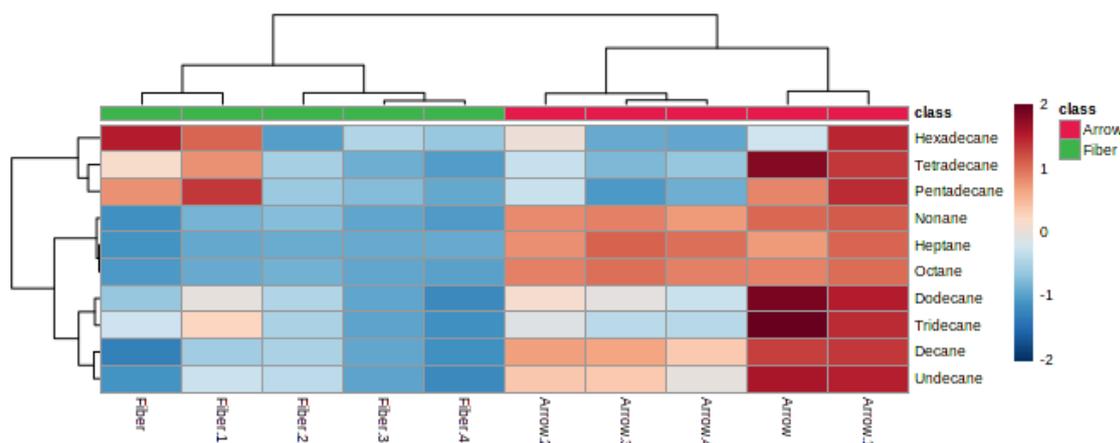


圖 13 Alkane 作為標準品，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 Arrow，綠色標籤為 Fiber，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。

3.1.4 優化萃取時間

以一般實驗經驗而論，萃取時間愈長，可收集到的 VOC 種類應該愈多且濃度應該愈高。圖 14 是以標準品 EPA 為實驗素材比較不同萃取時間，透過 Heatmap 的方式呈現比較結果；而圖 15 則是以標準品 EPA 及 Alkanes 兩者混合作為實驗素材，並以觀察是否在多種 VOC 中對於不同的萃取時間有造成影響。依據本研究結果發現萃取 10 分鐘所得到的相對濃度優於其他時間 (5 分鐘、15 分鐘或是 30 分鐘)，甚至萃取時間 15 分鐘及 30 分鐘其萃取效果亦低於萃取時間 5 分鐘 (或是更不穩定)，而萃取出標準品的種類並無差異性。

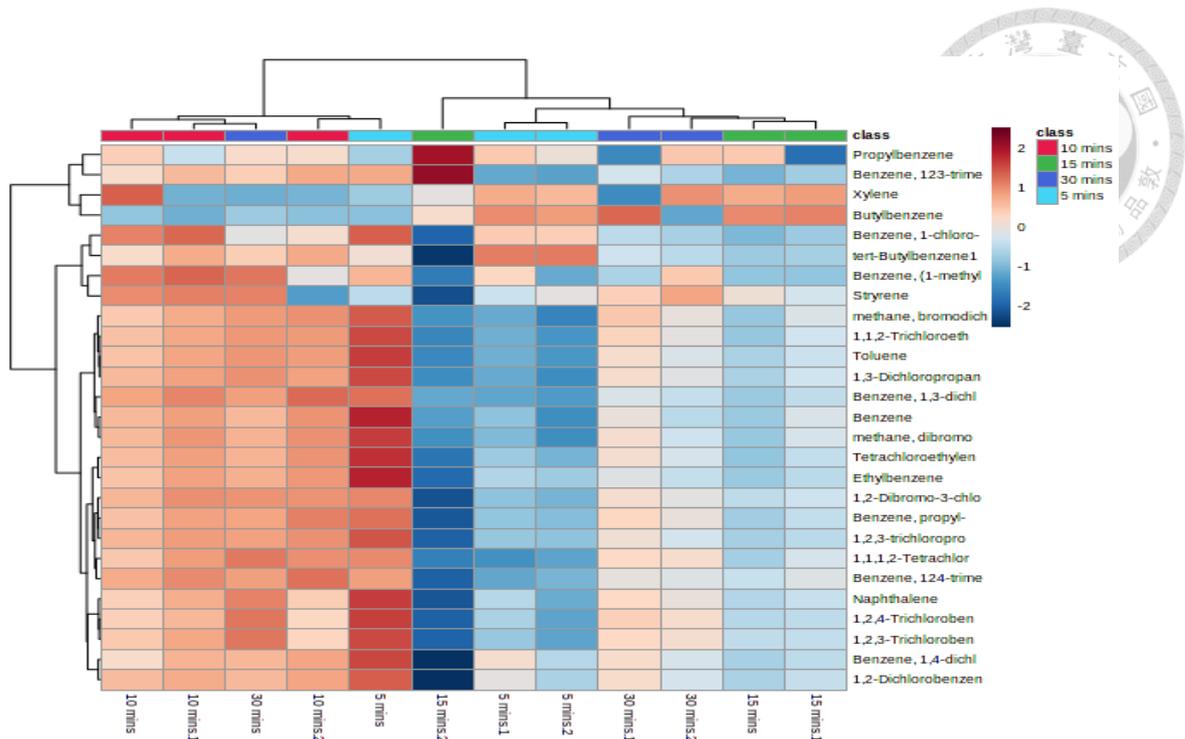


圖 14 不同萃取時間之比較，EPA 作為標準品，以 Heatmap 呈現（紅色標籤為 10 分鐘，綠色為 15 分鐘，藍色為 30 分鐘，天青色為 5 分鐘，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分）。

3.1.5 頂空瓶的保存效果

實驗 2.2.1.4 中，主要探討待測物置入密閉的頂空瓶內，於常溫保存下是否會造成檢測上的誤差，進而討論頂空瓶是否為合適的容器。圖 16 及圖 17 分別為加入不同濃度 (10 $\mu\text{g/mL}$ 及 100 $\mu\text{g/mL}$) 混合標準品後，立即進行萃取分析及靜置於室溫環境下 3 天後萃取分析，透過 Heatmap 的方式呈現比較結果。可以明顯發現大部分標準品的 VOC 在 3 天後萃取其濃度低於當天立即萃取，顯示其頂空瓶單純將蓋子旋上置於室溫中密封效果並不好，亦表示所取得欲檢測 VOC 的檢體，若無法有良好的保存方式，可能會影響到實驗結果。

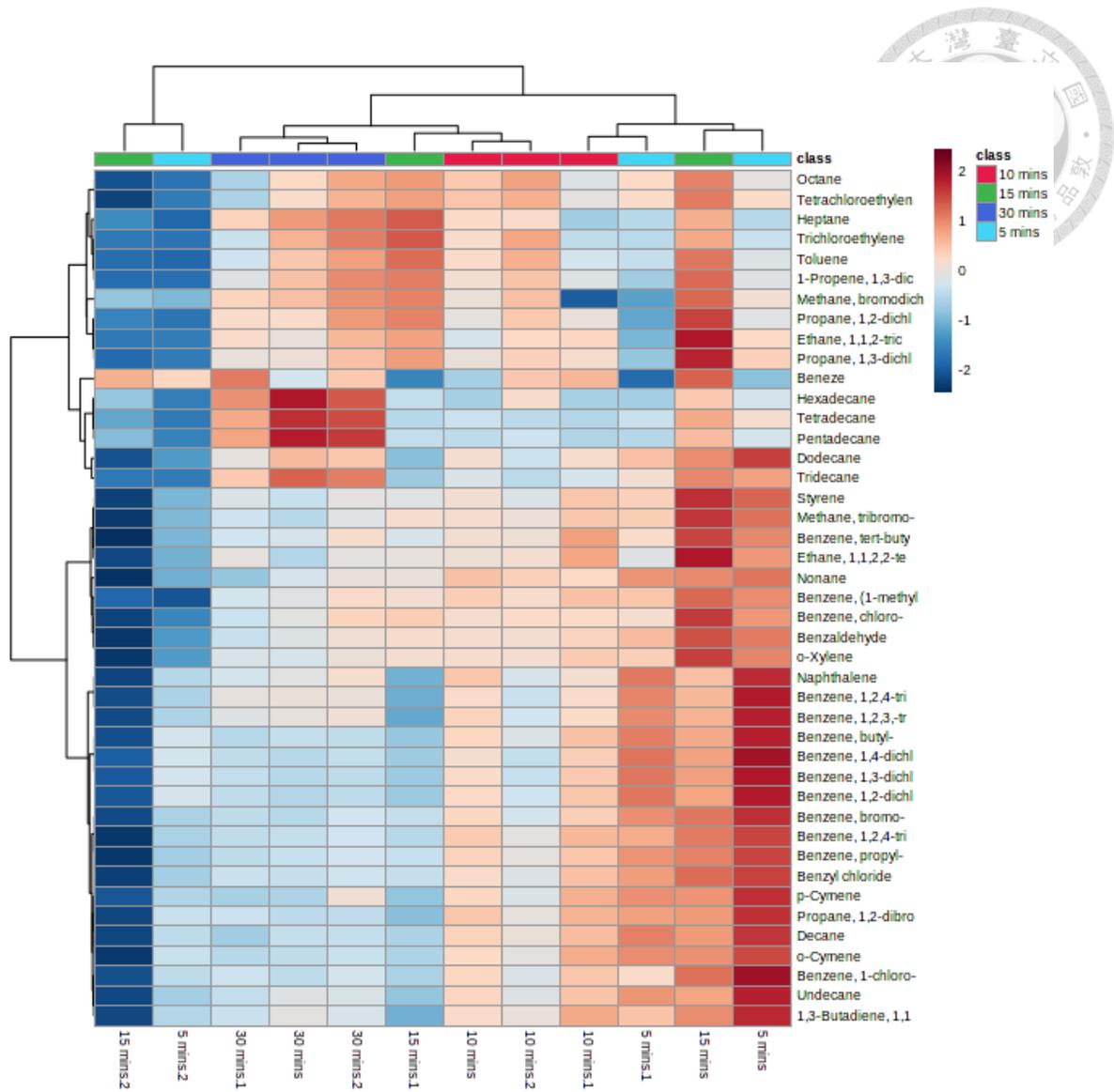


圖 15 不同萃取時間之比較，混合 EPA 及 Alkane 兩種標準品，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 10 分鐘，綠色為 15 分鐘，藍色為 30 分鐘，天青色為 5 分鐘，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。

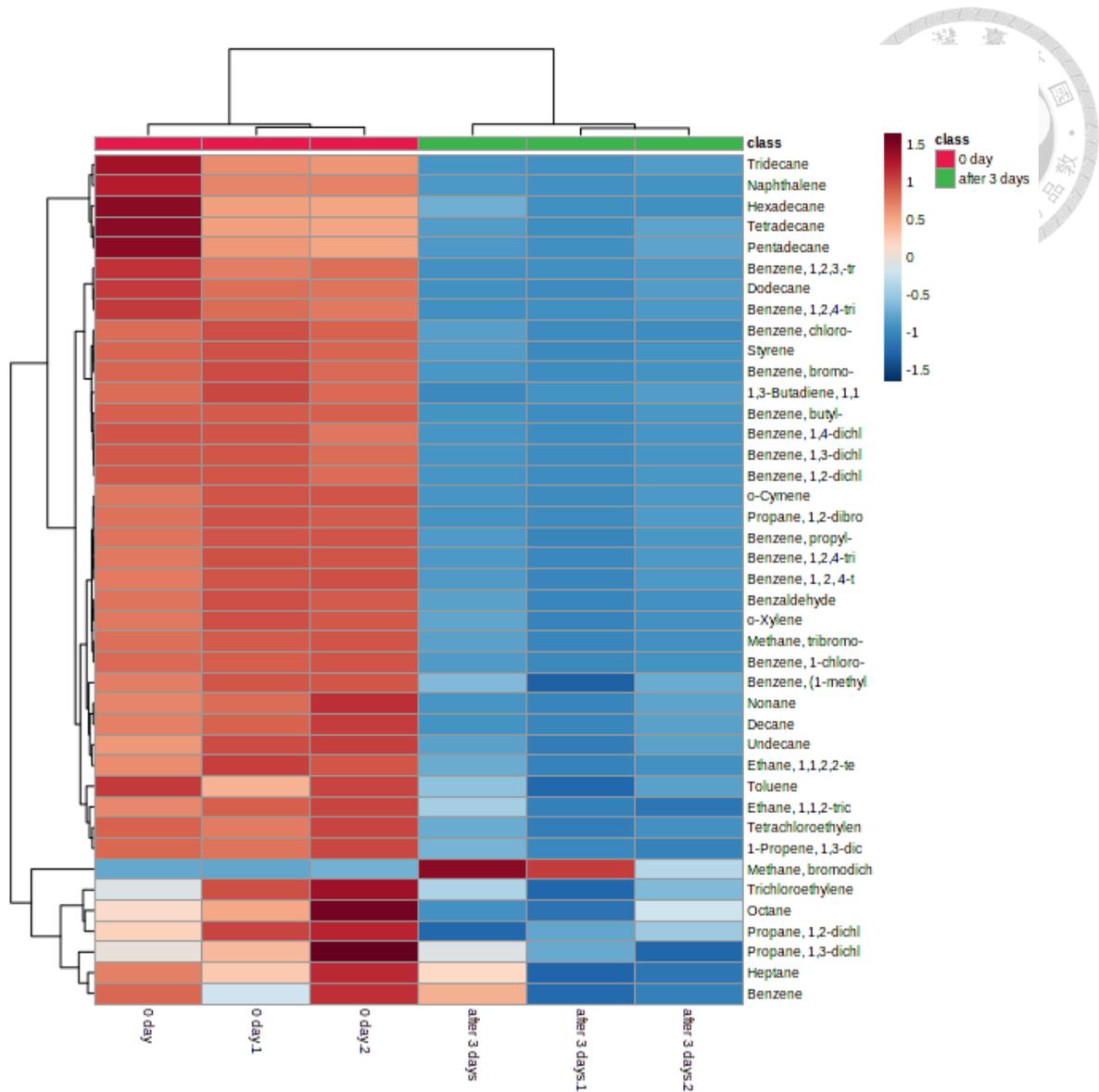


圖 16 混合標準品 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 0 天，綠色為 3 天後，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。

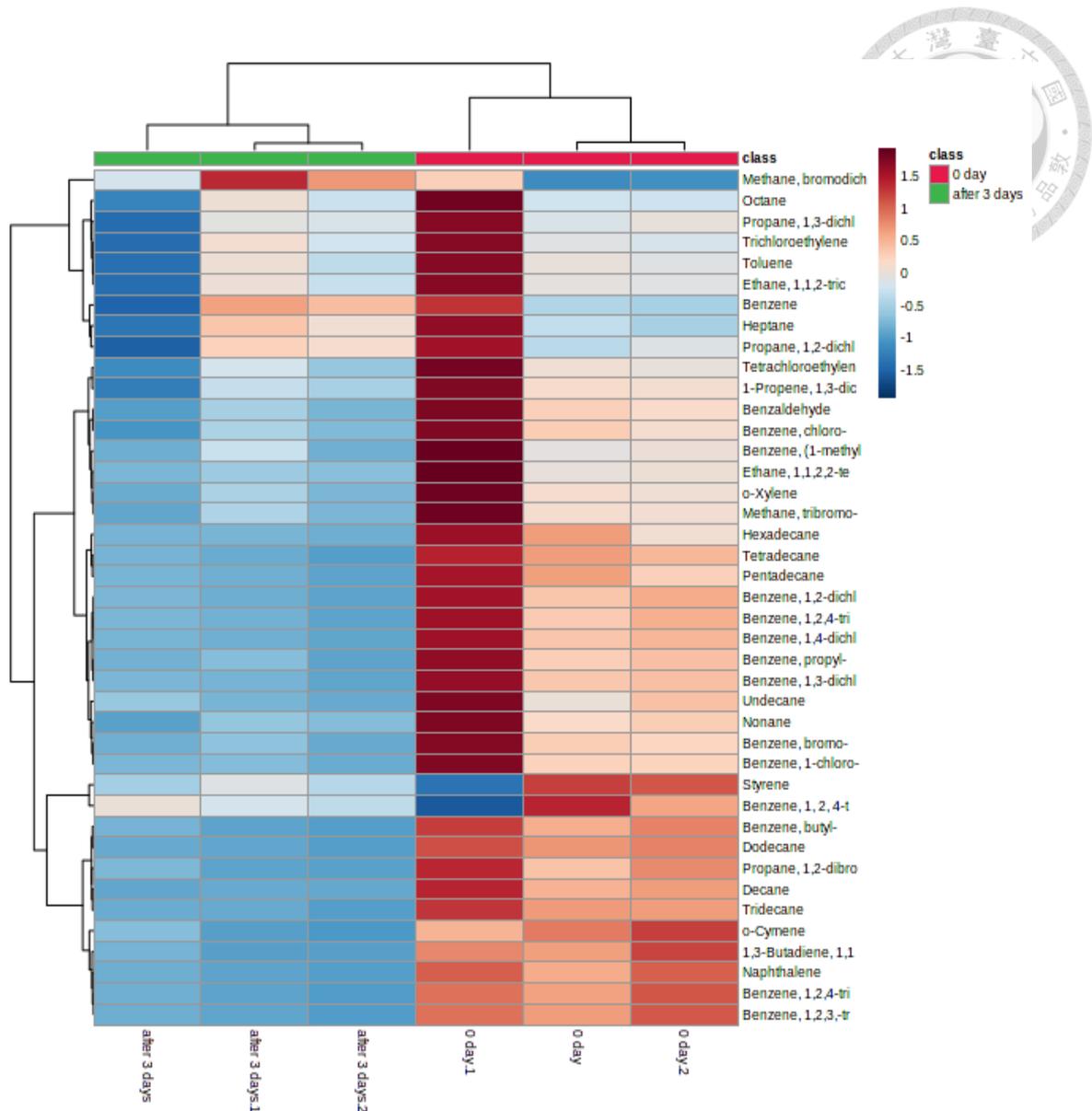


圖 17 混合標準品 100 $\mu\text{g/mL}$ ，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為 0 天，綠色為 3 天後，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。

3.1.6. 分析方法的確效

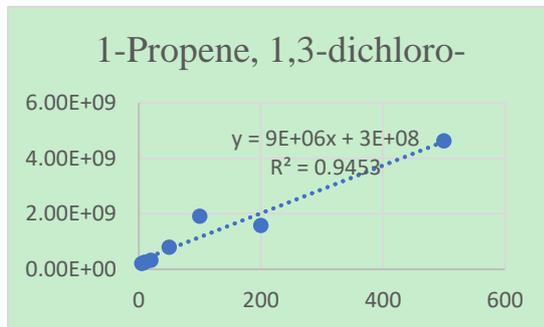
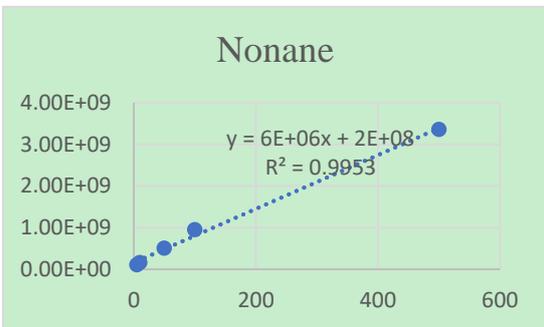
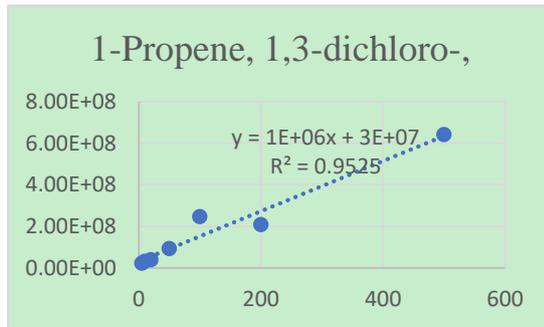
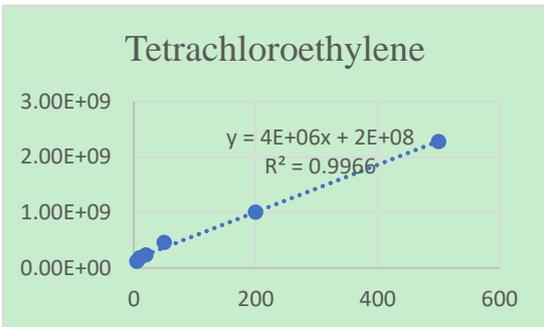
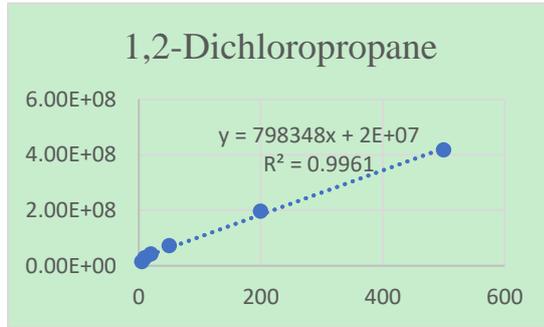
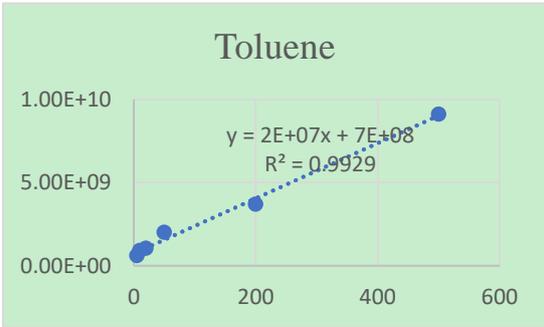
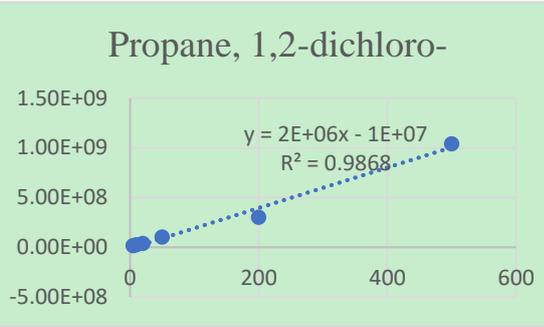
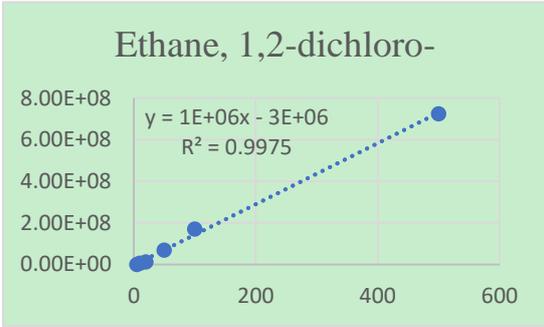
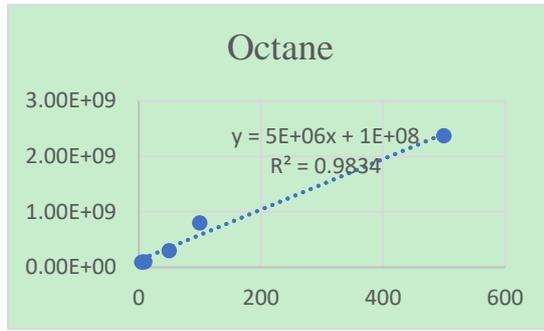
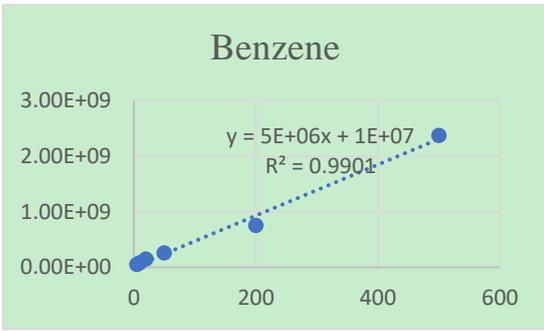
已萃取完成的纖維頭或箭型頭注入氣相層析質譜儀分析完畢後，在未取出前立即進行第二次氣相層析質譜儀分析，比較前後兩者所得到的層析質譜圖可發現第二次完全未檢出第一次所萃取的 VOC，可見纖維頭或箭型頭在此參數設定下並無殘留效應。各標準品之線性迴歸公式、線性關係、精確度、線性範圍、定量下限及偵測下限均列於表 7，圖 18 則為各標準品 VOC 線性圖。

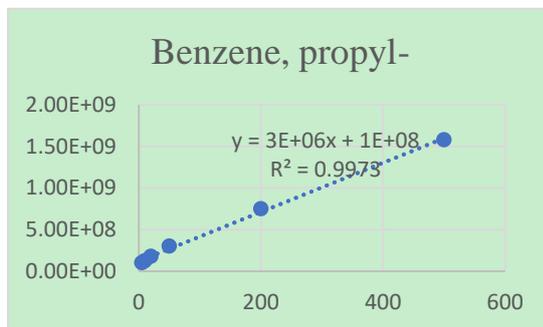
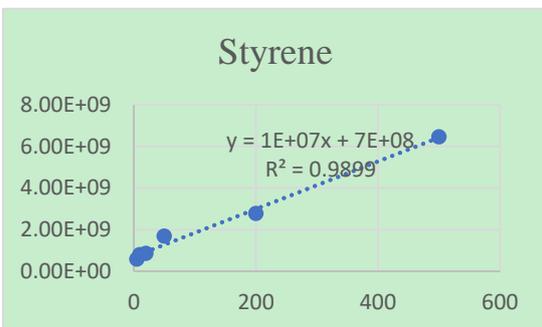
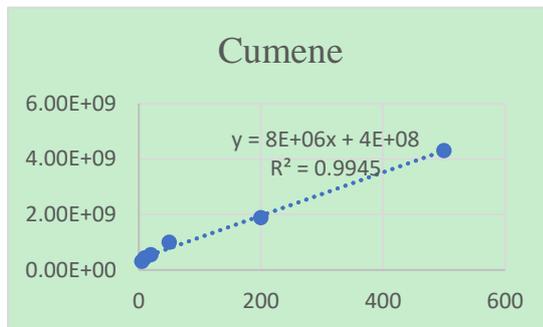
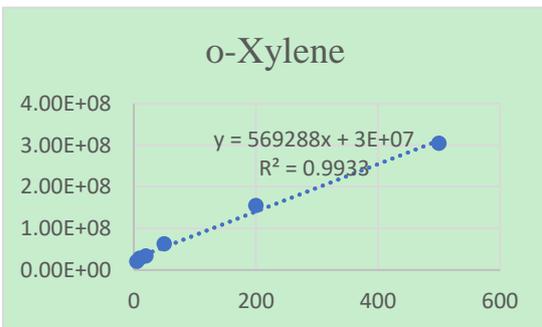
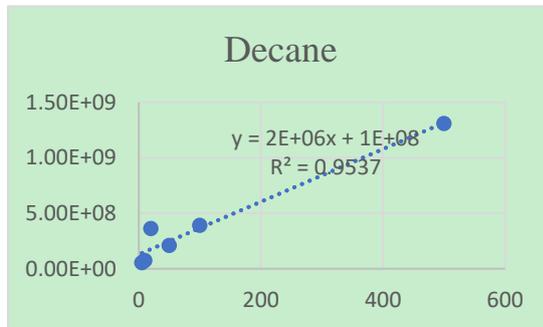
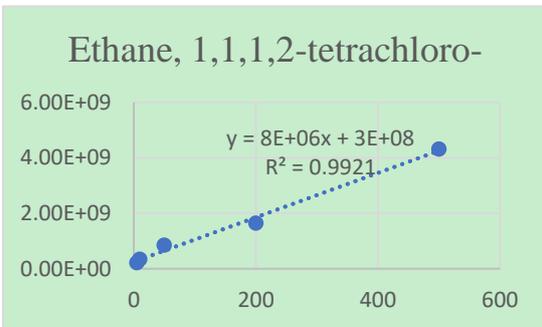
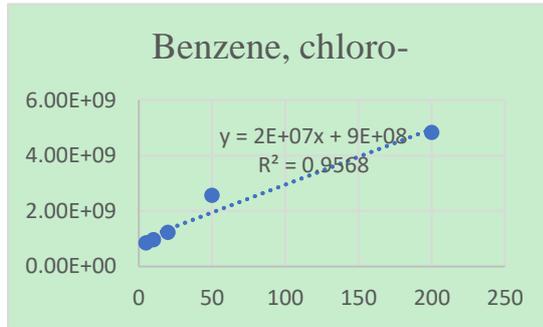
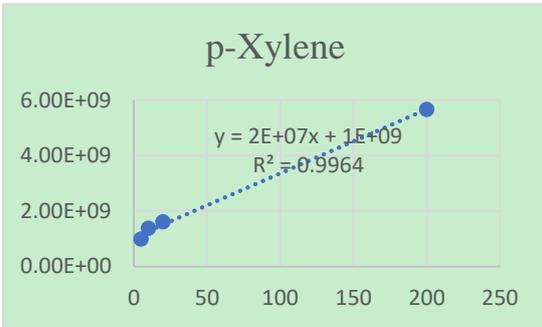
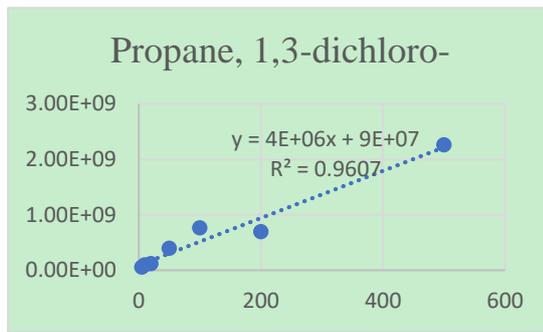
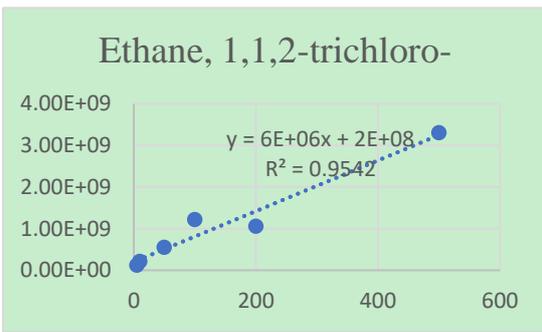
表 7 分別為各標準品 VOC 之線性迴歸公式，判定係數 (R^2)，QC ($\mu\text{g/mL}$)、精確度、線性範圍 ($\mu\text{g/mL}$)、LOD ($\mu\text{g/mL}$) 及 LOQ ($\mu\text{g/mL}$)。

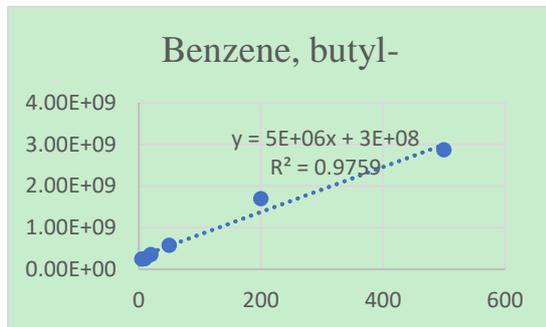
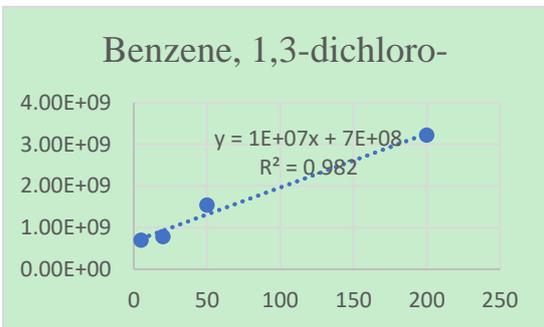
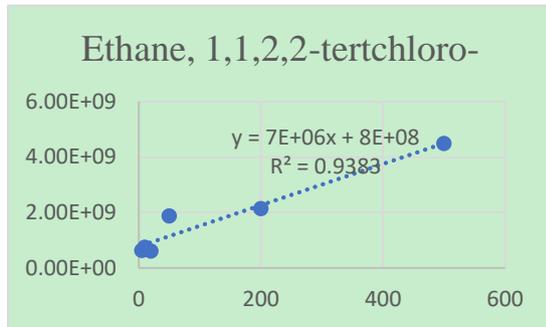
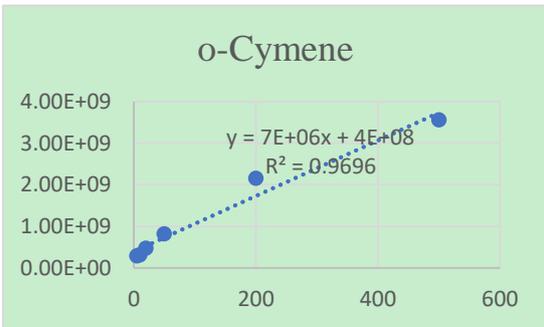
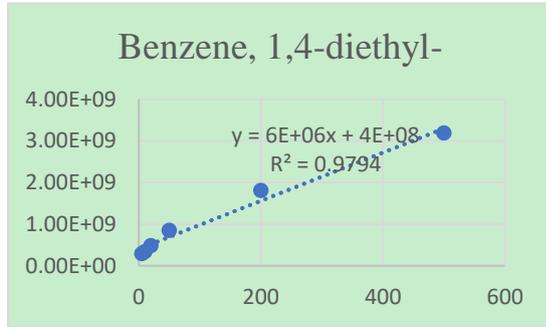
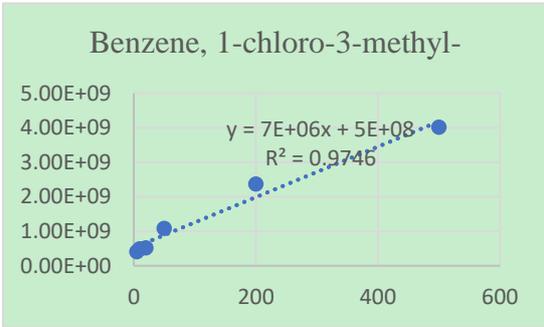
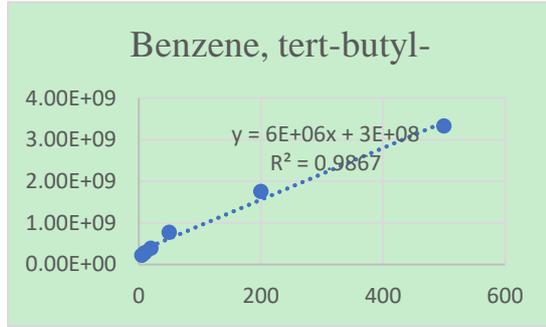
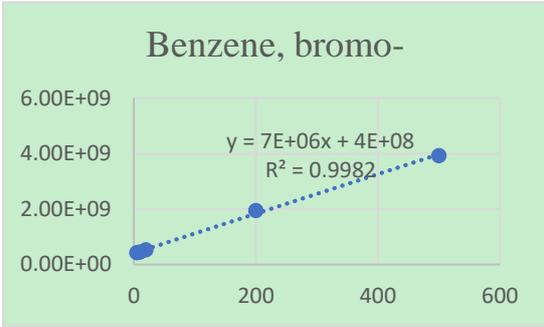
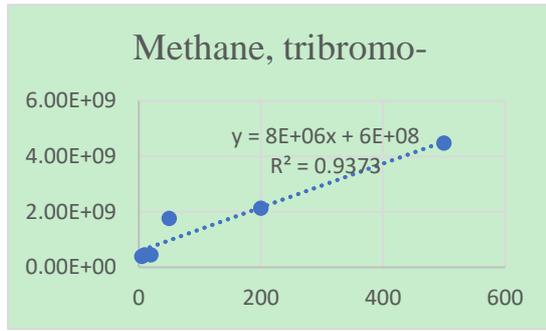
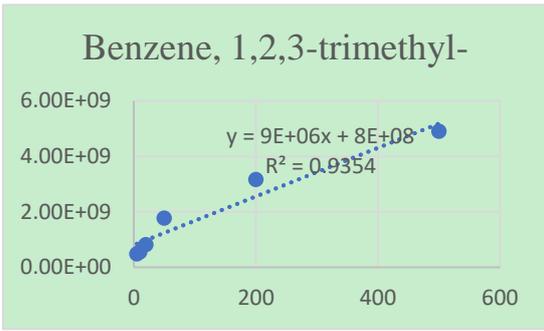
Compound	迴歸線公式	R^2	QC	精確度	線性範圍	LOD	LOQ
Benzene	$y=5E+06x + 1E+07$	0.9901	MQC 50	101%	50-500	5	50
Octane	$y=5E+06x + 1E+08$	0.9834	LQC 10	90%	10-500	5	10
			MQC 50	102%			
Ethane, 1,2-dichloro-	$y=1E+06x - 3E+06$	0.9975	LQC 10	93%	10-500	5	10
			MQC 50	101%			
			HQC 200	86%			
Propane, 1,2-dichloro-	$y=2E+06x + 1E+07$	0.9868	LQC 10	113%	10-500	5	10
			MQC 50	93%			
Toluene	$y=2E+07x + 7E+08$	0.9291	LQC 10	111%	10-500	5	10
			HQC 200	92%			
1,2-Dichloropropane	$y=798348x + 2E+07$	0.9961	LQC 10	108%	10-500	5	10
			MQC 50	115%			
			HQC 200	103%			
Tetrachloroethylene	$y=4E+06x + 2E+08$	0.9966	MQC 50	99%	50-500	5	50
			HQC 200	101%			
1-Propene, 1,3-dichloro-,	$y=1E+06x + 3E+07$	0.9525	LQC 10	115%	10-500	5	10
			HQC 200	82%			
Nonane	$y=6E+06x + 2E+08$	0.9953	MQC 50	103%	50-500	5	50

1-Propene, 1,3-dichloro-	$y=6E+06x + 2E+08$	0.9953	MQC 50	110%	50-500	5	50
Ethane, 1,1,2-trichloro-	$y=6E+06x + 2E+08$	0.9542	MQC 50	119%	50-500	5	50
Propane, 1,3-dichloro-	$y=4E+06x + 9E+07$	0.9607	LQC 10	98%	10-500	5	10
			MQC 50	119%			
p-Xylene	$y=2E+07x + 1E+09$	0.9964	LQC 10	115%	10-500	5	10
			HQC 200	91%			
Benzene, chloro-	$y=2E+07x + 9E+08$	0.9568	LQC 10	95%	10-500	5	10
			HQC 200	91%			
Ethane, 1,1,1,2-tetrachloro-	$y=8E+06x + 3E+08$	0.9921	HQC 200	84%	200-500	5	200
Decane	$y=2E+06x + 1E+08$	0.9537	MQC 50	109%	50-500	5	50
o-Xylene	$y=569288x + 3E+07$	0.9933	MQC 50	116%	50-500	5	50
Cumene	$y=8E+06x + 4E+08$	0.9945	HQC 200	118%	50-500	5	200
Styrene	$y=1E+07x + 7E+08$	0.9899	LQC 10	104%	10-500	5	10
			HQC 200	104%			
Benzene, propyl-	$y=3E+06x + 1E+08$	0.9973	LQC 10	93%	10-500	5	10
			HQC 200	109%			
Benzene, 1,2,3-trimethyl-	$y=9E+06x + 8E+08$	0.9354	MQC 50	111%	50-500	5	50
Methane, tribromo-	$y=8E+06x + 6E+08$	0.9373	HQC 200	96%	200-500	5	200
Benzene, bromo-	$y=7E+06x + 4E+08$	0.9982	LQC 10	101%	10-500	5	10
			HQC 200	111%			
Benzene, tert-butyl-	$y=6E+06x + 3E+08$	0.9867	HQC 200	110%	50-500	5	200
Benzene, 1-chloro-3-methyl-	$y=7E+06x + 5E+08$	0.9746	HQC 200	111%	200-500	5	200

Benzene, 1,4-diethyl-	$y=6E+06x + 4E+08$	0.9794	HQC 200	118%	200-500	5	200
o-Cymene	$y=7E+06x + 4E+08$	0.9696	MQC 50 HQC 200	119% 110%	50-500	5	50
Ethane, 1,1,2,2-tertchloro-	$y=7E+06x + 8E+08$	0.9383	HQC 200	96%	200-500	5	200
Benzene, 1,3-dichloro	$y=1E+07x + 7E+08$	0.982	HQC 200	109%	200-500	5	200
Benzene, butyl-	$y=5E+06x + 3E+08$	0.9759	MQC 50	109%	50-500	5	50
Benzene, 1,4-dichloro-	$y=6E+06x + 8E+08$	0.9802	HQC 200	110%	200-500	5	200
Dodecane	$y=2E+06x + 8E+07$	0.998	LQC 10 MQC 50	80% 80%	5-500	5	5
Benzene, 1,2-dichloro-	$y=6E+06x + 9E+08$	0.9659	HQC 200	120%	200-500	5	200
Propane, 1,2-dibromo-3-chloro-	$y=6E+06x + 6E+08$	0.9647	HQC 200	89%	200-500	5	200
Benzene, 1,2,4-trichloro-	$y=4E+06x + 2E+08$	0.9812	MQC 50 HQC 200	104% 106%	50-500	5	50
Tetradecane	$y=360430x + 2E+07$	0.997	LQC 10	119%	10-500	5	10
Naphthalene	$y=8E+06x + 3E+08$	0.9922	MQC 50	85%	50-500	5	50
Benzene, 1,2,3,-trichloro-	$y=4E+06x + 2E+08$	0.9793	LQC 10 HQC 200	95% 110%	10-500	5	10
Pentadecane	$y=116659x + 5E+06$	0.9966	LQC 10	101%	10-500	5	10







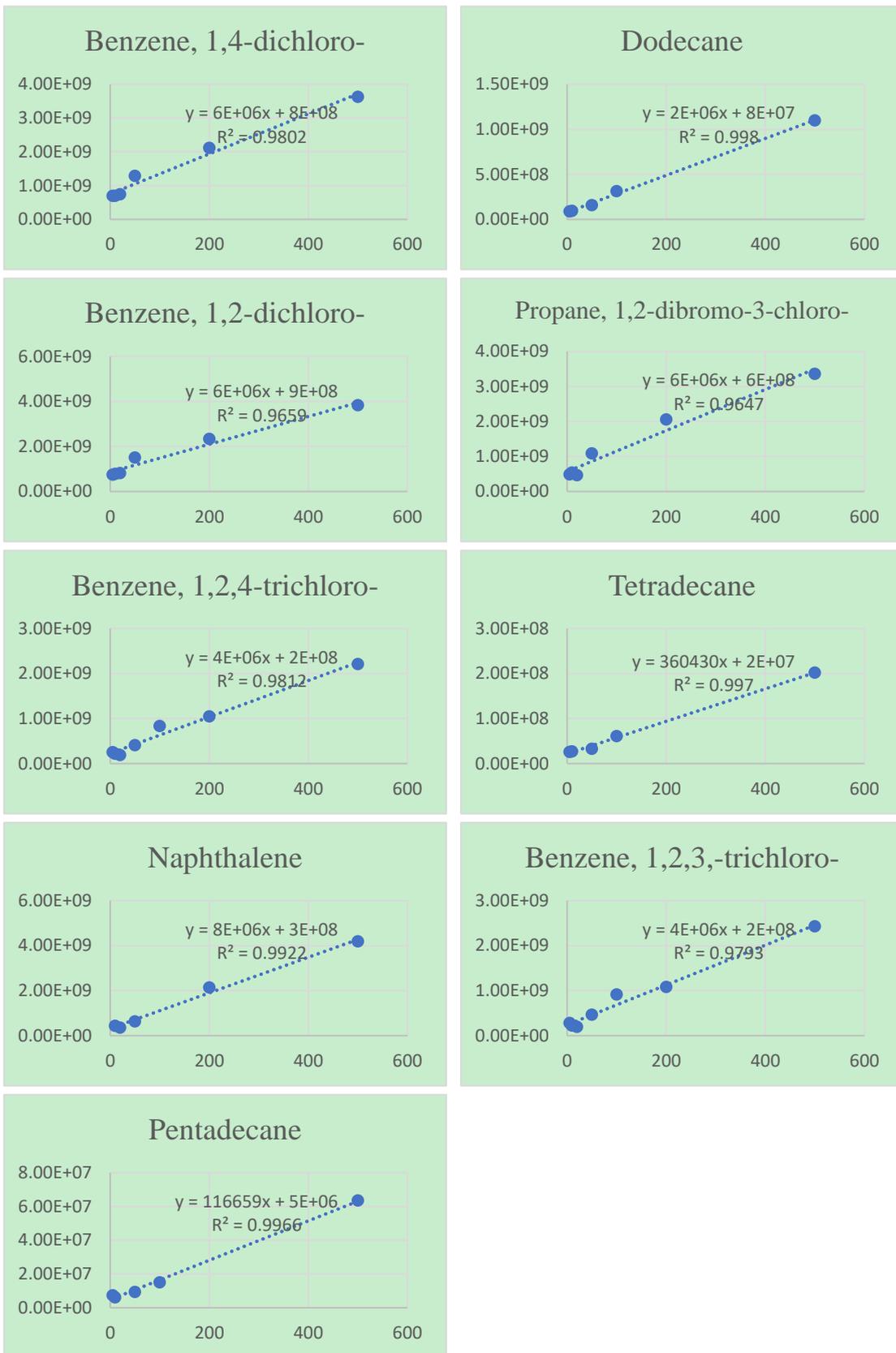


圖 18 標準品各 VOC 線性迴歸圖。



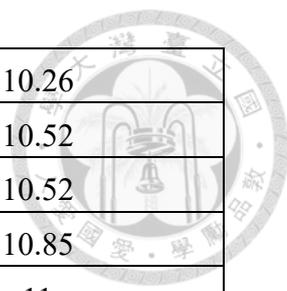
3.2. 實際應用

3.2.1 食物的氣味

實驗 2.2.2.1 為檢測箭型頭固相微萃取法可應用在現實層面，直接將食物汁液加入頂空瓶與空白頂空瓶（對照組）進行分析比較，圖 19 為氣相層析質譜層析圖，上圖為對照組，下圖則為加入食物汁液後的結果，明顯呈現此食物汁液含有大量的 VOC，亦表示該食物氣味確實是因為含有不同的 VOC 而令人體嗅覺有不同的感受。圖 20 透過 Heatmap 的方式呈現比較結果，並列出從資料庫中分辨出的 VOC 成分及其延遲時間（如表 8）。

表 8 該食物所含 VOC 及其延遲時間 (RT)。

Food VOC	Retention time (min)
2-Propanone, 1-methoxy-	3.16
Ethyl Acetate	4.2
1-Butanol, 3-methyl-	4.63
Butanal, 3-methyl-	5.27
1-Butanol	6.08
Disulfide, dimethyl	6.57
1-Butanol, 3-methyl-	7.32
Butanoic acid, ethyl ester	7.4
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	7.93
Propanoic acid	8.27
Diallyl sulfide	8.26
4-Methyl-1-heptyn-4-ol	8.74
2-Methyl-Propanoic acid	9.17
Benzene, (1-methylethyl)-	9.33
4,4-Dimethylpent-2-enal	9.55
1-Hexanol	9.85
Benzene, propyl-	9.94
Butanoic acid	10
1,3-Dithiane	10.08



Furan, 2-pentyl-	10.26
Benzyl chloride	10.52
D-Limonene	10.52
beta-Phellandrene	10.85
Butanoic acid, 3-methyl	11
Benzene, 1,4-diethyl-	11.05
1,3,8-p-Menthatriene	11.2
Dimethyl trisulfide	11.42
Butanoic acid, 3-,methyl-, butyl ester	11.8
Pentanoic acid	12
Benzaldehyde	12.8
2-Propanol, 1,3-dichloro-	13.59
Diallyl disulphide	13.76
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	14.06
Benzeneacetaldehyde	14.91
3-Methyl-1-hexanoic acid	15.17
Acetophenone	15.27
Terpinen-4-ol	15.71
Estragole	16.25
Cyclohexene, 4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl)-, (3R-trans)-	16.46
Benzene, (1-ethylpropyl)-	17.1
alfa.-Copaene	17.24
p-Cresol	17.73
Anethole	18.48
Caryophyllene	18.87
Phenol, 4-ethyl-	19.42
Humulene	19.68
1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,6,7,8,8a-hexahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, (1alfa,3aalfa,7alfa,8abeta)-	20.3
2-Propenal, 3-phenyl-	20.56
Eugenol	21.1
Indole	22.75

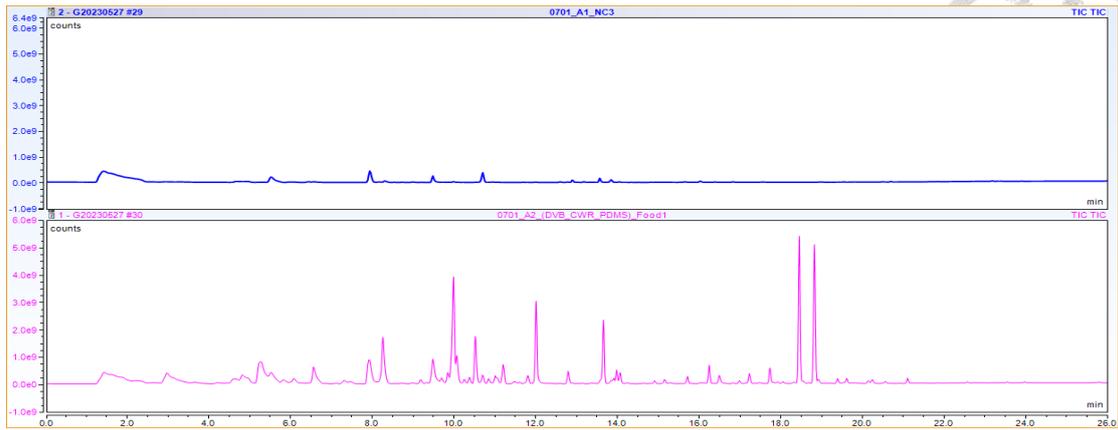


圖 19 氣相層析質譜層析圖 (上圖為對照組，下圖為加入食物汁液)。

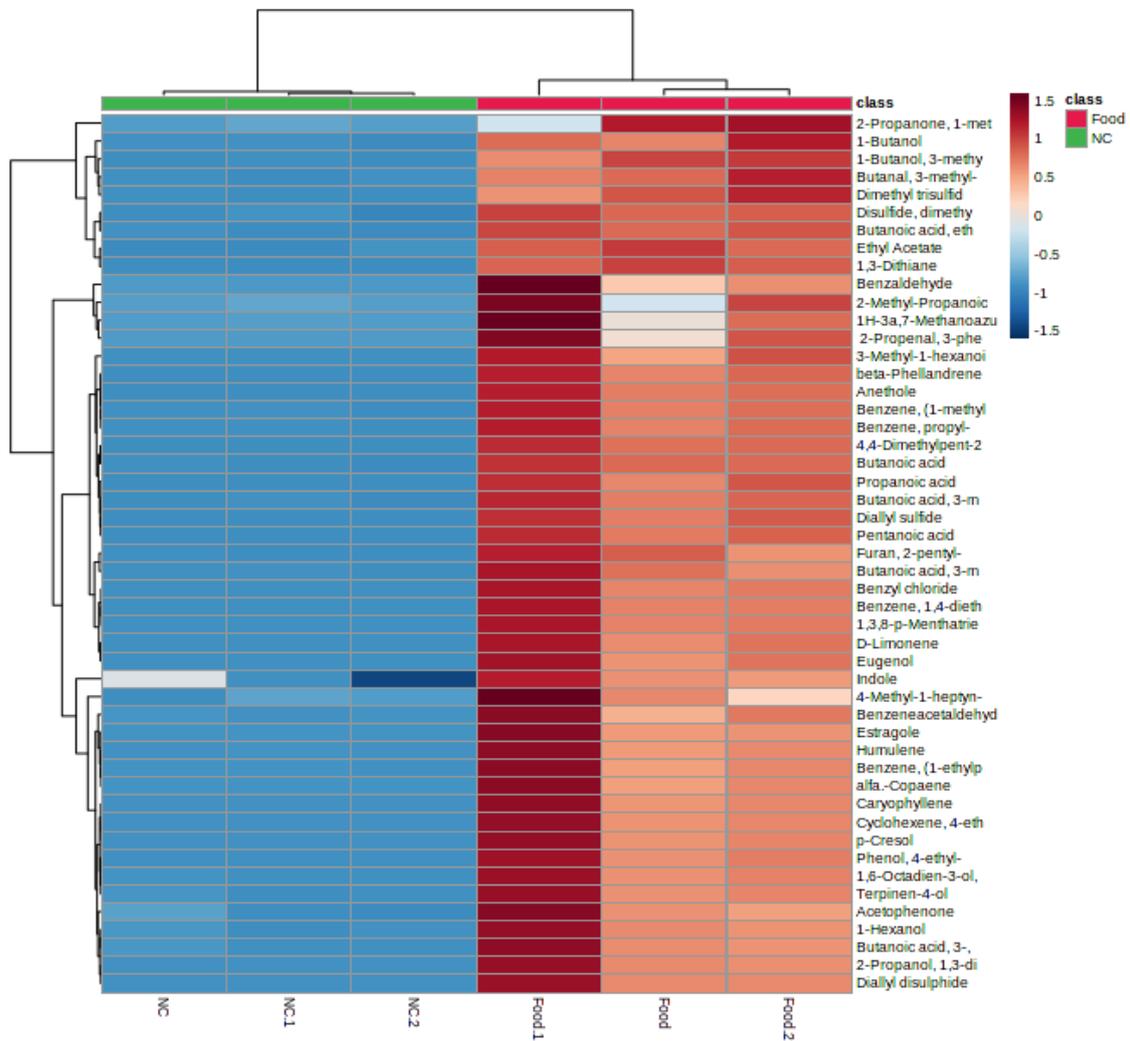


圖 20 加入食物之對照，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為有食物汁液，綠色為對照組，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。



3.2.2 人體呼出的氣體

實驗 2.2.2.2 為測試箭型頭固相微萃取法是否可直接檢測出單純用頂空瓶收集之人體呼出之氣體的 VOC，圖 21 氣相層析質譜儀層析圖結果可以發現兩者波形相去不遠，進一步以 Raw Data 分析後並未找到突出的 VOC。一般人在正常情況下所呼出的氣體，他人並不會有特別的感受，亦即表示呼出的氣體內縱然含有不同的 VOC，但其濃度可能甚低，以致於無法造成異於一般空氣的氣味，以實驗結果顯示縱使使用萃取效果較好的箭型頭固相微萃取法仍無法單純以頂空瓶收集即可。依文獻資料對於收集人體呼出之 VOC，無論是使用 sorbent trap^{2, 4, 5, 16-24} 或 Tedlar bag^{3, 6, 7, 10, 12, 25} 均需要配合其他機器，較侵入性的則是直接取受測者肺泡空氣^{8, 9, 14}，抑或是近年發展非侵入式手持設備 RTubeTM，受測者正常呼吸到設備中後冷凝收集²⁶⁻²⁸ 等，均為了所呼出的少量 VOC，進一步前置處理後才能用氣相層析質譜儀檢測出。圖 21 下圖人體呼出氣體中，於遲滯時間 20 分鐘後有異於一般空氣之尖峰，但以目前資料庫中並未找出匹配之化合物。

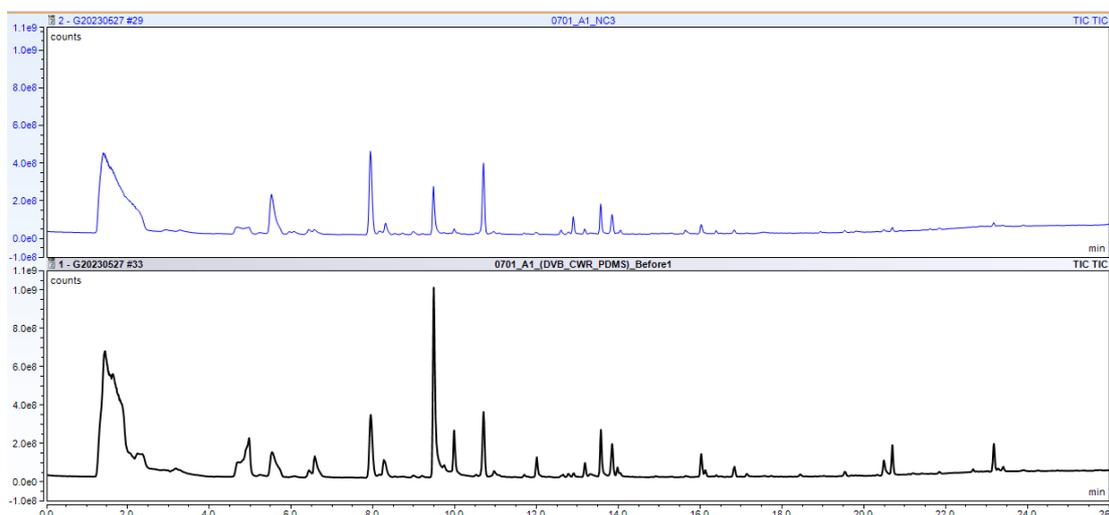


圖 21 氣相層析質譜層析圖 (上圖為對照組，下圖為收集人體所呼出之氣體)。



3.2.3 飲食前後的 VOC

依 3.2.2 的實驗結果推測可能在收集人體一般狀況下所呼出氣體需要進一步前置處理才行。實驗 3.2.3 則是建立在若由外人嗅覺已有所查覺的狀況下收集受測者所呼出的氣體進行比較，圖 22 為此實驗之氣相層析質譜層析圖（上圖為飲食前，下圖為飲食後），從圖形的尖鋒比較，飲食前後並沒有發現有額外增加的尖峰，甚至於飲食之前，以 Raw Data 分析亦無找到突出的 VOC，推測仍與前述對於如何收集人體呼出微量之 VOC 的方式相關。

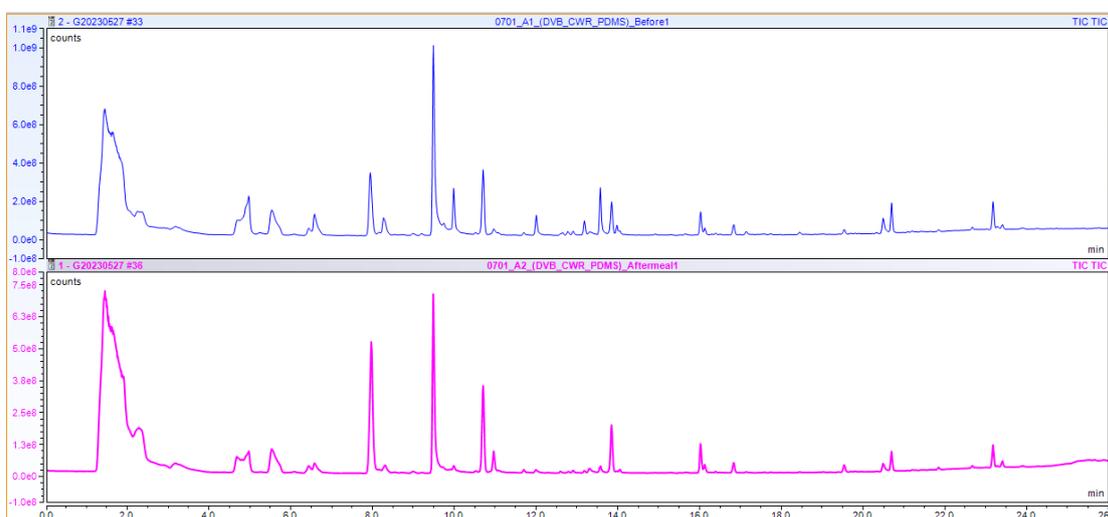


圖 22 氣相層析質譜層析圖（上圖為飲食之前，下圖為飲食之後）。

3.2.4 不同屍體的氣味

依據實驗取得的素材進行下列的分組比較，包含兩處來源不同的水浮屍、水浮屍不同臟器組織的比較、水浮屍、山林間屍體及家中腐屍與對照組的差異、家中腐屍不同臟器組織的比較，以及相同臟器但位於不同陳屍地點的比較：

3.2.4.1 水浮屍的氣味的比較

此實驗結果為中部海邊的水浮屍，採用肺臟組織作為實驗素材，圖 23 為氣相層析質譜層析圖，可以明顯比看出下圖多出許多在對照組不存在或較少的 VOC。



圖 24 透過 Heatmap 的方式呈現比較結果，並列出從資料庫中分辨出的 VOC 成分及其延遲時間 (如表 9)。

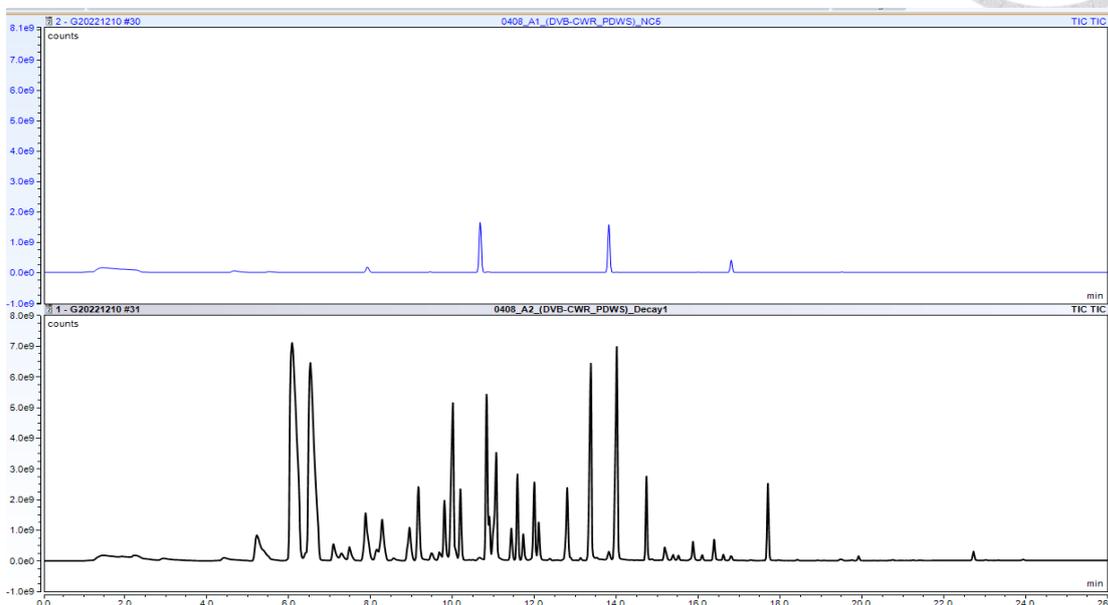
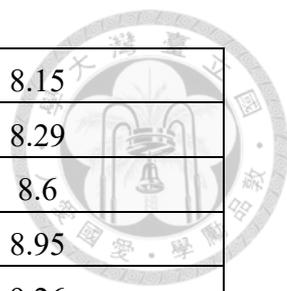


圖 23 氣相層析質譜層析圖 (上圖為對照組，下圖為加入水浮屍肺臟組織)。

表 9 中部海邊水浮屍組織所含 VOC 及其延遲時間 (RT)。

Decay Lung in Water of VOC	Retention Time (min)
Methylamine, N,N-dimethyl-	2.36
Ethanol	3
1-Propanol	4.56
Butanal, 3-methyl	5.25
1-Butanol	6.03
Toluene	6.43
Disulfide, dimethyl	6.5
Butanoic acid, ethyl ester	7.1
1-Butanol, 3-methyl-	7.28
1-Butanol, 2-methyl-	7.33
Acetic acid, butyl ester	7.46
1-Pentanol	7.9



Ethylbenzene	8.15
Benzene, 1,3-dimethyl-	8.29
2-Pentenal, 2-methyl-	8.6
p-Xylene	8.95
Propanoic acid, 2-methyl-	9.26
Acetic acid, pentyl ester	9.39
2-Hexenal, 2-methyl-	9.49
Propanoic acid, 2-methyl-, butyl ester	9.82
Butanoic acid	10
Benzene, 1-ethyl-3-methyl-	10.07
Pentanoic acid, 4-methyl-, ethyl ester	10.12
Butanoic acid, butyl ester	10.76
Butanoic acid, 2-methyl-	11.06
Hexanoic acid, 2-methyl-	11.3
Dimethyl trisulfide	11.45
Butyl 2-methylbutanoate	11.59
Butanoic acid, 3-methyl-, butyl ester	11.68
Pentanoic acid	12.03
Pentanoic acid, butyl ester	12.68
Heptanoic acid, ethyl ester	12.84
Pentanoic acid, 4-methyl-	13.38
Hexanoic acid, butyl ester	13.94
Benzeneacetaldehyde	14.9
3-Methyl-hexanoic acid	15.15
1,2,4-Trithiolane, 3,5-dimethyl-	15.23
Heptanoic acid, butyl ester	15.94
Phenol	16.04
Disulfide, bis[1-(methylthio)ethyl]	16.36
p-Cresol	17.79
Benzeneacetaldehyde, alpha-ethylidene-	19.88
2-Piperidinone	20.71
Indole	22.72

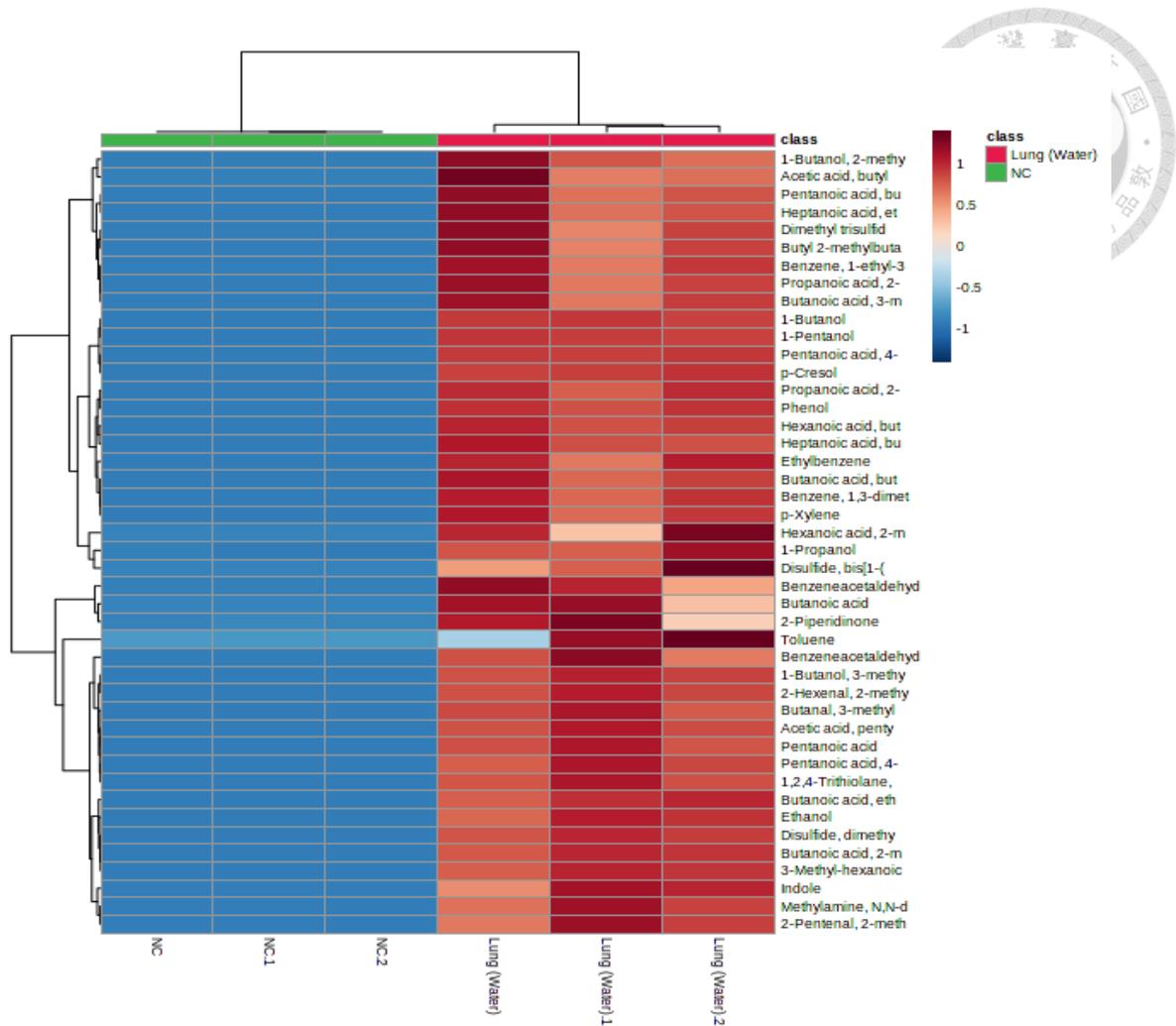


圖 24 加入水浮屍肺臟組織之對照，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為加入水浮屍組織，綠色為對照組，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。

另一具水浮屍來源為北部海邊，相較於中部海邊，北部海邊的屍體較為完整，可能與發現的時間有關，其腐敗程度較輕，遭水中動物啃食的部分也較少，因此可取得的組織亦較完整。圖 25 為比較不同水域的水浮屍來源的氣相層析質譜層析圖，為減少不同體腔之間的差異性，均以肺臟組織進行比較，上圖為中部海邊，下圖為北部海邊，可以明顯發現兩者所產生的 VOC 其濃度或含量均有所不同，推測可能由於腐敗時間的差異所導致，經 Raw Data 分析後並沒有在北部海邊的水浮屍肺臟組織發現有別於中部海邊的水浮屍肺臟組織所含的 VOC 成分。

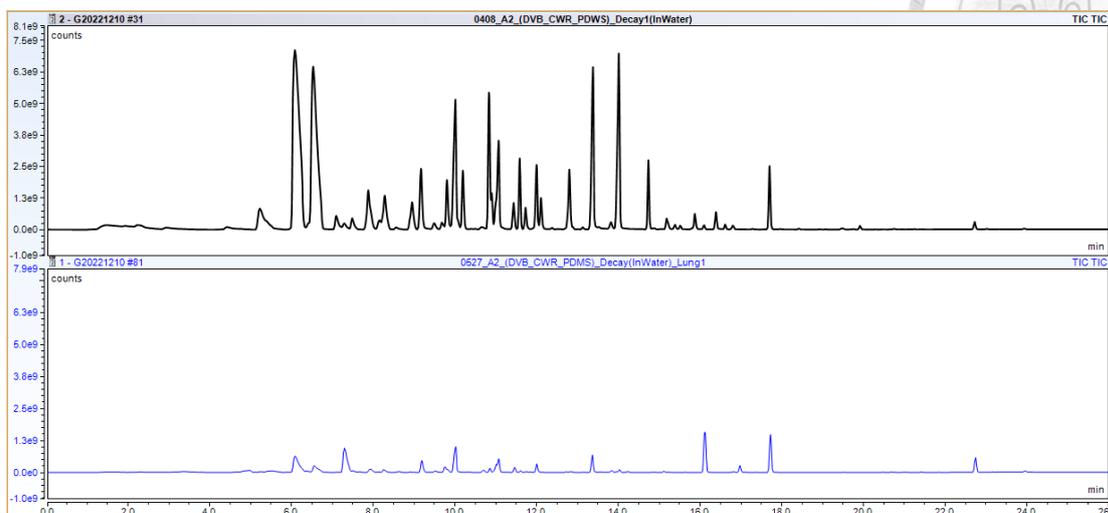
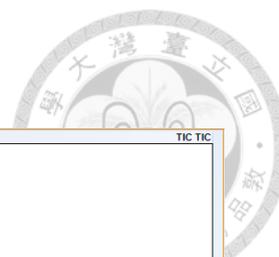


圖 25 不同海邊水浮屍組織比較，以氣相層析質譜層析圖呈現 (上圖為中部海邊，下圖為北部海邊)。

由於北部海邊所取得水浮屍較為完整，可依序取得人體內不同體腔的器官組織進一步分析，由頭至腳分別取得的代表器官組織為顱腔 (大腦組織)、胸腔 (肺臟組織)、腹腔 (肝臟組織及小腸組織) 以及後腹腔 (腎臟組織)。圖 26 為將各器官的氣相層析質譜層析圖重疊後圖形，可發現不同體腔的器官所產生的 VOC 不盡相同，而同樣位於腹腔的肝臟及小腸 (如圖 27)，兩者器官所產生的 VOC 亦不全然相同，顯示除了位於的體腔影響外，不同的器官亦有其各自所含的 VOC 成份，畢竟小腸組織在人體尚存時，就比肝臟組織含有不同的微生物菌相。圖 28 透過 Heatmap 的方式呈現比較各器官之結果，並列出從資料庫中分辨出的 VOC 成分 (如表 10)。由圖 28 除了可以發現不同器官其所產生的 VOC 不同之外，從 VOC 相近度來討論，可發現肝臟和小腸組織的相近度較其他體腔來的高，與此二者均位於腹腔內是相吻合的；而雖然同為腹腔，但因腹膜分隔成前腹腔及後腹腔，無論以肝臟或小腸組織和腎臟組織相比均位於不同族群，其 VOC 可能與器官本身較為相關。

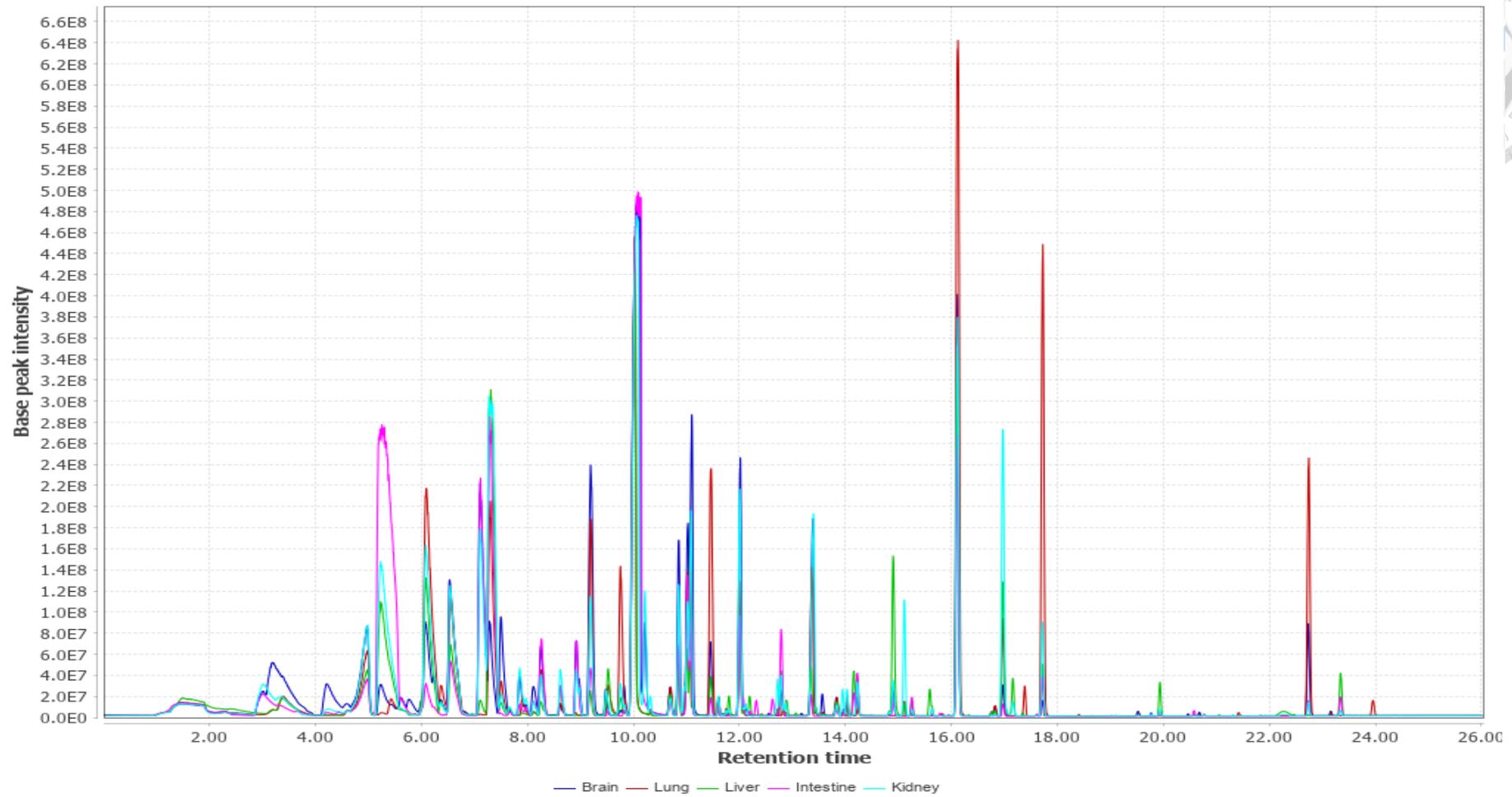


圖 26 各器官重疊之氣相層析質譜層析圖 (藍色為腦部，紅色為肺臟，綠色為肝臟，粉色為小腸，天青色為腎臟)。

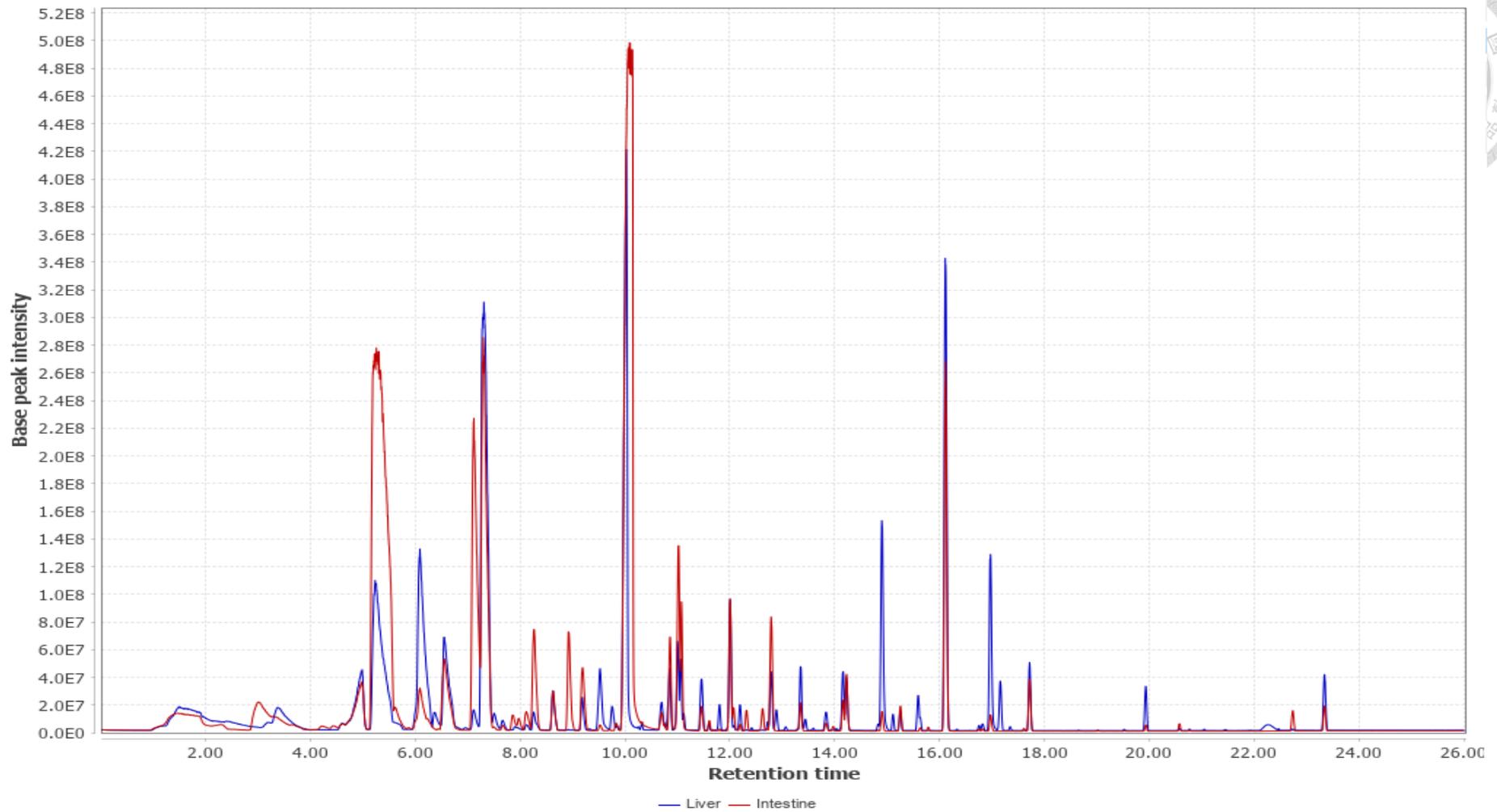


圖 27 腹腔內器官重疊之氣相層析質譜層析圖 (藍色為肝臟，紅色為小腸)。

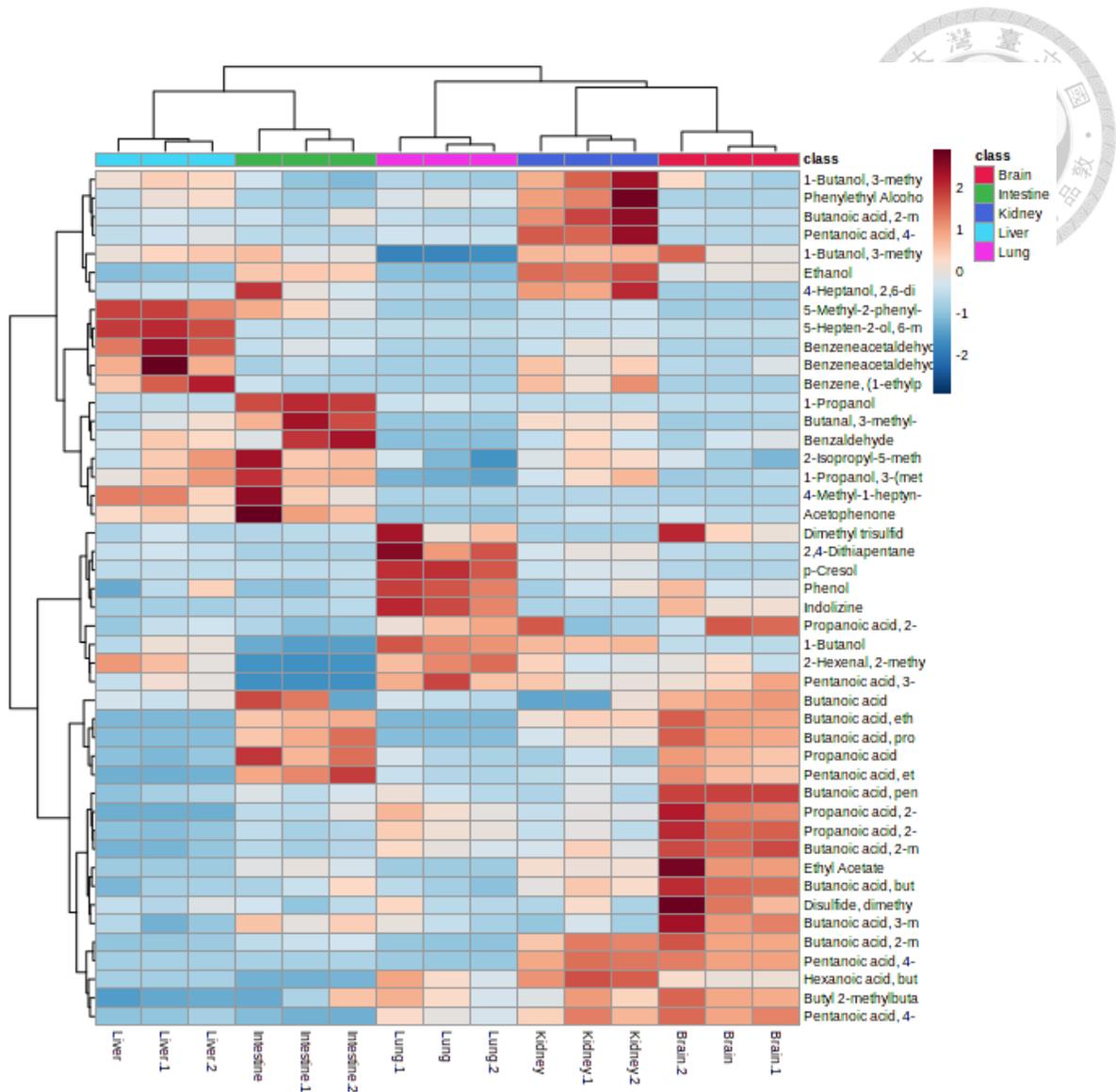
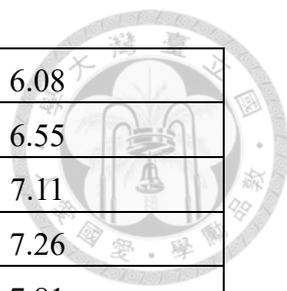


圖 28 水浮屍各器官所含 VOC 比較，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為腦部，綠色為小腸，藍色為腎臟，天青色為肝臟，粉色為肺臟，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。

表 10 北部海邊水浮屍組織所含 VOC 及其延遲時間 (RT)。

Decay tissues in Water of VOC	Retention time (min)
Ethanol	3.02
Ethyl Acetate	4.32
1-Propanol	4.32
Butanal, 3-methyl-	5.25



1-Butanol	6.08
Disulfide, dimethyl	6.55
Butanoic acid, ethyl ester	7.11
1-Butanol, 3-methyl-	7.26
Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	7.81
Propanoic acid	8.26
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	8.63
Butanoic acid, propyl ester	8.93
Pentanoic acid, ethyl ester	9
Propanoic acid, 2-methyl-	9.17
2-Hexenal, 2-methyl-	9.51
2,4-Dithiapentane	9.79
Propanoic acid, 2-methyl-, butyl ester	9.84
Butanoic acid	9.97
Butanoic acid, butyl ester	10.86
Butanoic acid, 3-methyl-	11.03
Butanoic acid, 2-methyl-	11.07
Dimethyl trisulfide	11.46
Butyl 2-methylbutanoate	11.62
Butanoic acid, pentyl ester	12
Pentanoic acid, 4-methyl-, pentyl ester	12.13
4-Methyl-1-heptyn-3-ol	12.2
4-Heptanol, 2,6-dimethyl-	12.69
Butanoic acid, 2-methyl-, 3-methylbutyl ester	12.76
Benzaldehyde	12.82
Pentanoic acid, 4-methyl-	13.37
Pentanoic acid, 3-methylbutyl ester	13.95
Hexanoic acid, butyl ester	14.02
2-Isopropyl-5-methylhex-2-enal	14.12
1-Propanol, 3-(methylthio)-	14.23
Benzeneacetaldehyde	14.9
Pentanoic acid, 4-methyl-, pentyl ester	15.12
Acetophenone	15.25

5-Hepten-2-ol, 6-methyl-	15.68
Phenol	16.12
Phenylethyl Alcohol	16.97
Benzene, (1-ethylpropyl)-	17.14
p-Cresol	17.72
Benzeneacetaldehyde, alpha-ethylidene-	19.92
Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl ester	20.69
Indolizine	22.74
5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	23.34

3.2.4.2 山林間屍體的氣味

由於屍體所在位置較偏僻，被發現時已嚴重腐敗，並遭蟲類所啃食，體內僅剩少許軟組織，已無肉眼可辨別之器官，採用軟組織進行分析，圖 29 為氣相層析質譜層析圖，可以發現較下圖多出許多在一般空氣中不存在或較少的 VOC。圖 30 透過 Heatmap 的方式呈現比較結果，並列出從資料庫中分辨出的 VOC 成分 (如表 11)。

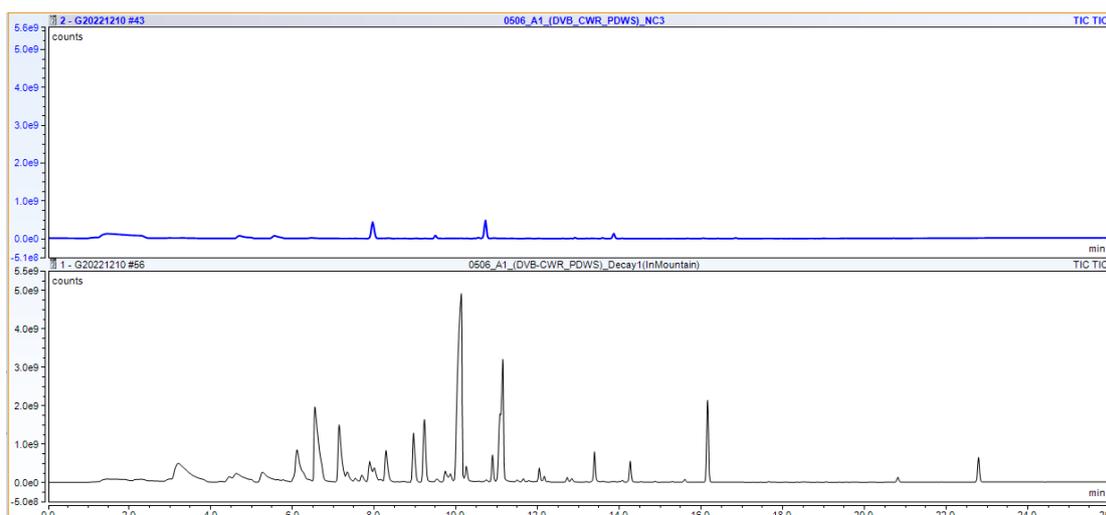


圖 29 氣相層析質譜層析圖 (上圖為對照組，下圖為加入山林間屍體組織)。

表 11 山林間屍體組織所含 VOC 及其延遲時間 (RT)。

Decay tissue in Mountain of VOC	Retention time (min)
2-Propanone, 1-methoxy-	3.25
2,3-Butanedione	4.66
Butanal, 3-methyl-	5.38
1-Butanol	6.1
Disulfide, dimethyl	6.52
Acetic acid	6.58
Butanoic acid, ethyl ester	7.19
1-Butanol, 3-methyl-	7.38
Acetic acid, butyl ester	7.55
Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	7.89
1-Pentanol	7.93
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	8
Propanoic acid	8.29
Diallyl sulfide	8.29
Butanoic acid, propyl ester	8.86
Pentanoic acid, ethyl ester	8.99
2-Methyl-Propanoic acid	9.23
Butanoic acid, 1-methylpropyl ester	9.34
Benzeneacetaldehyde	9.8
Butanoic acid, 3-methyl-, butyl ester	9.87
Butanoic acid	10.11
Butanoic acid, butyl ester	10.81
Butanoic acid, 3-methyl-	11
Butanoic acid, 2-methyl-	11.15
Dimethyl trisulfide	11.5
Butyl 2-methylbutanoate	11.65
Hexanoic acid	12.04
Pentanoic acid, 4-methyl-	13.38
Butyrolactone	14.17
1-Propanol, 3-(methylthio)-	14.41
Butanamide	15.64

Phenol	16.15
Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl ester	20.76
Indole	22.78

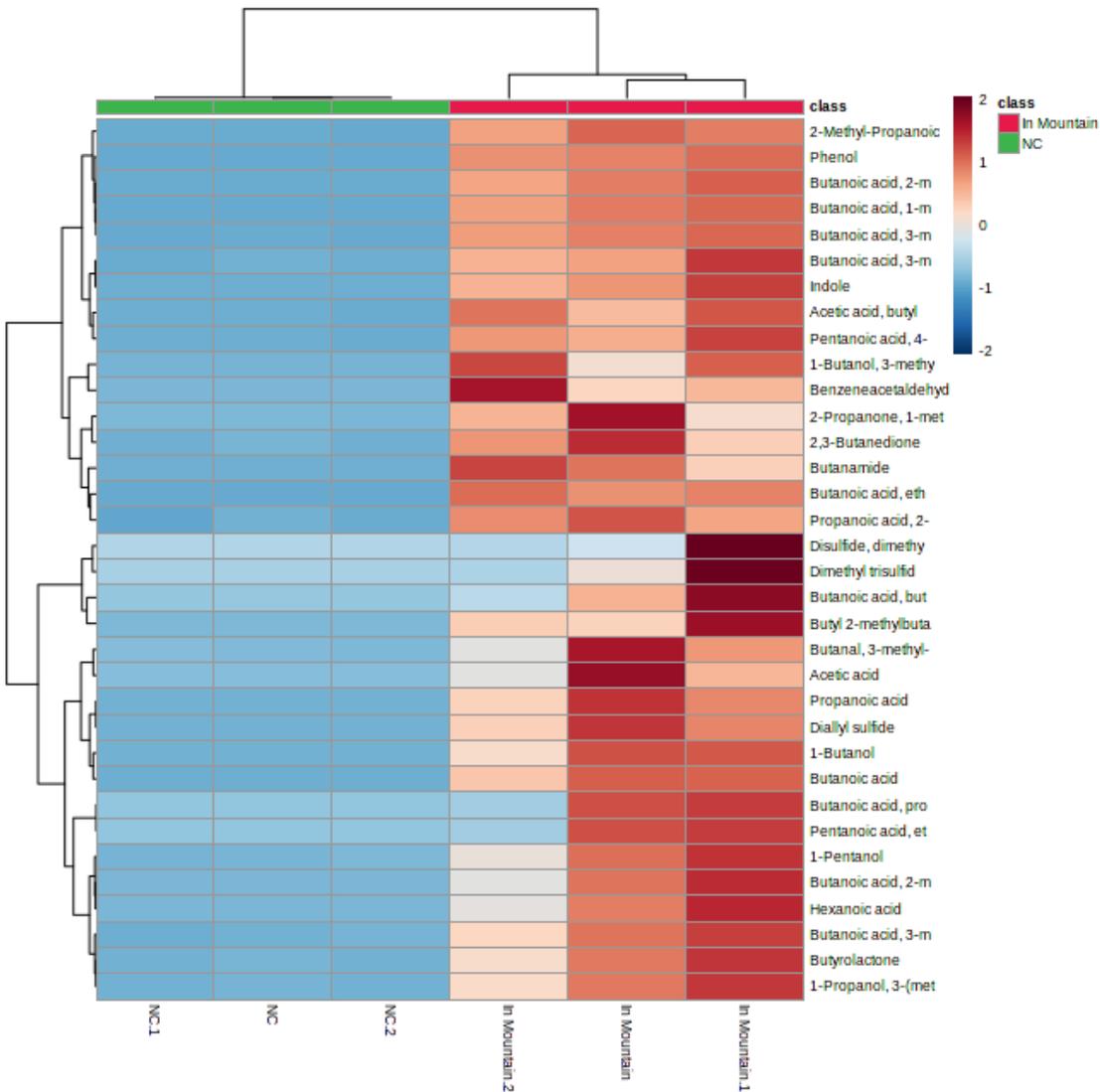


圖 30 山林間屍體組織所含 VOC 比較，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為加入屍體組織，綠色為對照組，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。



3.2.4.3 家中屍體的氣味

由於死者獨居，死後屍體被發現時已有所腐敗，雖有部分被昆蟲所啃食，但各體腔內仍有各個代表器官可取得，圖 31 為氣相層析質譜層析圖，最上圖為對照組，依序往下為大腦、肺、肝、小腸及腎組織，與水浮屍實驗結果一樣，除了發現有多出一般空氣中不存在或較少的 VOC 外，亦可發現不同腔室的器官所產生的 VOC 不盡相同。圖 32 透過 Heatmap 的方式呈現比較各器官之結果，並列出從資料庫中分辨出的 VOC 成分 (如表 12)。

表 12 家中腐屍組織所含 VOC 及其延遲時間 (RT)。

Decay tissues in House of VOC	Retention time (min)
Methylamine, N,N-dimethyl-	2.51
Acetic acid	3.04
1,2,4-Butanetriol	3.6
Butanal, 3-methyl-	3.81
Ethyl Acetate	4.12
2,3-Butanedione	4.67
Butanoic acid, 3-methyl-	6.42
Disulfide, dimethyl	6.5
4,4-Dimethylpent-2-enal	6.67
Butanoic acid, ethyl ester	7.4
Butanoic acid, 3-methyl-, trimethylsilyl ester	7.6
Benzaldehyde	8.31
4-Methyl-1-heptyn-3-ol	8.74
Butanoic acid, 2-methyl-, propyl ester	9.67
Propanoic acid, 2-methyl-, butyl ester	9.84
Pentanoic acid, 4-methyl-, ethyl ester	10.27
Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl	10.37
Butanoic acid, butyl ester	10.89
Butanoic acid, 3-methyl-	11.01
Hexanoic acid, butyl ester	14.11

1-Butanamine, 3-methyl-N-(2-phenylethylidene)-	16.3
5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	18.1

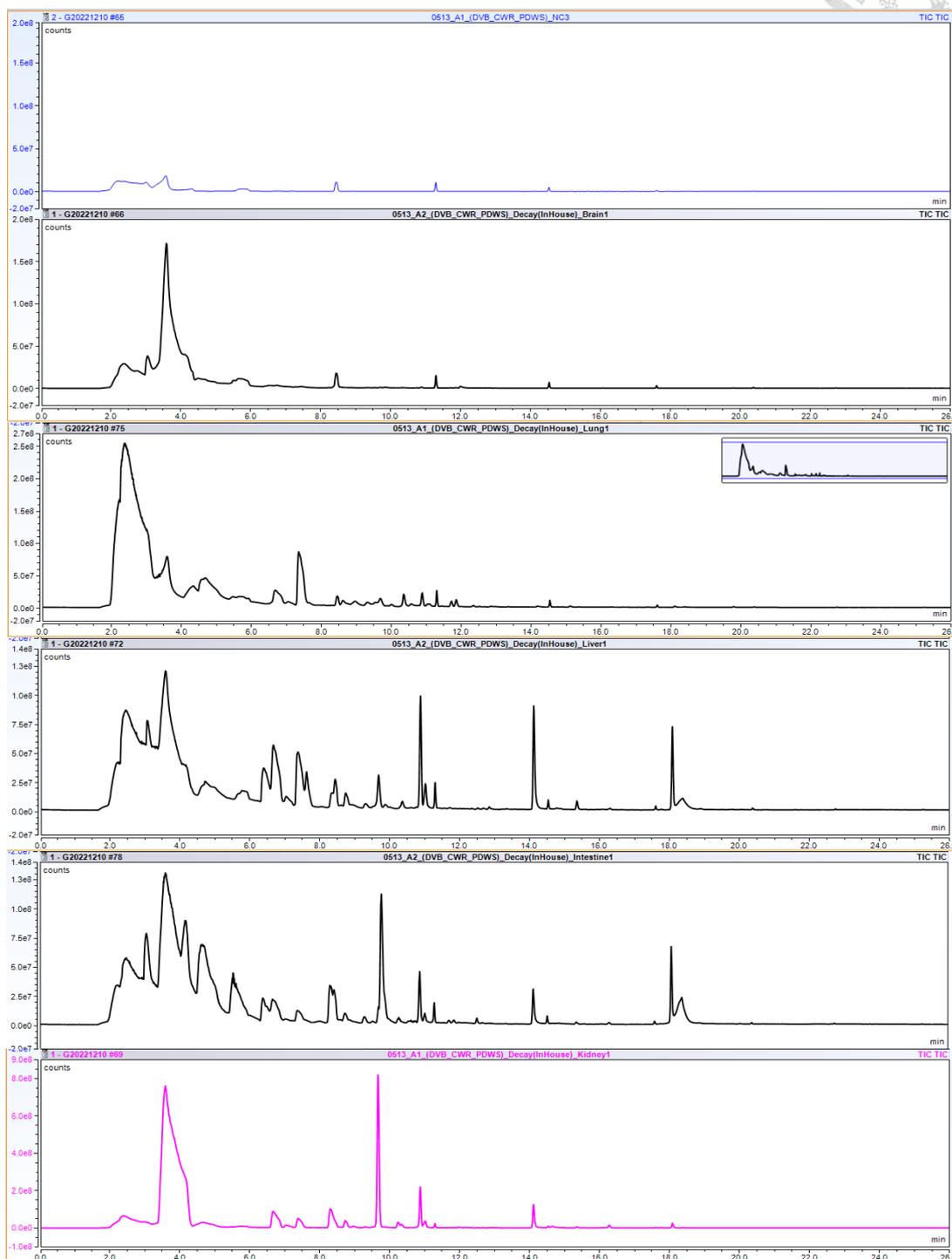
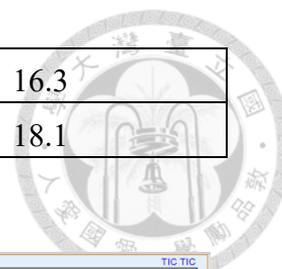


圖 31 各器官之氣相層析質譜層析圖比較，自上到下依序為對照組、大腦、肺臟、肝臟、小腸及腎臟。

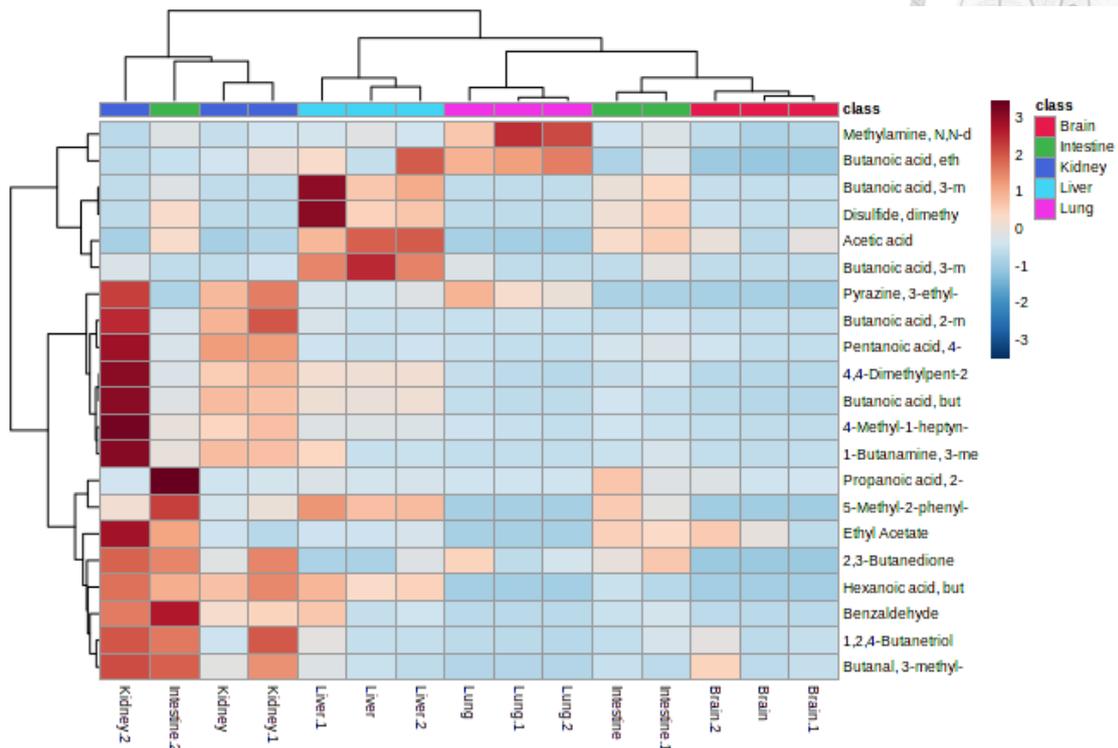
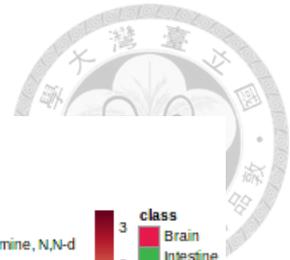


圖 32 家中腐屍各器官組織所含 VOC 比較，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為大腦，綠色為小腸，藍色為腎臟，天青色為肝臟，粉色為肺臟，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。

由圖 32 Heatmap 所呈現的結果，除了綠色標籤 Intestine 2 那欄之外，其他器官所產生的 VOC 仍有各自的特異性，且明顯與其他器官不盡相同，但與水浮屍的實驗結果不同，室內屍體不同臟器的 VOC 並沒有體腔上的相似度，即肝臟與小腸組織並無明顯的相似度，與腎臟亦無與其他體腔有更高的相近度。藉由不同地點屍體的結果，其器官產生的 VOC 仍與本身器官較有其相關性。

3.2.4.4 相同臟器但不同陳屍處的氣味比較

依據取得檢體的完整性，圖 33 至圖 37 以氣相層析質譜層析圖分別比較水浮屍與室內屍體在相同器官的 VOC 呈現。

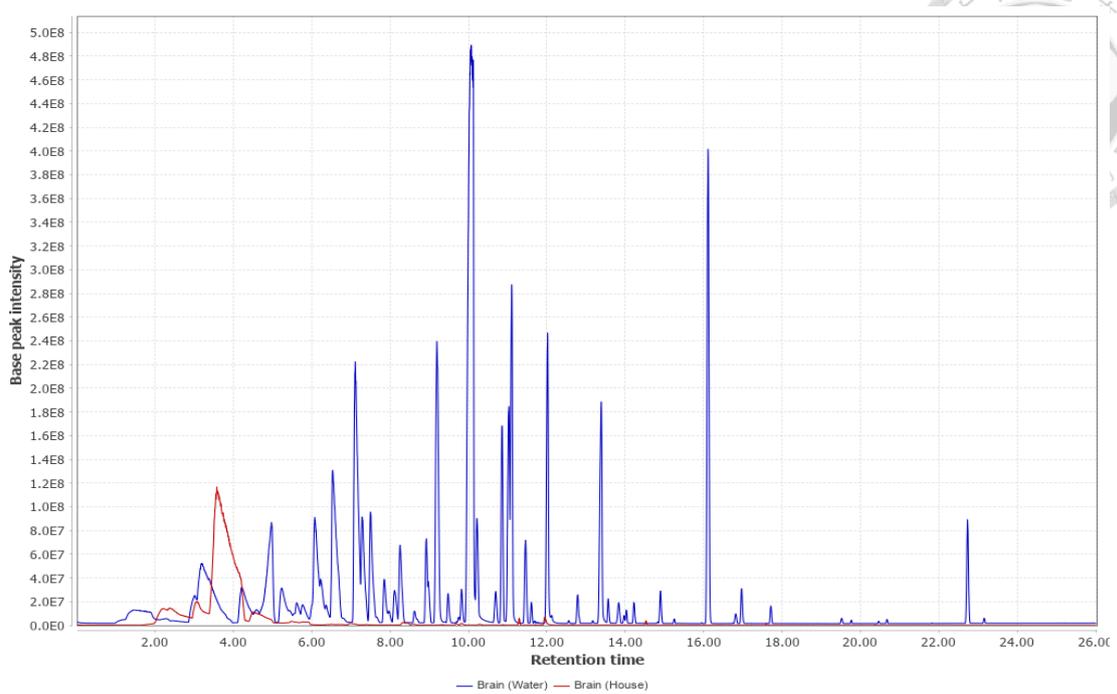


圖 33 位於不同區域屍體的大腦所含 VOC，以重疊之氣相層析質譜層析圖呈現 (藍色為水浮屍，紅色為家中腐屍)

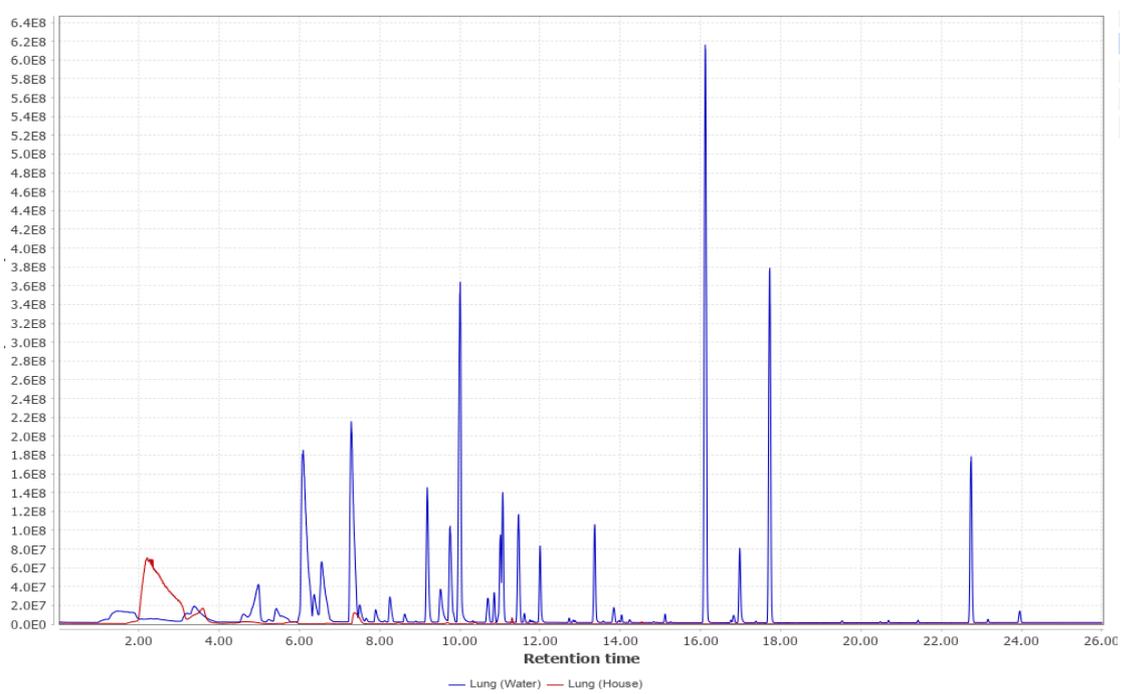


圖 34 位於不同區域屍體的肺臟所含 VOC，以重疊之氣相層析質譜層析圖呈現 (藍色為水浮屍，紅色為家中腐屍)

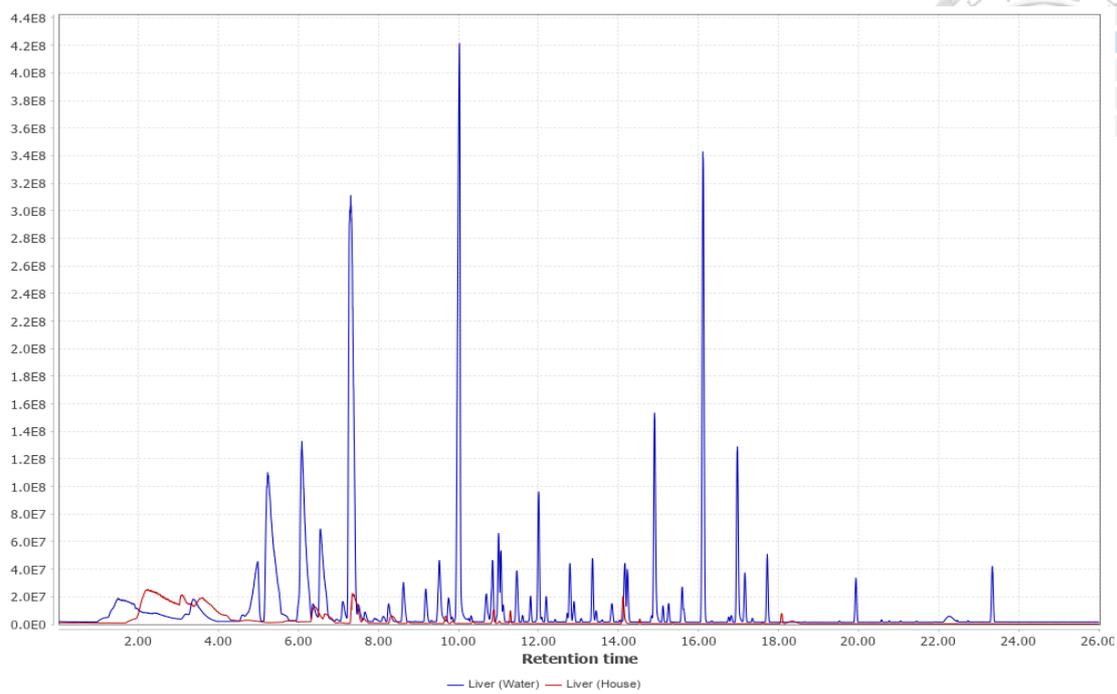


圖 35 位於不同區域屍體的肝臟所含 VOC，以重疊之氣相層析質譜層析圖呈現 (藍色為水浮屍，紅色為家中腐屍)

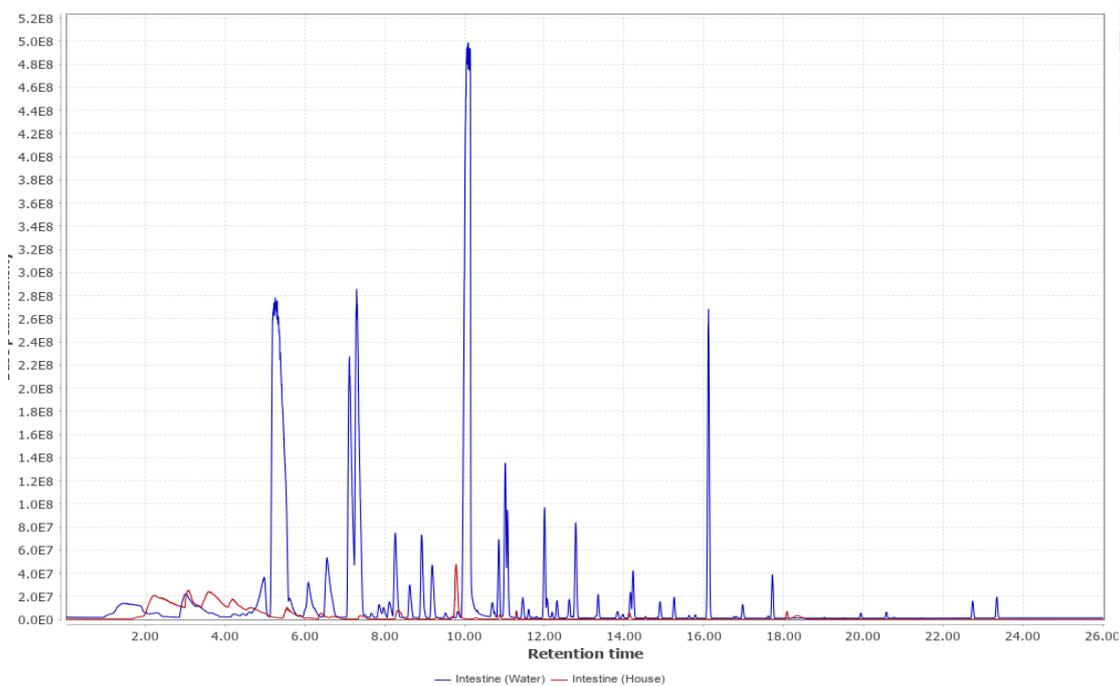


圖 36 位於不同區域屍體的小腸所含 VOC，以重疊之氣相層析質譜層析圖呈現 (藍色為水浮屍，紅色為家中腐屍)

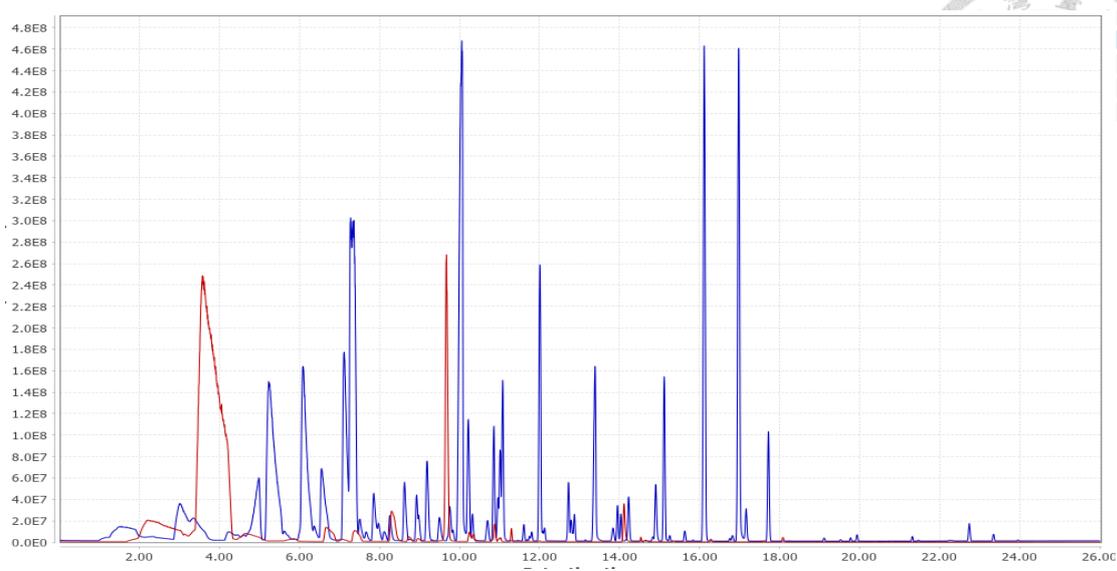


圖 37 位於不同區域屍體的腎臟所含 VOC，以重疊之氣相層析質譜層析圖呈現 (藍色為水浮屍，紅色為家中腐屍)

藉由相同器官的比較，可發現兩個陳屍處對於器官產生 VOC 種類有著不同的變化，並非單單只是濃度上的差異，可能與存在該環境下含有不同微生物的作用有著重要的關連性。表 13 則是依目前氣相層析質譜儀的資料庫可搜尋到的 VOC 成份，比較兩地點所產生的 VOC 的相異之處。導致相異的 VOC 產生除了環境不同的微生物外，亦需考慮其作用時間 (即遺體腐敗的時間)。另外下表內部分左右兩側可能出現同分異構物，這可能與本實驗在參數設定上並沒有將所有化合物區分出各自的延遲時間所導致。

表 13 不同陳屍地點所含 VOC 之比較 (左欄為家中腐屍，右欄為水浮屍)。

Decay in House	Decay in Water
Methylamine, N,N-dimethyl-	Ethanol
Acetic acid	1-Propanol
1,2,4-Butanetriol	1-Butanol
2,3-Butanedione	1-Butanol, 3-methyl-
Butanoic acid, 3-methyl-	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester

4,4-Dimethylpent-2-enal	Propanoic acid
Butanoic acid, 3-methyl-, trimethylsilyl ester	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl ester
Butanoic acid, 2-methyl-, propyl ester	1-Butanol, 3-methyl-, acetate
Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl	Butanoic acid, propyl ester
1-Butanamine, 3-methyl-N-(2-phenylethylidene)-	Pentanoic acid, ethyl ester
	Propanoic acid, 2-methyl-
	2-Hexenal, 2-methyl-
	2,4-Dithiapentane
	Butanoic acid
	Butanoic acid, 2-methyl-
	Dimethyl trisulfide
	Butyl 2-methylbutanoate
	Butanoic acid, pentyl ester
	Pentanoic acid, 4-methyl-, pentyl ester
	4-Heptanol, 2,6-dimethyl-
	Butanoic acid, 2-methyl-, 3-methylbutyl ester
	Pentanoic acid, 4-methyl-
	Pentanoic acid, 3-methylbutyl ester
	2-Isopropyl-5-methylhex-2-enal
	1-Propanol, 3-(methylthio)-
	Benzeneacetaldehyde
	Pentanoic acid, 4-methyl-, pentyl ester
	Acetophenone
	5-Hepten-2-ol, 6-methyl-
	Phenol
Phenylethyl Alcohol	
Benzene, (1-ethylpropyl)-	
p-Cresol	
Benzeneacetaldehyde, alpha-ethylidene-	
Indolizine	



3.3. 死後時間間隔分析

為了讓組織能與戶外環境流通，又為了減少蛆蟲生長導致檢體的丟失，本研究在透明盒內放置兩種新鮮組織為肺臟及肝臟，並於取樣當下拍照留證後取樣，再置入頂空瓶內進行萃取分析，然而在二周後取樣時，發現肝臟組織已逸失，經觀察發現已成為螞蟻的糧食，二個月後則是連肺臟組織也逸失，觀察後螞蟻仍為主要影響因子。除此之外，在實驗過程中並無移動放置的盒子，可正常接受日曬雨淋的自然環境，實際照片如圖 38。

經過萃取分析之後，圖 39 至圖 43 分別為不同時間段下 (依序為第 0、3、7、14 及 28 天) 對照組、肺臟與肝臟所產生的 VOC 之氣相層析質譜層析圖，其中肝臟組織於第 14 天之後便已佚失無法實驗。圖 39 可初步發現新鮮的肺臟和肝臟組織會產生不同的 VOC，但僅有數個 VOC 被確認出來。圖 40 至圖 42 由層析圖可看到大部分 VOC 均在 10 分鐘之前已被層析出來，而圖 43 則為放置 28 天後之肺臟組織，所產生 VOC 相當多樣；圖 44 為肺臟依不同放置時間比較更可看出其不同時間段的差異性，圖 45 則透過 Heatmap 呈現比較結果；圖 46 為肝臟依不同時間段之比較，圖 47 則透過 Heatmap 的方式呈現比較結果。

以放置 1 個月的肺臟組織與新鮮肺臟組織作為比較，可以辨認出下列 VOC：Acetic acid、2-Butanone、Propanoic acid, 2-methyl-, methyl ester、2-Pentanone、Butanoic acid, 3-methyl-、Pentanoic acid、Disulfide, dimethyl、Butanoic acid, 1-methylethyl ester、Butanethioic acid, S-methyl ester、Benzaldehyde、Butanoic acid, 3-methyl-, 1-methylethyl ester、2-Heptanone、Anisole、Isobutyl isovalerate、Dimethyl trisulfide、2-Nonanone、Phenol、2-Undecanone、Hexadecane，由此可知腐敗過程中經由微生物作用後，會產生有機酸類、酮類、酯類及硫化物，亦即形成人體所感受到的腐敗的氣味來源。

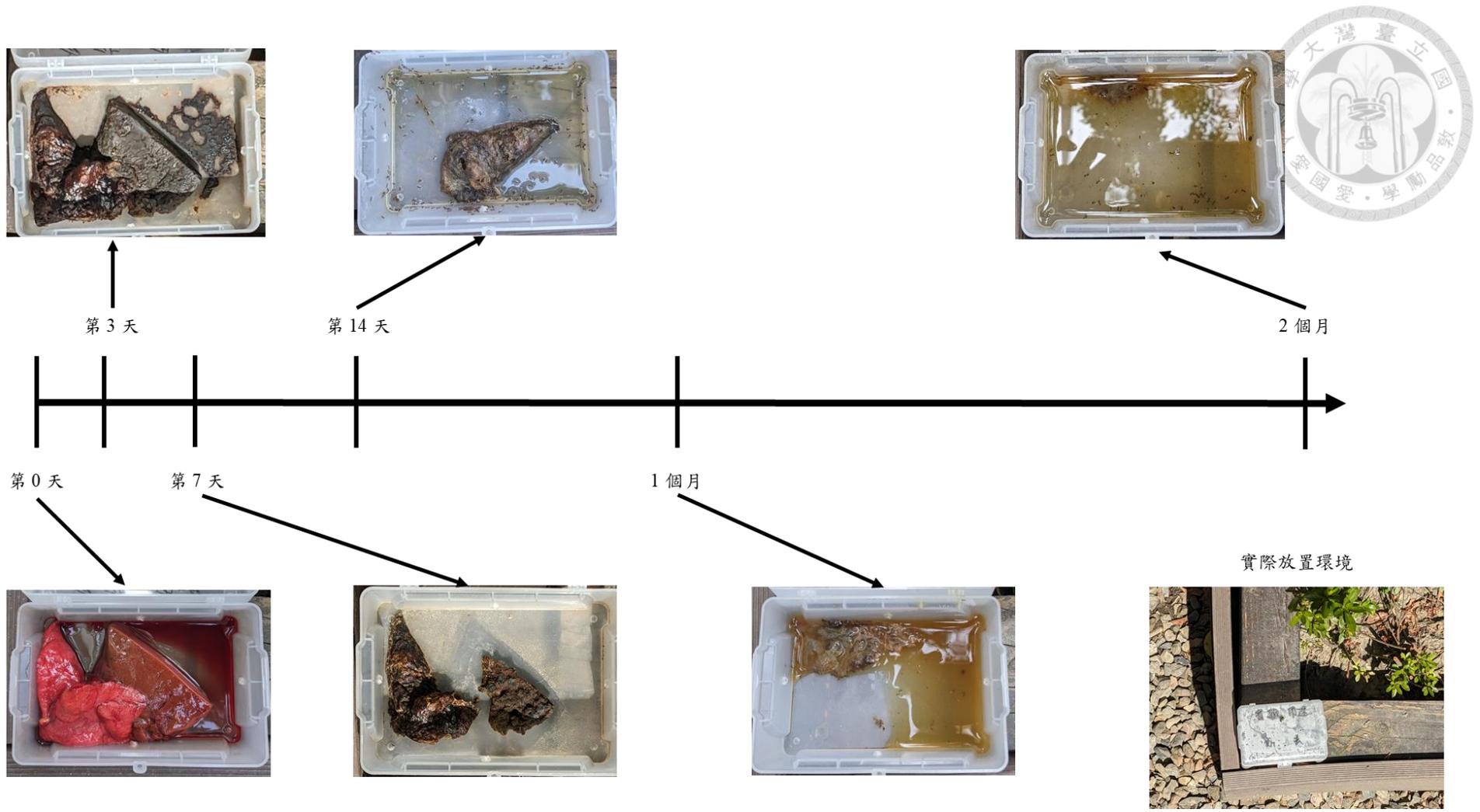


圖 38 實際檢體放置環境與時序圖，到第 2 個月時已無殘餘組織。

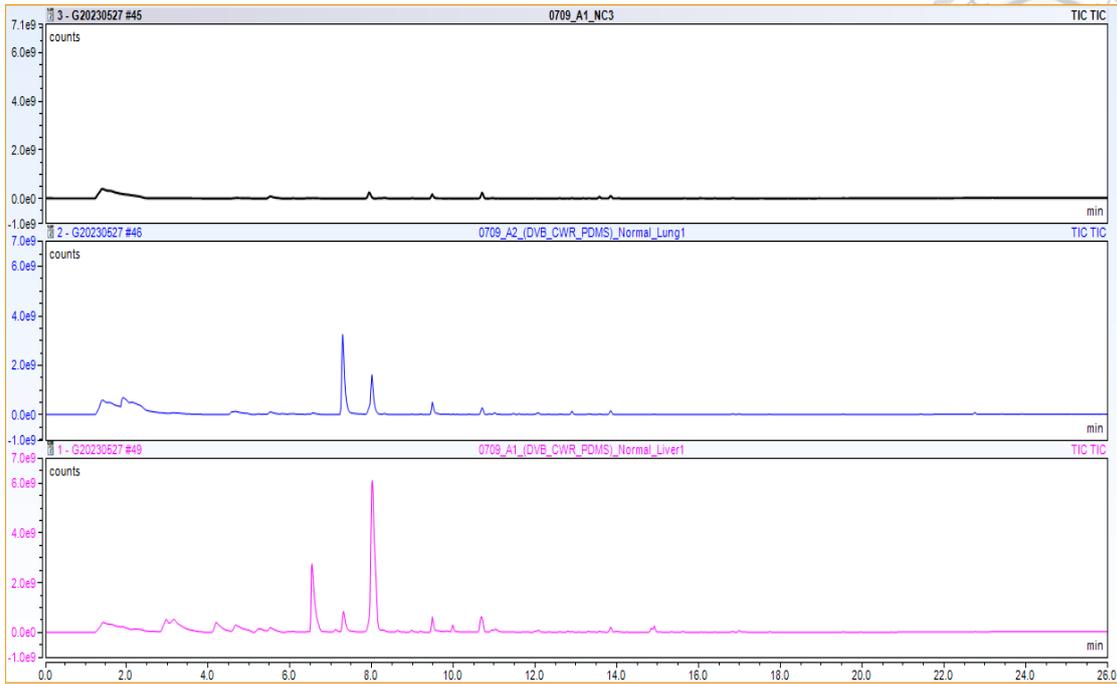


圖 39 第 0 天檢體之氣相層析質譜層析圖比較 (上圖為對照組，中間為肺臟，下圖為肝臟)。

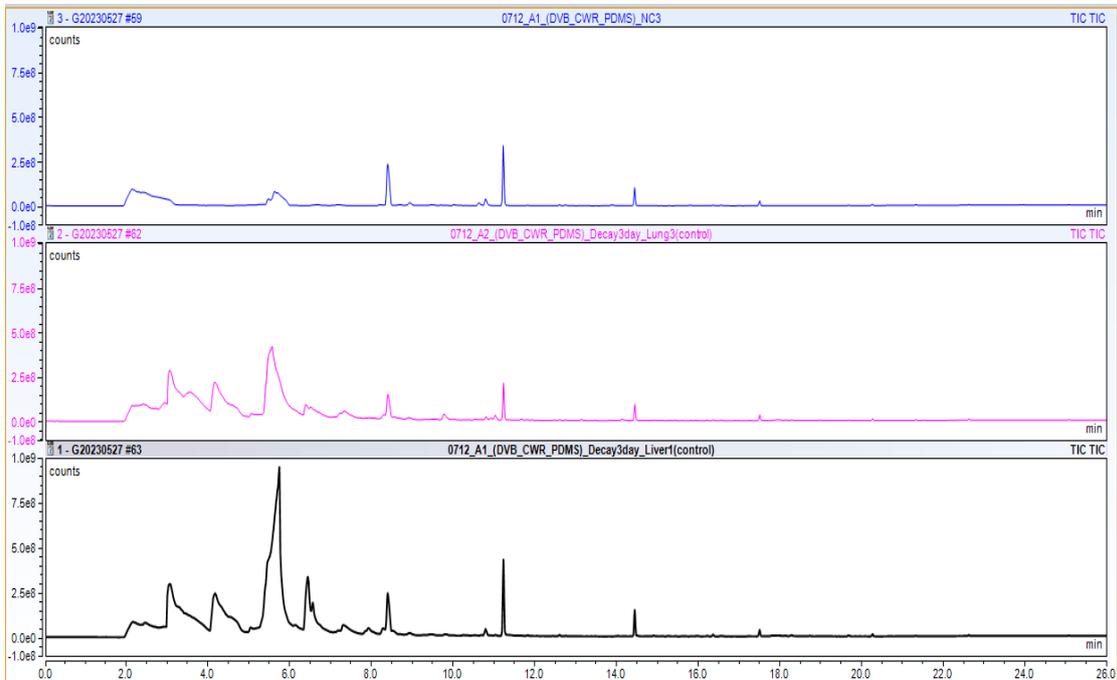


圖 40 第 3 天檢體之氣相層析質譜層析圖比較 (上圖為對照組，中間為肺臟，下圖為肝臟)。

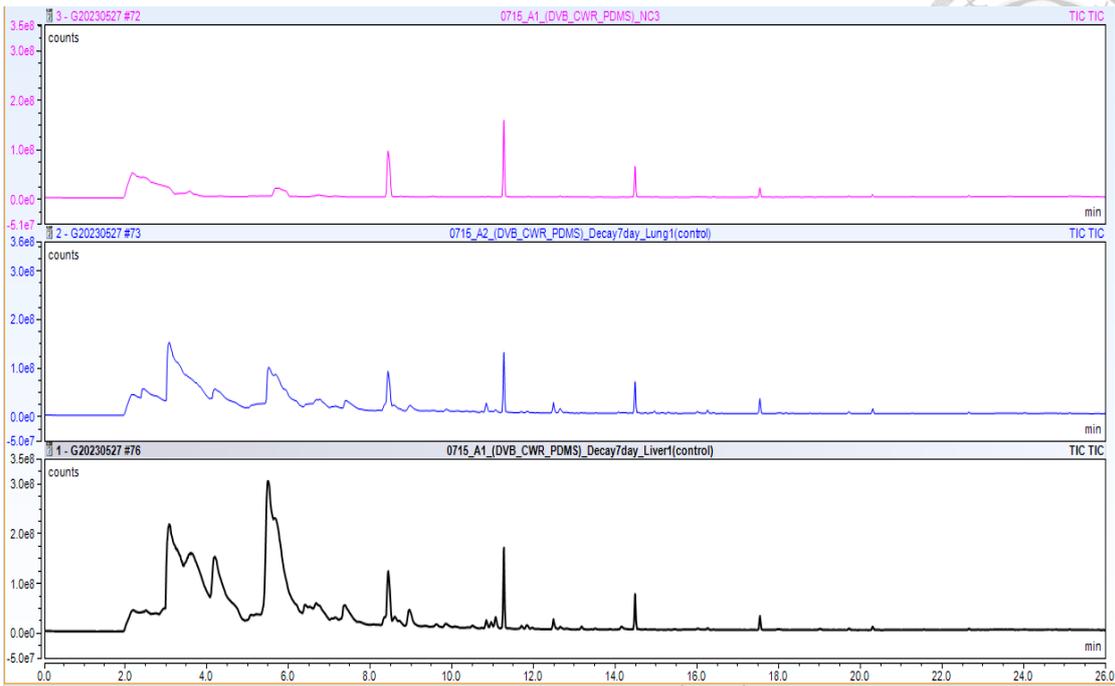


圖 41 第 7 天檢體之氣相層析質譜層析圖比較 (上圖為對照組，中間為肺臟，下圖為肝臟)。

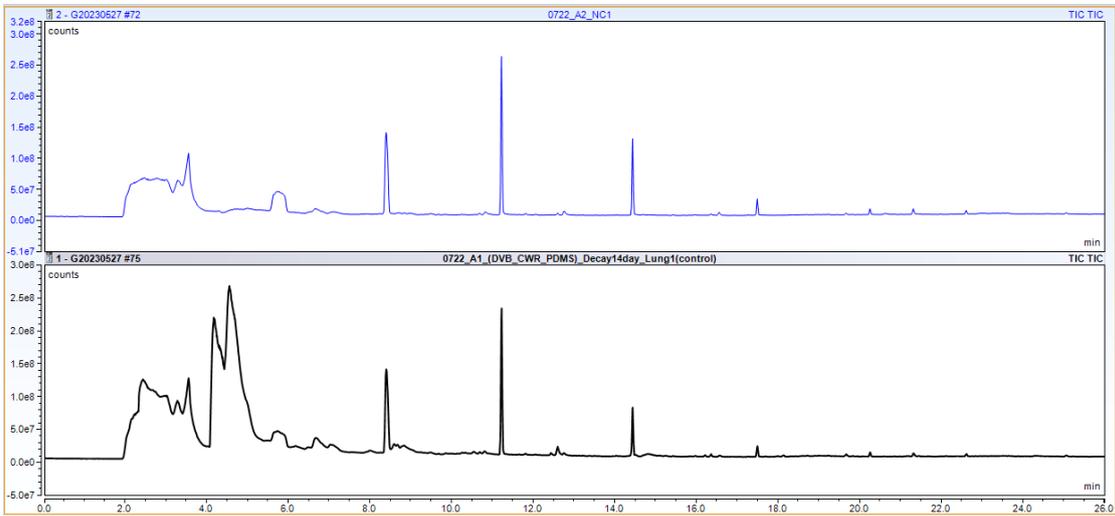


圖 42 第 14 天檢體之氣相層析質譜層析圖比較 (上圖為對照組，下圖為肺臟)

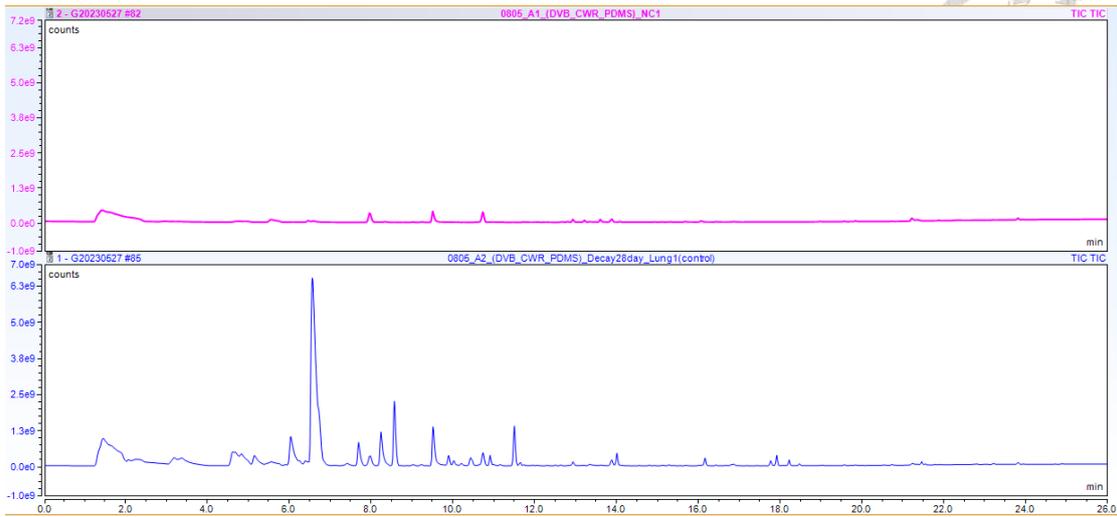


圖 43 第 28 天檢體之氣相層析質譜層析圖比較 (上圖為對照組，下圖為肺臟)。

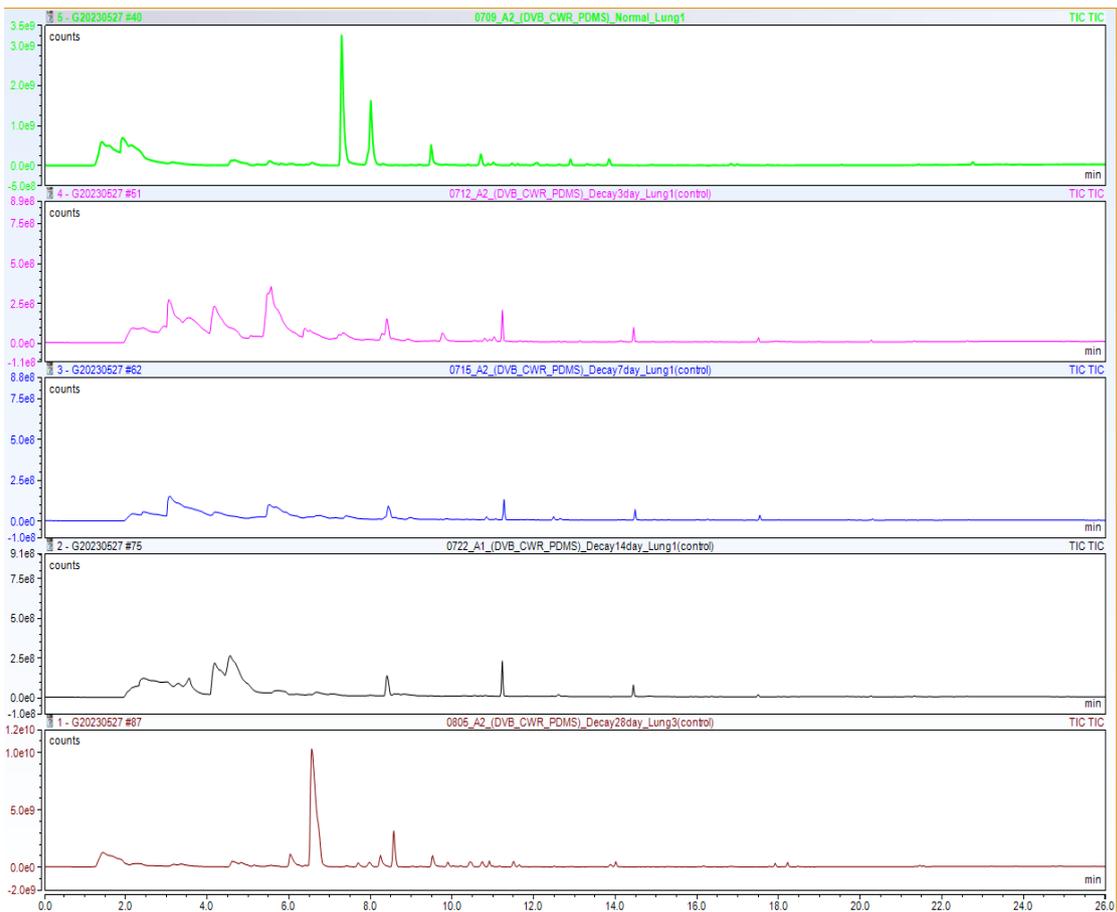


圖 44 肺臟在不同腐敗時間的變化比較，以氣相層析質譜層析圖呈現，自上到下依序為第 0、3、7、14 及 28 天)。

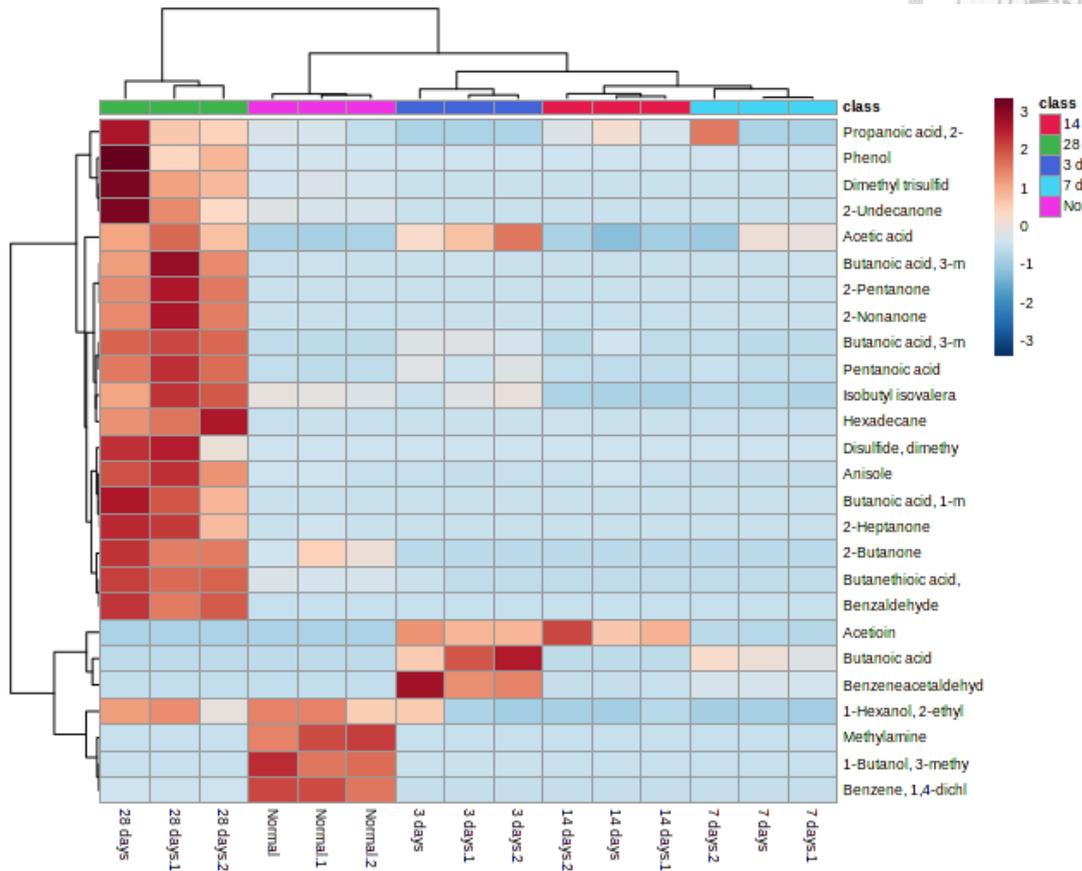
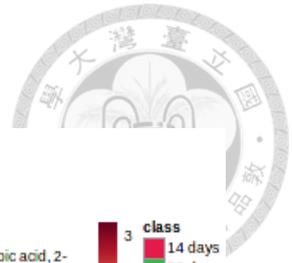


圖 45 肺臟在不同腐敗時間所含 VOC 比較，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為第 14 天，綠色為第 28 天，藍色為第 3 天，天青色為第 7 天，粉色為第 0 天，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)

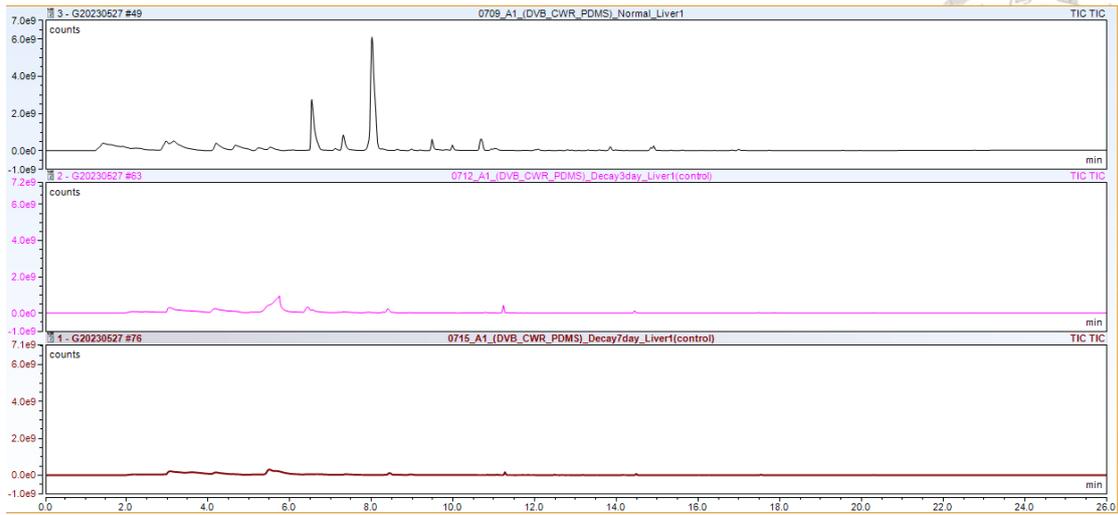


圖 46 肝臟在不同腐敗時間的變化比較，以氣相層析質譜層析圖呈現，自上到下依序為第 0、3 及 7 天)

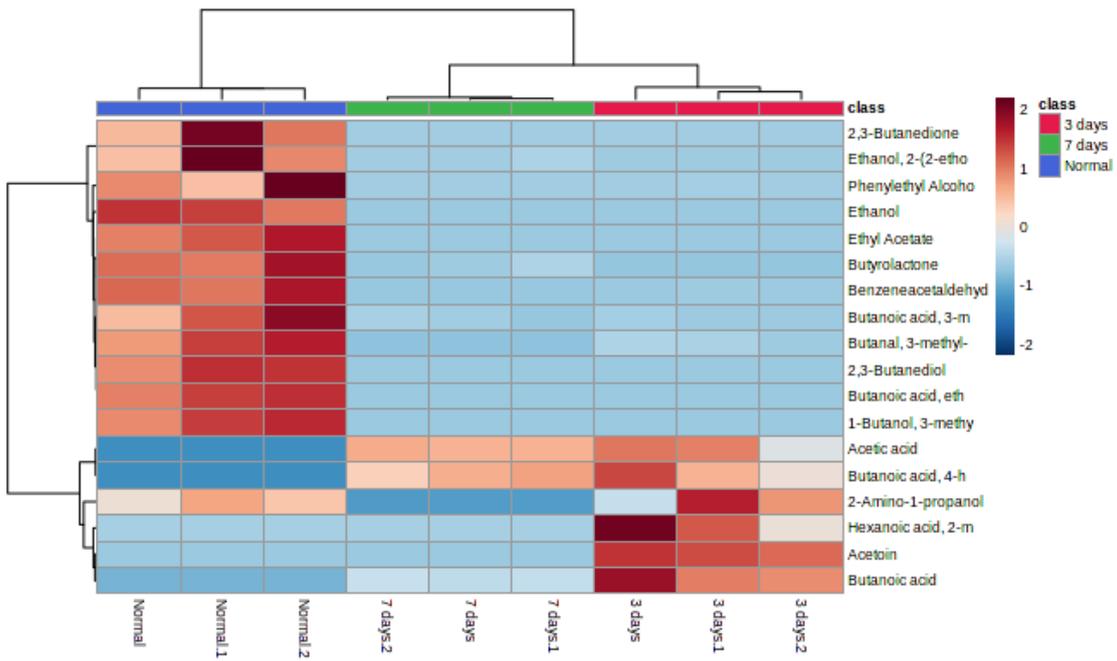


圖 47 肝臟在不同腐敗時間所含 VOC 比較，以 Heatmap 呈現 (紅色標籤為第 3 天，綠色為第 7 天，藍色為第 0 天，萃取出 VOC 濃度自高到低則以深咖啡色至深藍色為區分)。



第四章 討論

本研究前半段實驗在探討目前市面上常使用的固相微萃取法纖維頭 SPME Fiber，會因為其吸附材質的不同而造成萃取出 VOC 的效率不同，在對於檢測已知的 VOC 時，是可以選用較合適的吸附材質作為萃取設備，但對於未知的 VOC 時，則應考慮使用涵蓋範圍較廣的吸附材質，才能確保收集到較多的 VOC 進行分析，而纖維頭中以 DVB/CWR/PDWS 作為吸附材質的實驗結果發現可收集到的標準品成分較其他兩種吸附材質更多。而吸附材質之比較也常在文獻上被用來評估是否合適用於該研究設計，尤其是在非標靶分析研究上³⁹。

其次是比較近期改良後的萃取工具箭型頭固相微萃取法 SPME Arrow 與纖維頭的萃取效率，實驗證實在具有相同的吸附材質下，箭型頭的萃取效率比纖維頭來的更好，由於目前本實驗室所購入的氣相層析儀並無法直接將纖維頭或是箭型頭固相微萃取法的設備安裝在機器上後自動操作，因此本實驗需以半自動方式，以手動萃取後，再將萃取好的樣品注入氣相層析質譜儀進行分析，同時本研究也一併探討優化萃取時間長短、選用容器的保存狀況、氣相層析質譜儀的參數設定及建立箭型頭固相微萃取法萃取 VOC 分析方法，和其方法的確效。

在本研究中，我們使用了 Heatmap 圖表來呈現不同萃取時間下所萃取出化合物的濃度差異，而非使用直條圖進行比較。這樣做是為了突顯各化合物之間的濃度變化，以找出最適合的萃取時間。然而我們觀察到即使萃取時間增長，未必能夠獲得更高的化合物濃度。這可能與頂空瓶本身保存狀況有關，由於 VOC 本身就具有高蒸氣壓特性，表示在室溫下易於揮發，更容易從縫隙中逸散。因此長時間的萃取可能會導致與容器內化合物因逸散而濃度降低，進而減少萃取效果。

於方法確效上，VOC 的線性迴歸判定係數 (R^2) 介於 0.93-0.99，標準品 VOC 的定量下限 (LOD) 有些可以低至 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，但有些卻高至 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，分析原因可能與標準品為 VOC 有關，VOC 本身定義為有高蒸氣壓和低水溶性之化合物，高蒸氣壓即表示在室溫中容易揮發，此特性可有效加快實驗流程 (即萃取時並不需



要額外使用加溫設備)，但在針對標準品作濃度稀釋時則因容易揮發造成實驗上的誤差，或許在選用標準品時可以選用在室溫下相對穩定的液體，需略為加熱後才會蒸發成氣體再進行檢測，應該可以得到更好的確效。另一方面，本研究在偵測 VOC 時，為儘可能收集完整的 VOC 成分，故採用全掃描 (Full Scan) 模式進行實驗，不過從本實驗所得到的 VOC 數據與目前質譜儀中的 NIST 圖譜匹配結果可見相似度極高，以腐敗屍體組織中容易產生的含硫化合物 Dimethyl disulfide 和 Dimethyl trisulfide 為例 (如圖 48 及圖 49)。或許之後研究可在質譜儀的設定上改為選擇性離子檢測 (SIM)，則應該可以進一步提升檢出的靈敏度及干擾；而其殘留效應方面，藉由同次萃取中連續兩次的氣相層析質譜儀可發現第二次完全檢測不到標準品的成份，顯示固相微萃取法所使用的纖維頭或是箭型頭均無需考量其殘留效應。

本研究的第二部分是實際應用於各種層面，首先發現縱使使用萃取效果較好的箭型頭固相微萃取法，亦無法單純使用 20 毫升的頂空瓶收集人體呼出的氣體來檢測出微量的 VOC；即使是飲食後他人嗅覺可明顯感受到受測者有口氣上的差別，亦無法檢測出該受測者呼出氣體所含 VOC 與一般環境空氣的差異性，這也表示除了萃取設備的靈敏性外，如何收集呼出氣體也需要一定的設備才能被檢測出來，如文獻中提到的 Sorbent trap、Tedlar bag 或是 RTube™ 及其他較為侵入性方法。但直接將含有氣味較重的食物汁液加入頂空瓶內萃取時，箭型頭固相微萃取法可以明顯辨別出有別於空氣的 VOC，表示箭型頭固相微萃取法於偵測仍具有一定的靈敏度，但對於偵測人體呼出氣體中含量極低的 VOC，則需要進一步的前處理才可能檢出。

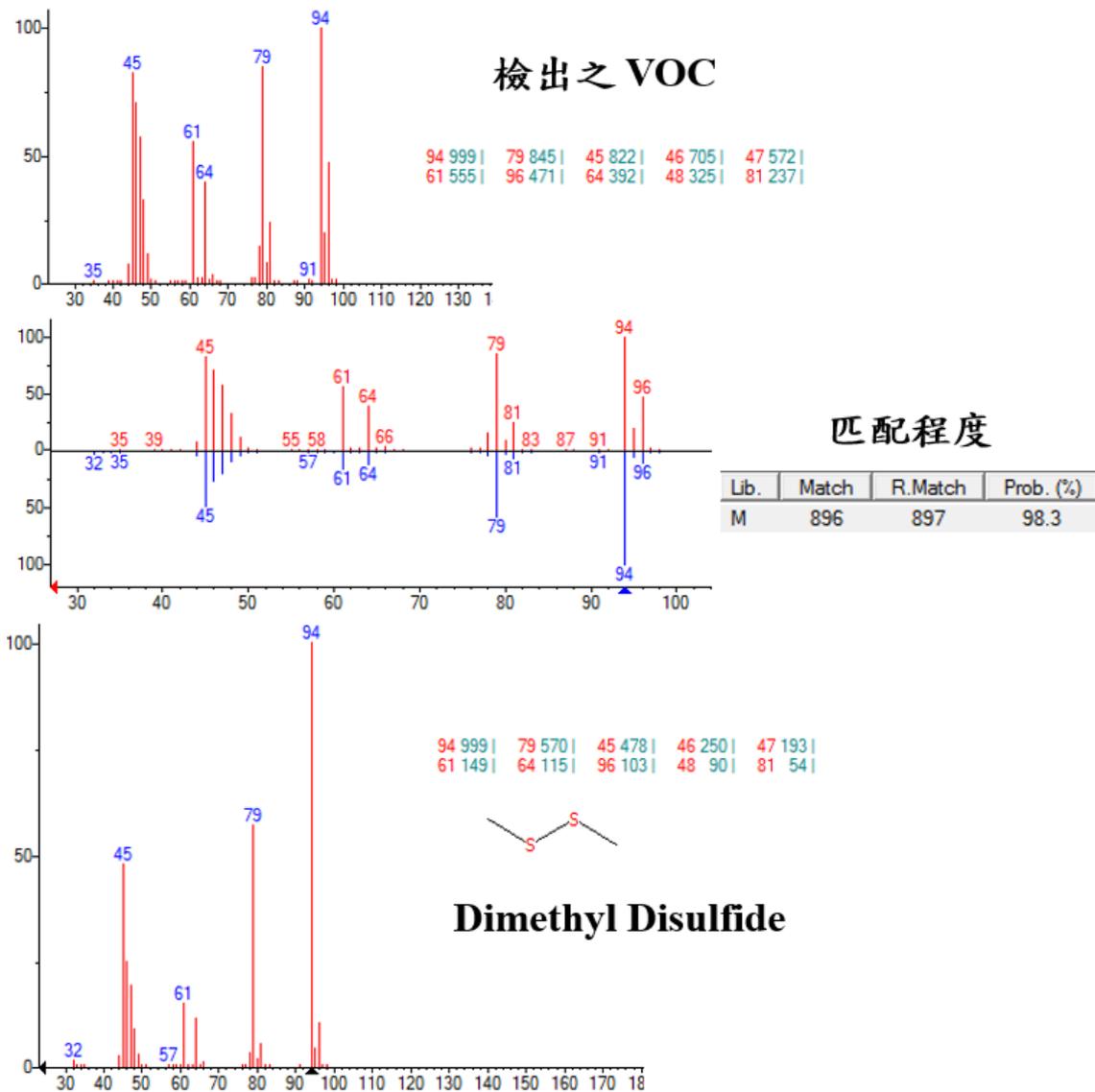


圖 48 檢出 VOC 與 NIST 圖譜中 Dimethyl Disulfide 的匹配程度及離子片段。

其次應用在法醫學上，針對腐敗屍體所產生的氣味，本研究取得幾個不同環境下的腐敗屍體進行氣味進行分析比較，甚至是在相對完整的遺體中，採取不同體腔內的器官所產生的 VOC 比較其異同。屍體腐敗的分解過程，除自身體內的菌種外，尚有外在的微生物及昆蟲共同作用所致，不同環境中所含的微生物及昆蟲亦有所不同，而本研究所建立的分析方法可分辨出不同陳屍處所產生 VOC 的差異性，令人意外的即使在相同屍體上，不同器官所產生的 VOC 亦不盡相同，即使同樣

位於前腹腔的肝臟及小腸組織，其檢測出的 VOC 可能不盡相同，此由圖 21-2 透過 Heatmap 呈現家中腐屍的肝臟與小腸組織 VOC 並不屬於同一區塊，顯示除了環境微生物的作用外，器官本身的變化也是影響原因之一，一併混合後而形成該屍體所呈現的腐敗氣味。另外，本研究亦比較了不同水域的水浮屍，其所含 VOC 的濃度不盡相同，這可能與屍體被發現時的腐敗程度有關，至於不同水域的部分，並沒有發現不同的 VOC 成分。

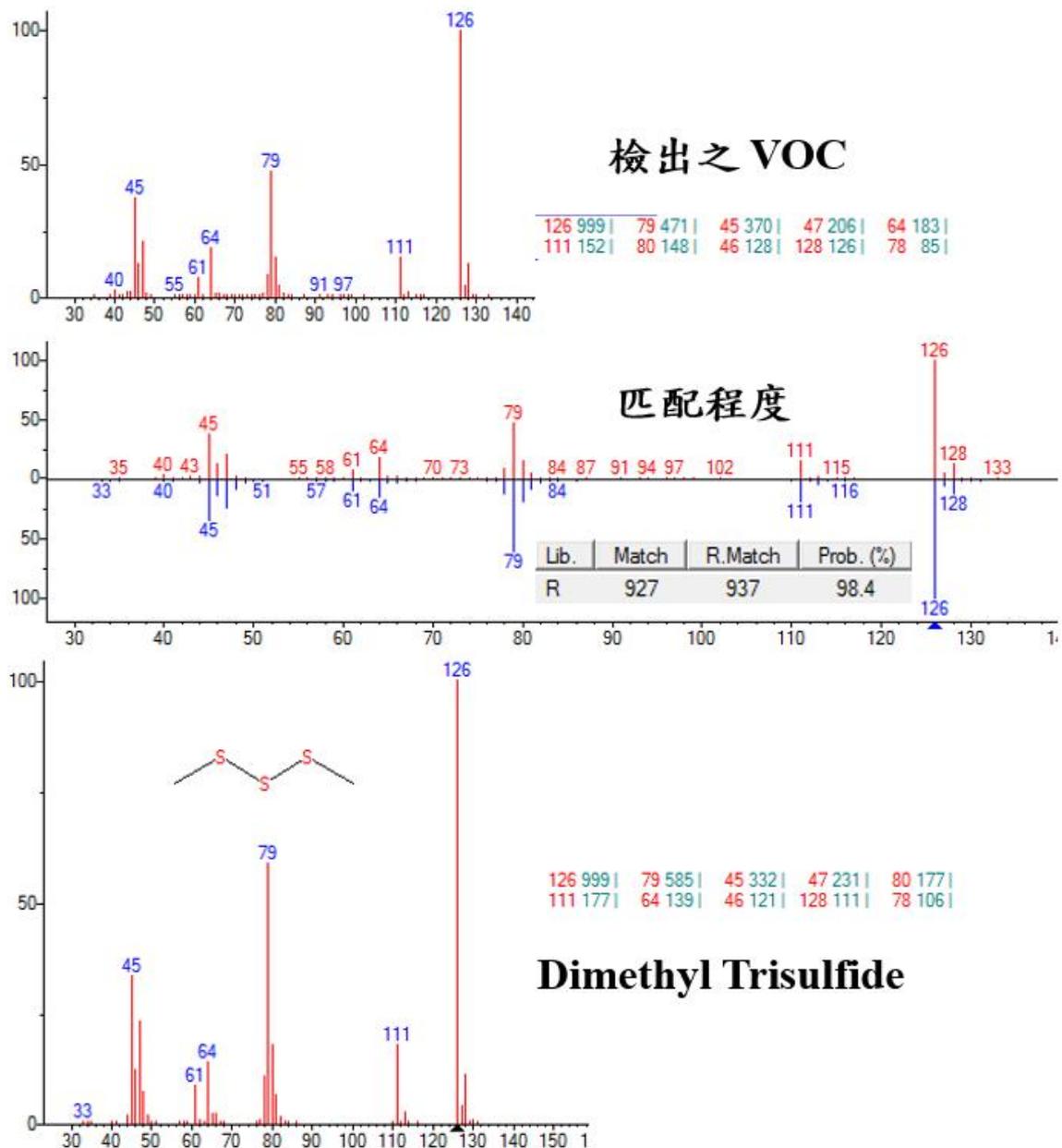


圖 49 檢出 VOC 與 NIST 圖譜中 Dimethyl Trisulfide 的匹配程度及離子片段。



另一個法醫學在腐敗屍體上最想解決的問題是死後時間間隔 (PMI)，這方面對於釐清案情的發展具有一定的重要性，然而目前除了法醫昆蟲學可以藉由不同的腐敗時間段會聚集不同的昆蟲相、蛆蟲的特性和培養計算有效積溫後可以推估可能的死亡時間外，並沒有更有效的方法來進一步縮小死後時間間隔的推斷。由於大部分能取得的腐敗屍體都無法直接獲得其 PMI。倫理上也不可能針對已發現的屍體為了實驗而在發現後放任它腐敗，因此在法醫學對於死後時間間隔的相關研究大多是藉由其他哺乳類動物進行研究，包含細胞學、蛋白質體學、體液內物質變化或是組織所產生的 VOC 進行分析^{37, 40}。然而這些以哺乳類動物作為實驗體，亦無法證實人體具有同樣的情況，因此本研究選用實際人體組織進行控制變因實驗，在同樣環境下以不同的放置時間後檢測其產生的 VOC。不可預期的是在實驗過程中，人體組織因生物作用而消失導致實驗無法順利進行，而在尚存的檢體時間段雖然有辨別出不同於新鮮組織的 VOC，與 Stadler 等人所整理出的文獻資料中所檢出的 VOC 相比³³，本研究發現幾個未列於表中的 VOC，如 Propanoic acid, 2-methyl-, methyl ester、Butanoic acid, 1-methylethyl ester、Butanethioic acid, S-methyl ester、Butanoic acid, 3-methyl-, 1-methylethyl ester、Anisole、Isobutyl isovalerate 及 Hexadecane，主要是以酯類化合物為主；與劉蓓蓓等人所分析大鼠肌肉產生的 VOC 相比，僅有 Disulfide, dimethyl、Butanoic acid、Benzaldehyde、Dimethyl trisulfide 及 Phenol 相同，其餘 VOC 均不同。然而從圖 23-8 及圖 23-10 兩組織以 Heatmap 呈現結果來看，並沒有發現任何一個所辨別出的 VOC 與死後時間的差異而有時序上的增加或減少的趨勢，由於本研究僅取得少數實際案件檢體，無法再進一步檢測可能有潛在的 VOC 變化以提供死後時間間隔的研究。

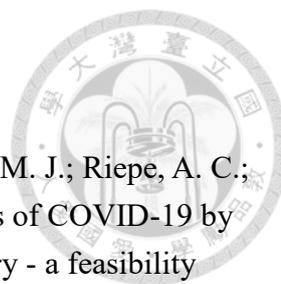


第五章 結論

本研究建立箭型頭固相微萃取法 (SPME Arrow) 的分析方法，並實際應用於現實生活的實際個案，進而探討法醫學上關於腐敗氣味 VOC 的差異性。以目前氣相層析質譜儀的靈敏性，若能有足夠的組織檢體及可控制的變因下，期待可以找出 VOC 在不同腐敗時間段的變化，用以推測可能的死後時間間隔；此外或許可以藉由提高萃取效率，將此技術應用於屍體體腔內氣體的偵測，對於死後電腦斷層中發現血管或心臟內氣體的累積，在區別屬於死後腐敗所產生抑或是空氣栓塞所造成的死亡也許佔有一席之地。

第六章 限制

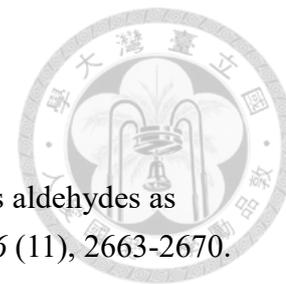
關於收集人體呼出的氣體仍需進一步優化，以不同的收集容器抑或是改善收集方法；由於本實驗所取得腐敗屍體之檢體為實際案例，故許多因素均為不可控制變因，尤其是屍體案件的數量、遺體確切的死亡時間或遺體本身的狀況，僅能在可採集的組織下進行實驗項目，因此在分析上不可避免會產生誤差。而組織在死後時間間隔的比較，由於數量少、無法模擬各種狀況的死亡環境，更無法維持該組織屬於體內的不同體腔的狀況，僅先提供可能的實驗設計方向。



第七章 參考文獻

- (1) Ruszkiewicz, D. M.; Sanders, D.; O'Brien, R.; Hempel, F.; Reed, M. J.; Riepe, A. C.; Bailie, K.; Brodrick, E.; Darnley, K.; Ellerkmann, R.; et al. Diagnosis of COVID-19 by analysis of breath with gas chromatography-ion mobility spectrometry - a feasibility study. *EClinicalMedicine* **2020**, 29-30, 100609-100609. DOI: 10.1016/j.eclinm.2020.100609.
- (2) Buszewski, B.; Ulanowska, A.; Kowalkowski, T.; Cieśliński, K. Investigation of lung cancer biomarkers by hyphenated separation techniques and chemometrics. *Clin Chem Lab Med* **2011**, 50 (3), 573-581. DOI: 10.1515/cclm.2011.769 From NLM.
- (3) Ligor, T.; Szeliga, J.; Jackowski, M.; Buszewski, B. Preliminary study of volatile organic compounds from breath and stomach tissue by means of solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of breath research* **2007**, 1 (1), 016001-016001. DOI: 10.1088/1752-7155/1/1/016001.
- (4) Van den Velde, S.; Nevens, F.; Van hee, P.; van Steenberghe, D.; Quiryne, M. GC–MS analysis of breath odor compounds in liver patients. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences* **2008**, 875 (2), 344-348. DOI: 10.1016/j.jchromb.2008.08.031.
- (5) Phillips, M.; Basa-Dalay, V.; Bothamley, G.; Cataneo, R. N.; Lam, P. K.; Natividad, M. P. R.; Schmitt, P.; Wai, J. Breath biomarkers of active pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)* **2010**, 90 (2), 145-151. DOI: 10.1016/j.tube.2010.01.003.
- (6) Cristescu, S. M.; Gietema, H. A.; Blanchet, L.; Kruitwagen, C. L. J. J.; Munnik, P.; van Klaveren, R. J.; Lammers, J. W. J.; Buydens, L.; Harren, F. J. M.; Zanen, P. Screening for emphysema via exhaled volatile organic compounds. *Journal of breath research* **2011**, 5 (4), 046009-046009. DOI: 10.1088/1752-7155/5/4/046009.
- (7) Song, G.; Qin, T.; Liu, H.; Xu, G.-B.; Pan, Y.-Y.; Xiong, F.-X.; Gu, K.-S.; Sun, G.-P.; Chen, Z.-D. Quantitative breath analysis of volatile organic compounds of lung cancer patients. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* **2010**, 67 (2), 227-231. DOI: 10.1016/j.lungcan.2009.03.029.
- (8) Kischkel, S.; Miekisch, W.; Sawacki, A.; Straker, E. M.; Trefz, P.; Amann, A.; Schubert, J. K. Breath biomarkers for lung cancer detection and assessment of smoking related effects — confounding variables, influence of normalization and statistical

algorithms. *Clinica chimica acta* **2010**, *411* (21), 1637-1644. DOI: 10.1016/j.cca.2010.06.005.



(9) Fuchs, P.; Loeseke, C.; Schubert, J. K.; Miekisch, W. Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer. *International journal of cancer* **2010**, *126* (11), 2663-2670. DOI: 10.1002/ijc.24970.

(10) Cazzola, M.; Segreti, A.; Capuano, R.; Bergamini, A.; Martinelli, E.; Calzetta, L.; Rogliani, P.; Ciaprin, C.; Ora, J.; Paolesse, R.; et al. Analysis of exhaled breath fingerprints and volatile organic compounds in COPD. *COPD research and practice* **2015**, *1* (1). DOI: 10.1186/s40749-015-0010-1.

(11) Shestivska, V.; Nemeč, A.; Dřevínek, P.; Sovová, K.; Dryahina, K.; Španěl, P. Quantification of methyl thiocyanate in the headspace of *Pseudomonas aeruginosa* cultures and in the breath of cystic fibrosis patients by selected ion flow tube mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry* **2011**, *25* (17), 2459-2467. DOI: 10.1002/rcm.5146.

(12) Enderby, B.; Smith, D.; Carroll, W.; Lenney, W. Hydrogen cyanide as a biomarker for *Pseudomonas aeruginosa* in the breath of children with cystic fibrosis. *Pediatric pulmonology* **2009**, *44* (2), 142-147. DOI: 10.1002/ppul.20963.

(13) Gilchrist, F. J.; Razavi, C.; Webb, A. K.; Jones, A. M.; Španěl, P.; Smith, D.; Lenney, W. An investigation of suitable bag materials for the collection and storage of breath samples containing hydrogen cyanide. *Journal of breath research* **2012**, *6* (3), 036004-036004. DOI: 10.1088/1752-7155/6/3/036004.

(14) Zhang, Y.; Guo, L.; Qiu, Z.; Lv, Y.; Chen, G.; Li, E. Early diagnosis of breast cancer from exhaled breath by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis: A prospective cohort study. *Journal of clinical laboratory analysis* **2020**, *34* (12), e23526-n/a. DOI: 10.1002/jcla.23526.

(15) Raninen, K.; Nenonen, R.; Järvelä-Reijonen, E.; Poutanen, K.; Mykkänen, H.; Raatikainen, O. Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography–Mass Spectrometry Analysis of Exhaled Breath Compounds after Whole Grain Diets. *Molecules (Basel, Switzerland)* **2021**, *26* (9), 2667. DOI: 10.3390/molecules26092667.

(16) Phillips, M.; Cataneo, R. N.; Cummin, A. R. C.; Gagliardi, A. J.; Gleeson, K.; Greenberg, J.; Maxfield, R. A.; Rom, W. N. Detection of Lung Cancer With Volatile Markers in the Breath. *Chest* **2003**, *123* (6), 2115-2123. DOI: 10.1378/chest.123.6.2115.

(17) Phillips, M.; Greenberg, J.; Cataneo, R. N. Effect of age on the profile of alkanes in normal human breath. *Free radical research* **2000**, *33* (1), 57-63. DOI: 10.1080/10715760000300611.

(18) Phillips, M.; Boehmer, J. P.; Cataneo, R. N.; Cheema, T.; Eisen, H. J.; Fallon, J. T.; Fisher, P. E.; Gass, A.; Greenberg, J.; Kobashigawa, J.; et al. Heart allograft rejection: detection with breath alkanes in low levels (the HARDBALL study). *The Journal of heart and lung transplantation* **2004**, *23* (6), 701-708. DOI: 10.1016/j.healun.2003.07.017.

(19) Phillips, M.; Cataneo, R. N.; Cheema, T.; Greenberg, J. Increased breath biomarkers of oxidative stress in diabetes mellitus. *Clinica chimica acta* **2004**, *344* (1), 189-194. DOI: 10.1016/j.cccn.2004.02.025.

(20) Phillips, M. Method for the Collection and Assay of Volatile Organic Compounds in Breath. *Analytical biochemistry* **1997**, *247* (2), 272-278. DOI: 10.1006/abio.1997.2069.

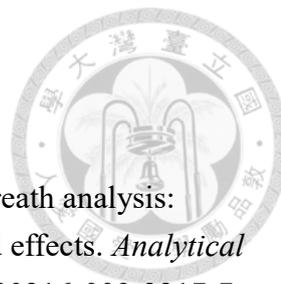
(21) Phillips, M.; Cataneo, R. N.; Ditkoff, B. A.; Fisher, P.; Greenberg, J.; Gunawardena, R.; Stephan Kwon, C.; Tietje, O.; Wong, C. Prediction of breast cancer using volatile biomarkers in the breath. *Breast cancer research and treatment* **2006**, *99* (1), 19-21. DOI: 10.1007/s10549-006-9176-1.

(22) Phillips, M.; Herrera, J.; Krishnan, S.; Zain, M.; Greenberg, J.; Cataneo, R. N. Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* **1999**, *729* (1-2), 75-88. DOI: 10.1016/S0378-4347(99)00127-9
From NLM Medline.

(23) Phillips, M.; Cataneo, R. N.; Condos, R.; Ring Erickson, G. A.; Greenberg, J.; La Bombardi, V.; Munawar, M. I.; Tietje, O. Volatile biomarkers of pulmonary tuberculosis in the breath. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)* **2007**, *87* (1), 44-52. DOI: 10.1016/j.tube.2006.03.004.

(24) Phillips, M.; Gleeson, K.; Hughes, J. M. B.; Greenberg, J.; Cataneo, R. N.; Baker, L.; McVay, W. P. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study. *The Lancet (British edition)* **1999**, *353* (9168), 1930-1933. DOI: 10.1016/S0140-6736(98)07552-7.

(25) Statheropoulos, M.; Agapiou, A.; Georgiadou, A. Analysis of expired air of fasting male monks at Mount Athos. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in*



the biomedical and life sciences **2006**, 832 (2), 274-279. DOI: 10.1016/j.jchromb.2006.01.017.

(26) Martin, A. N.; Farquar, G. R.; Jones, A. D.; Frank, M. Human breath analysis: methods for sample collection and reduction of localized background effects. *Analytical and bioanalytical chemistry* **2010**, 396 (2), 739-750. DOI: 10.1007/s00216-009-3217-7.

(27) Zamuruyev, K. O.; Aksenov, A. A.; Pasamontes, A.; Brown, J. F.; Pettit, D. R.; Foutouhi, S.; Weimer, B. C.; Schivo, M.; Kenyon, N. J.; Delplanque, J.-P.; et al. Human breath metabolomics using an optimized non-invasive exhaled breath condensate sampler. *Journal of breath research* **2016**, 11 (1), 016001-016001. DOI: 10.1088/1752-7163/11/1/016001.

(28) Hüttmann, E.-M.; Greulich, T.; Hattesoehl, A.; Schmid, S.; Noeske, S.; Herr, C.; John, G.; Jörres, R. A.; Müller, B.; Vogelmeier, C.; et al. Comparison of two devices and two breathing patterns for exhaled breath condensate sampling. *PloS one* **2011**, 6 (11), e27467-e27467. DOI: 10.1371/journal.pone.0027467.

(29) Choueiry, F.; Zhu, J. Secondary electrospray ionization-high resolution mass spectrometry (SESI-HRMS) fingerprinting enabled treatment monitoring of pulmonary carcinoma cells in real time. *Analytica chimica acta* **2022**, 1189, 339230-339230. DOI: 10.1016/j.aca.2021.339230.

(30) Eckert, K.; Carter, D.; Perrault, K. Sampling Dynamics for Volatile Organic Compounds Using Headspace Solid-Phase Microextraction Arrow for Microbiological Samples. *Separations* **2018**, 5 (3), 45. DOI: 10.3390/separations5030045.

(31) Statheropoulos, M.; Spiliopoulou, C.; Agapiou, A. A study of volatile organic compounds evolved from the decaying human body. *Forensic science international* **2005**, 153 (2), 147-155. DOI: 10.1016/j.forsciint.2004.08.015.

(32) Cernosek, T.; Eckert, K. E.; Carter, D. O.; Perrault, K. A. Volatile Organic Compound Profiling from Postmortem Microbes using Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of forensic sciences* **2020**, 65 (1), 134-143. DOI: 10.1111/1556-4029.14173.

(33) Stadler, S.; Focant, J.-F.; Forbes, S. L. Forensic Analysis of Volatile Organic Compounds from Decomposed Remains in a Soil Environment. Soil Forensics, Springer International Publishing, **2016**; pp 297-316.

(34) Gherghel, S.; Morgan, R. M.; Arrebola-Liébanas, J.; Romero-González, R.;

Blackman, C. S.; Garrido-Frenich, A.; Parkin, I. P. Development of a HS-SPME/GC–MS method for the analysis of volatile organic compounds from fabrics for forensic reconstruction applications. *Forensic science international* **2018**, *290*, 207-218. DOI: 10.1016/j.forsciint.2018.07.015.

(35) Brown, J. S.; Prada, P. A.; Curran, A. M.; Furton, K. G. Applicability of emanating volatile organic compounds from various forensic specimens for individual differentiation. *Forensic science international* **2013**, *226* (1), 173-182. DOI: 10.1016/j.forsciint.2013.01.008.

(36) Colón-Crespo, L. J.; Herrera-Hernández, D.; Holness, H.; Furton, K. G. Determination of VOC marker combinations for the classification of individuals by gender and race/ethnicity. *Forensic science international* **2017**, *270*, 193-199. DOI: 10.1016/j.forsciint.2016.09.011.

(37) 劉蓓蓓，夏志遠，馬錦琦，李朴，呂坪，周海梅. 大鼠肌肉揮發性有機化合物變化規律與死亡時間的關係. *法醫學雜誌* **2017**, *33* (2), 120-124. DOI: 10.3969/j.issn.1004-5619.2017.02.003.

(38) *Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry*; U.S. Dept. of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, **2018**.

(39) Yu, J.; Xu, X.-B.; Murtada, K.; Pawliszyn, J. Untargeted analysis of microbial metabolites and unsaturated fatty acids in salmon via hydrophilic-lipophilic balanced solid-phase microextraction arrow. *Food chemistry* **2022**, *380*, 132219-132219. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132219.

(40) 劉良，任亮. *死亡時間推斷法醫學研究*; 華中科技大學出版社, **2022**.