

樂盟季刊

Thermo Scientific iCAP Q & iCAP 7000 Series
於最新USP<232> <233>法規之
藥品分析上的應用

關鍵字

USP<232> <233>、醬油分析、同位素比值質譜儀、產學合作

本期內容

- Thermo Scientific iCAP Q & iCAP 7000 Series於最新USP<232> <233>法規之藥品分析上的應用
- Thermo Flash 2000元素分析儀在食品中的應用-醬油中的氮含量分析
- 高溫轉換元素分析儀串聯同位素比值質譜儀於液態樣品分析之應用
- Fast and Precise Isotope Analysis of Liquids on a DELTA V Isotope Ratio MS with High Temperature Conversion Elemental Analyzer

前言

本期主刊以未來要頒布USP <232> 與 <233>修正內容之應用層面進行多方位的分析，從2010年起美國藥典對傳統USP <231>實用性與準確性提出質疑，認為不純物之分析需以科學儀器為主要依據，因此提出廢除舊制換新制，預計於2018年正式執行新制法規並要求藥廠全面執行。然而在現階段，法規之訂立需符合儀器分析性能與藥物每日最大可攝取限量做合理的修正，因此USP 232-Ver 38的修正內容中，針對部分有害元素之容許限量做變動，以利於合乎不同儀器的應用範疇。本期內容主要以最新的法規限量在ICP-MS與ICP-OES的應用實例進行說明，並依照法規來設計實驗內容，並詳盡地列出計算模式與分析流程，讓客戶在分析藥物時能作為參考。

本期副刊以元素分析儀應用於醬油氮含量的分析，以及元素分析儀與同位素質譜儀(IRMS)串聯的應用介紹，以闡述元素分析儀在產業上可發揮之效應。醬油氮含量分析主要以元素分析儀與傳統的凱氏氮在分析上的優缺點進行比較，可以作為儀器選擇上的參考。同位素質譜儀使用於氮氧的分析，可作為食品分析上摻偽或產地鑑別上應用與介紹。

樂盟在三月中舉辦了ICP-MS與ICP-OES產品與應用說明會得到大家的讚許與回應，尤其在應用期刊方面，更是讓客戶期待，每一期我們都會

針對不同的產業，整理出最新的時事題目，也希望大家能給予指教，再次感謝大家對樂盟的愛戴，讓此活動圓滿落幕。最後，在三月份樂盟與靜宜大學應用化學系進行產學合作，讓學生們能夠跳脫書本，實際操作儀器以增進學生對儀器的了解與分析上的應用。

Reed的電影觀後感想

上週末，陪兒子及家人看了一部電影，“分歧者 Divergent”。

散場時與兒子併肩離開戲院，邊走邊聊天，心中我還不想聊劇情，因為我對主角的角色，能力設定與電影的譯名“分歧者”兜不攏，就順口問了兒子，知道這部影片的英文名字嗎？

Divergent，他說。不錯，我應著他的回答，實際有點折服。

接著說，我覺得電影名稱Divergent翻譯為“分歧者”不太對吧！

一個不畏懼艱難及死亡，體力無限的人解救母親，面對跟“自己”一樣強的對手，積極打敗投射出的自己。這樣的人，怎麼會是一個分歧者呢？雖然Divergent在字典直譯就是分歧者。

要不然咧！兒子以年輕人的用語回問我。

記不記得Divergent的數學定理。它是發散，不會收斂。

在看過此部電影主角的表現，如影片中，翠絲(Tris)能最後通過所有關卡的能力。完成後，這個封閉城市的Founder創建人，以影像現身說明，相信這過關的人存在應該是有可能解決問題及帶領大家一起得到和平生存的。

綜合以上，所以我個人淺見覺得這主角不能被歸類負面的意見分歧者。所以要翻譯的話我會建議能力發散的“無限者”。所有非可分類的人中，只有可以擁有五類（註）的所有能力，無私、和平、誠實、勇敢及智慧於一身100%者可以帶領世界走下去的機會。

自己內心有個聲音，各種生活，工作中的困難是有希望的“無限”者是活在我們心中的。

加油了！

註：Five factions: Abnegation for the selfless, Amity for the peaceful, Candor for the honest, Dauntless for the brave, and Erudite for the intelligent.

Thermo Scientific iCAP Q & iCAP 7000 Series於最新USP<232> <233>法規之藥品分析上的應用

應用工程師 張凱媛 廖翊亨

Email: carriechang@joytech.com.tw / willliao@joytech.com.tw



藥品中不純物的存在，會因為部分不純物具有毒性而影響人體健康，亦可能會影響到藥品的穩定性及保質期，因此對於化學藥、中成藥和原料藥等的各種藥品皆需透過嚴格的規範及控管。

製藥過程中可能產生不純物元素的來源途徑如下：

- 藥品生產過程中使用的金屬催化劑殘留
- 動植物原材料中間體和活性成分(API)
- 賦形劑(穩定劑、填充劑、黏著劑、增溶劑、風味劑、色素等)
- 藥品包裝及藥品之間不純物元素的互相殘留污染
- 藥品生產設備的污染

2013年美國藥典(United States Pharmacopeia, USP)發表的藥典通則USP<232>藥品中不純物元素的限量及USP<233>藥品中不

純物元素的測定方法，取代以往USP<231>法規，經過一段時間的實施，在2014年對於USP<232>中藥物不純物的限量做了些修正，並於2015年1月14日宣布其通則將在2018年1月1日正式執行。本期樂盟期刊中，我們將再次跟各位介紹USP<232> <233>分別在Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS 及 iCAP 7000 Series ICP-OES的應用實例。

USP<232>對藥品中不純物的限量，依據各元素之毒性程度及其毒理數據，同時考量不同的曝露程度制定出如<表一>中詳細的規範，依據3種不同的給藥途徑決定其曝露量的不同，並另對於LVP 每日劑量超過100 ml的大體積注射型藥物有更嚴謹的規範。

而USP<233>通則中推薦了能完全符合法規需求的ICP-MS，但因ICP-MS價格及技術門檻較高，故同時推薦了ICP-OES同為適用於此方法的分析儀器，但該選擇ICP-OES或是ICP-MS作為您的分析工具，以下提供關鍵數據做為選擇分析工具的參考依據：

依據PDE訂出檢出限量

依據USP<232> <233>法規的描述，J值的定義為：

$$J = \frac{\text{每日最大允許曝露限量}}{\text{(每日最大劑量} \times \text{樣品稀釋倍數)}}$$

例如：口服藥品的Cd每日最大允許量為5 µg/day，假設每日最大劑量為10克，樣品在前處理的過程中稀釋了500倍，則此樣品上機溶液的Cd的J為1 ng/mL(ppb)，而檢量線的範圍需包含空白溶液、0.5J及2J，其中0.5J的

表一、依據不同給藥途徑(口服、注射、吸入)所制定USP<232> 藥品不純物元素的每日最大允許曝露限量表

Element	Oral	Parenteral Daily	Inhalational Daily	LVP Component
	Daily Dose PDE (µg/day)	Dose PDE (µg/day)	Dose PDE (µg/day)	Limit (µg/g)
Cadmium	25 5.0	2.5	1.5 3.4	0.25
Lead	5.0	5.0	5.0	0.5
Arsenic	1.5 15	1.5 15	1.5 1.9	0.15 1.5
Mercury	15	1.5	1.5 1.2	0.15
Iridium	100	10	1.5	1.0
Osmium	100	10	1.5	1.0
Palladium	100	10	1.5 1.0	1.0
Platinum	100	10	1.5	1.0
Rhodium	100	10	1.5	1.0
Ruthenium	100	10	1.5	1.0
Chromium	-	-	25 2.9	-
Molybdenum	100 180	10 90	10 7.6	1.0 9.0
Nickel	500 600	50 60	1.5 6.0	5.0 6.0
Vanadium	100 120	10 12	30 1.2	1.0 1.2
Copper	1000 1300	100 130	100 13	10 13

Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS於藥品分析上的應用

濃度必須得到準確的回收率，也就意味著儀器的偵測極限需至少低於0.5J的10倍，若計算出此偵測極限大於ICP-OES的儀器偵測極限時，即可選擇ICP-OES為分析儀器，普遍來說，當藥物的每日劑量較小或稀釋倍數較小時，ICP-OES即可符合法規的需求。

依據藥品的種類或樣品量

有些藥品雖然其每日服用劑量小，但因其原料較昂貴或是量較稀有，只有少量的藥品可用來分析，因此需進行較大的稀釋倍率，或者客戶的藥品包含種類較多，有口服、注射、吸入不同劑型，或是原料藥、賦形劑等，所以需較低的儀器偵測極限才可達到需求，此時ICP-MS為較佳選擇。

Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS 及 iCAP 7000 Series ICP-OES 同為多元素分析儀器，可同時分析多種元素，且具有線性範圍廣、分析時間快速、準確性高等優點，符合 USP<232> 及 <233> 中所規定的藥物不純物的限量及分析程序。本篇將分2部分介紹使用 Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS 及 iCAP 7000 Series ICP-OES 來分析補鈣劑 (Calcium Acetate)，藉此驗證 USP <232> 及 <233> 中規範的限量與方法測試。



樣品種類與前處理

本實驗分析樣品為補鈣劑 (Calcium Acetate)，取 0.5 g 樣品於消化瓶中，加入 8 mL 36% HCl 及 2 mL H₂O 放置抽氣櫃中靜置 30 分鐘，再移入微波消化器中消化，待消化完全並冷卻後，定量至 50 mL，上機時再稀釋 50 倍進行分析。

樣品消化溶解前需加入 USP<232> 所制定的 15 種不純物元素的限量濃度 (0.5J、1J、及 1.5J)，作為 USP <233> 方法之確效。

實驗分析方法

實驗前須先參照 USP<232> 制定的 15 種元素 Cd、Pb、As、Hg、Ir、Os、Pd、Pt、Rh、Ru、Mo、Ni、V、Cu 的 PDE (因本次分析藥品為口服藥劑，Cr 不再此安全考量規範)，或是由客戶自行訂制更嚴苛的限量濃度，並依據樣品的每日最大劑量及消化稀釋過程，制定合適 J 值。例如：本實驗藥品為口服藥，Cd 的法規限量為 5 µg/day，又其每日最大劑量為 2g，樣品消化過程中的稀釋倍率為 5000 倍 (樣品 0.5g 消化後定量到 50 mL，再稀釋 50 倍上機)，則其 Cd 的 J 值為 0.5 ng/mL。依此計算 14 個不純物元素的 J 值後配置檢量線。本次樣品的 14 種元素的限量及檢量線濃度如表二，實驗時需加入 5 ng/mL Sc、Y、In、Tb、Bi 的內標準品，一起導入分析。

表二、14種不純物元素的限量濃度及檢量線濃度

Element	Oral Daily Dose PDE (µg/day)	Component Limits (µg/g)	STD1 0.5J (ng/mL)	STD2 1J (ng/mL)	STD3 1.5J (ng/mL)	STD4 2J (ng/mL)
Cd	5	2.5	0.25	0.5	0.75	1
Pb	5	2.5	0.25	0.5	0.75	1
As	15	7.5	0.75	1.5	2.25	3
Hg	15	7.5	0.75	1.5	2.25	3
Ir	100	50	5	10	15	20
Os	100	50	5	10	15	20
Pd	100	50	5	10	15	20
Pt	100	50	5	10	15	20
Rh	100	50	5	10	15	20
Ru	100	50	5	10	15	20
Mo	180	90	9	18	27	36
Ni	600	300	30	60	90	120
V	120	60	6	12	18	24
Cu	1300	650	65	130	195	260

分析儀器及條件

本實驗使用的儀器為Thermo Scientific iCAP Qc ICP-MS，可分析質量範圍從4到250 amu。儀器進樣系統採用標準配備的電子室冰箱，可控制霧化室的溫度，進樣系統的霧化室、霧化器及中心管也可因樣品基質的不同而選擇適當的材質與管徑大小，本實驗採用iCAP Qc所搭配的標準進樣系統進行分析。而樣品溶劑中因含有HCl，會造成同質量數的干擾，而Thermo iCAP Q具備(KED)動能區隔的模式，並於獨家專利設計的Q cell中，利用碰撞氣體單一氣體(氬氣)能有效地去除干擾，並且同時保有測定時的高靈敏度，本實驗僅用單一KED模式即可完成所有14個目標元素的分析。詳細的儀器進樣系統選擇及儀器參數設定如表三。

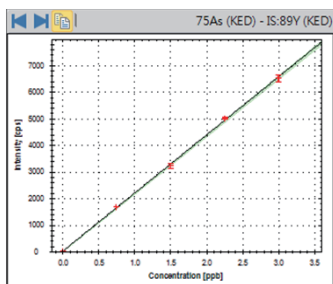
表三、儀器進樣系統及參數設定

Introduction Components	
Spray Chamber	Quartz cyclonic Spray Chamber
Injector	2.5 mm Quartz Injector
Sample Cone	Nickel (Ni)
Skimmer Cone	Nickel (Ni)
Nebulizer	Concentric Glass Nebulizer
Instrumental Parameters	
Operation Mode	KED
RF Power	1550W
Nebulizer Gas Flow (L/min)	1.04
CCT Gas Flow (He) (mL/min)	4.28
Spray Chamber Temperature (°C)	2.7

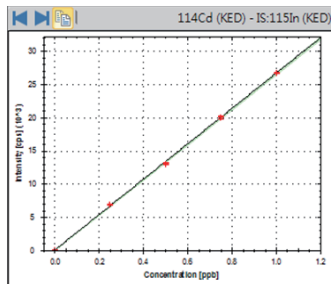
實驗數據及結果

1. 檢量線線性

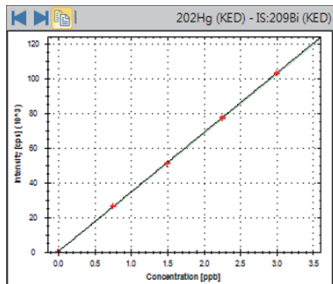
Thermo Scientific iCAP Qc ICP-MS 線性範圍廣，可達9個order以上之良好線性範圍，如圖一到四為本實驗四大指標元素的檢量線圖，其結果R²值皆大於0.999，有良好的線性。



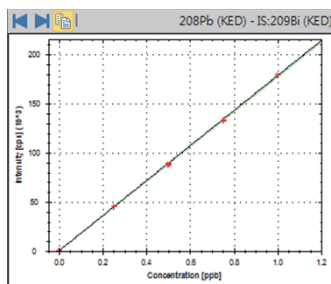
圖一、As Calibration (R²>0.999)



圖二、Cd Calibration (R²>0.999)



圖三、Hg Calibration (R²>0.999)



圖四、Pb Calibration (R²>0.999)

2. 偵測極限(LOD)及背景值(BEC)

偵測極限以空白溶液重複分析7次，計算其3倍之標準偏差，除以檢量線斜率，得知其有良好的偵測極限(Limit of Detection, LOD)，符合法規的要求。另外透過iCAP Qc的KED模式，能有效地去除鹽酸基質所產生的同質量干擾，可有較低的背景值(BEC)，詳細的數值如表四所示。

表四、14種目標元素其偵測極限(LOD)和背景值(BEC)

Elements	Unit	LOD	BEC
51V	ppb	0.009	0.067
58Ni	ppb	0.002	0.008
63Cu	ppb	0.005	0.019
75As	ppb	0.004	0.002
98Mo	ppb	0.001	0.002
101Ru	ppb	0.000	0.001
103Rh	ppb	0.000	0.001
108Pd	ppb	0.004	0.026
114Cd	ppb	0.000	0.000
188Os	ppb	0.005	0.012
193Ir	ppb	0.000	0.002
195Pt	ppb	0.001	0.001
202Hg	ppb	0.002	0.007
208Pb	ppb	0.000	0.002

3. 樣品實際濃度

樣品上機濃度經回乘5000倍後，本次實驗樣品的實際濃度均小於USP<232>所規定之限量濃度，如表五所示。

表五、樣品實際濃度

Elements	Unit	Average	Limit
51V	ppm	0.755	60
58Ni	ppm	0.125	300
63Cu	ppm	0.194	650
75As	ppm	0.062	7.5
98Mo	ppm	0.460	90
101Ru	ppm	0.002	50
103Rh	ppm	0.015	50
108Pd	ppm	0.088	50
114Cd	ppm	0.039	2.5
188Os	ppm	0.007	50
193Ir	ppm	0.030	50
195Pt	ppm	0.007	50
202Hg	ppm	0.010	7.5
208Pb	ppm	0.028	2.5

4. 儀器偏移測試(Drift)

在檢量線建立後及樣品分析完成後皆需查核2J的濃度，計算分析樣品前後儀器的偏移程度，其相對誤差值(RSD%)需小於20%，此次分析結果RSD皆小於5%，如表六所示。

表六、儀器偏移測試

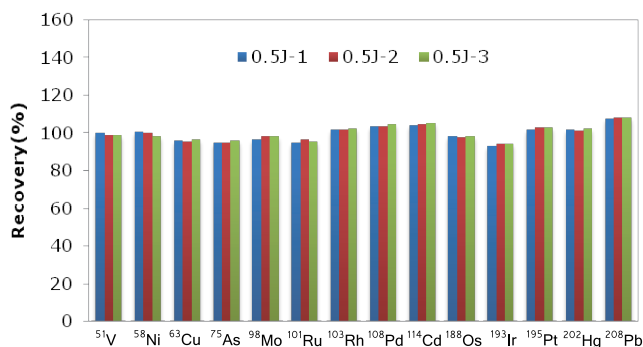
Element	Unit	2J(Before)	2J(After)	Drift(%)
51V	ppb	23.53	23.74	-0.89
58Ni	ppb	120.71	120.95	-0.20
63Cu	ppb	256.37	265.68	-3.63
75As	ppb	3.01	3.03	-0.61
98Mo	ppb	35.99	35.69	0.84
101Ru	ppb	19.87	19.52	1.77
103Rh	ppb	19.91	19.48	2.19
108Pd	ppb	19.84	20.28	-2.21
114Cd	ppb	1.01	0.98	2.72
188Os	ppb	19.92	19.51	2.04
193Ir	ppb	19.59	19.41	0.91
195Pt	ppb	19.73	19.81	-0.42
202Hg	ppb	3.01	2.95	2.06
208Pb	ppb	0.99	0.99	0.49

5. 準確度測試(Accuracy Test)

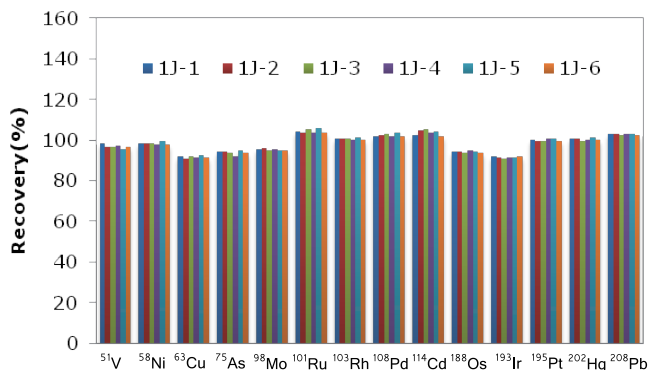
三個獨立樣品於樣品消化前分別加入0.5J和1.5J目標濃度，和六個獨立樣品添加1J目標濃度，計算其添加回收率需介於70%~150%，本次結果如圖一~三，添加回收率皆介於90%~110%，符合法規規範。

6. 重複性測試(Repeatability)

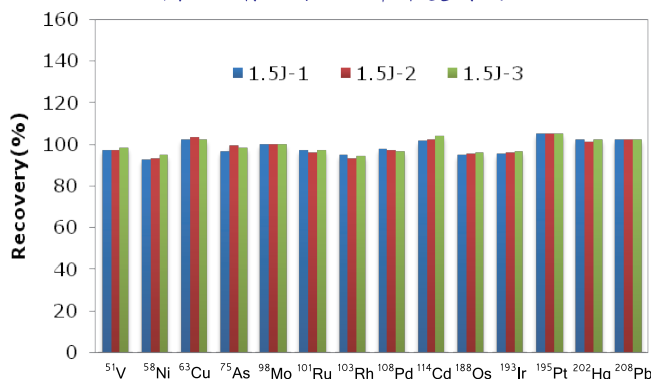
六個獨立的測試樣品，分別添加1J的目標濃度，其RSD(%)需小於20%，本次結果如表七，其結果顯示所有元素RSD均小於2%。



圖一、樣品添加0.5J準確度測試



圖二、樣品添加1J準確度測試



圖三、樣品添加1.5J準確度測試

表七、樣品添加1J 重複性測試 (ng/mL)

Element	Spike 1 J-1	Spike 1 J-2	Spike 1 J-3	Spike 1 J-4	Spike 1 J-5	Spike 1 J-6	Average	Stdev	RSD (%)	Recovery (%)
51V	11.9	11.7	11.7	11.8	11.6	11.7	11.8	0.11	0.89	96.5
58Ni	58.8	58.9	59.2	58.7	59.6	58.5	58.9	0.38	0.64	98.2
63Cu	119.3	118.3	119.6	118.7	120.0	118.4	119.1	0.67	0.56	91.6
75As	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.01	0.97	93.7
98Mo	17.3	17.4	17.1	17.2	17.2	17.2	17.2	0.09	0.54	95.2
101Ru	10.4	10.4	10.5	10.4	10.6	10.4	10.4	0.09	0.86	104.3
103Rh	10.0	10.0	10.1	10.0	10.1	10.0	10.0	0.05	0.46	100.3
108Pd	10.2	10.2	10.3	10.2	10.4	10.2	10.3	0.06	0.59	102.2
114Cd	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.01	1.20	103.4
188Os	9.5	9.4	9.4	9.5	9.4	9.4	9.4	0.05	0.53	94.2
193Ir	9.2	9.2	9.1	9.1	9.1	9.2	9.2	0.04	0.45	91.5
195Pt	10.0	9.9	9.9	10.0	10.1	9.9	10.0	0.06	0.61	99.9
202Hg	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0.01	0.56	100.4
208Pb	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.00	0.37	102.7

表八、樣品添加0.5J 中間精密密度測試 (ng/mL)

Element	Spike 0.5 J-1	Spike 0.5 J-2	Spike 0.5 J-3	Average	Stdev	RSD (%)	Recovery (%)
51V	6.1	6.1	6.1	6.1	0.04	0.66	98.5
58Ni	30.1	30.0	29.4	29.8	0.34	1.16	99.4
63Cu	62.3	61.8	62.5	62.2	0.35	0.56	95.7
75As	0.7	0.7	0.7	0.7	0.01	0.80	94.7
98Mo	8.8	8.9	8.9	8.9	0.08	0.95	97.6
101Ru	4.7	4.8	4.8	4.8	0.04	0.80	95.3
103Rh	5.1	5.1	5.1	5.1	0.02	0.48	101.7
108Pd	5.2	5.2	5.2	5.2	0.03	0.50	103.4
114Cd	0.3	0.3	0.3	0.3	0.00	0.35	103.9
188Os	4.9	4.9	4.9	4.9	0.01	0.29	97.7
193Ir	4.7	4.7	4.7	4.7	0.03	0.55	93.6
195Pt	5.1	5.1	5.1	5.1	0.04	0.70	102.4
202Hg	0.8	0.8	0.8	0.8	0.01	0.67	101.7
208Pb	0.3	0.3	0.3	0.3	0.00	0.38	107.8

表九、樣品添加1.5J 中間精密密度測試 (ng/mL)

Element	Spike 1.5 J-1	Spike 1.5 J-2	Spike 1.5 J-3	Average	Stdev	RSD (%)	Recovery (%)
51V	17.6	17.7	17.8	17.7	0.10	0.56	97.5
58Ni	83.4	84.0	85.2	84.2	0.89	1.05	93.5
63Cu	199.9	201.4	199.1	200.1	1.20	0.60	102.6
75As	2.2	2.2	2.2	2.2	0.03	1.30	98.0
98Mo	27.1	27.0	27.0	27.1	0.07	0.27	99.9
101Ru	14.6	14.4	14.6	14.5	0.12	0.81	96.7
103Rh	14.2	14.0	14.1	14.1	0.10	0.71	94.1
108Pd	14.6	14.6	14.5	14.6	0.09	0.60	97.1
114Cd	0.8	0.8	0.8	0.8	0.01	1.24	102.4
188Os	14.2	14.3	14.4	14.3	0.09	0.61	95.5
193Ir	14.3	14.4	14.5	14.4	0.06	0.43	96.0
195Pt	15.7	15.7	15.8	15.7	0.01	0.06	105.0
202Hg	2.3	2.3	2.3	2.3	0.01	0.62	102.0
208Pb	0.8	0.8	0.8	0.8	0.00	0.19	102.3

表十、重現性測試 (ng/mL)

Element	Actual (ng/mL)	Test1 Mean (ng/mL)	Test2 Mean (ng/mL)	Mean (ng/mL)	RSD(%) (n=12)
51V	12.0	11.76	11.81	11.76	0.77
58Ni	60.0	58.94	58.20	58.94	0.88
63Cu	130.0	119.06	130.70	119.06	4.88
75As	1.5	1.42	1.48	1.42	2.55
98Mo	18.0	17.23	17.93	17.23	2.14
101Ru	10.0	10.43	9.57	10.43	4.47
103Rh	10.0	10.04	9.34	10.04	3.80
108Pd	10.0	10.26	9.62	10.26	3.33
114Cd	0.5	0.53	0.48	0.53	4.51
188Os	10.0	9.43	9.49	9.43	0.67
193Ir	10.0	9.15	9.46	9.15	1.80
195Pt	10.0	9.99	10.39	9.99	2.05
202Hg	1.5	1.51	1.52	1.51	0.70
208Pb	0.5	0.52	0.51	0.52	0.86

7. 中間精密密度測試(Detectability)

三個獨立樣品於樣品消化前分別加入0.5J和1.5J的目標濃度，其RSD(%)需小於20%，本次結果如表八~九，三次分析的結果RSD皆小於2%，符合法規規範。

8. 重現性測試(Ruggedness)

將同一樣品分別在不同天、不同人或不同儀器的重複性實驗，其RSD需要小於25%。本次實驗Test1和Test2為不同分析人員及不同天測試相同的補鈣劑藥品，其結果顯示RSD均小於5%，如表十。

結論

利用Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS在藥品分析的應用上，用單一分析模式(KED)，即可有良好的去除干擾的效果，達到低偵測極限與背景值，並可達到9個order以上的寬線性範圍，分析樣品中的不純物濃度皆符合USP <232>的限量規範，且亦能符合USP <233>分析方法確效的儀器偏移度、準確度、中間精密密度、重複性與重現性測試，實驗結果均低於法規的規範，顯示出Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS在USP <232> <233>法規的應用中，具有良好的分析性能及絕佳的適用性。

Thermo Scientific iCAP 7000 Series於藥品分析上的應用



樣品前處理

取 0.5 g 樣品於消化瓶中加入 8 ml 36% HCl 及 2 ml H₂O，放置抽氣櫃靜置 30 min，再移入微波消化器中消化，待消化完全並冷卻後，以純水定量至 50 ml。

另秤取數個樣品於消化溶解前加入 USP <232>所制定的 15 種元素及限量濃度 (0.5、1、及 1.5 J)，以作為 USP <233> 方法之確效。

分析與方法

分析前必須依循 USP <232> 所制定的 15 種元素的 PDE 分別為: Cd、Pb、As、Hg、Ir、Os、Pd、Pt、Rh、Ru、Mo、Ni、V、Cu 等 (本次測試藥物為口服藥，規範不含 Cr)，或者由客戶自訂較為嚴謹的允許限量濃度，又 PDE 限量需考量檢液製備過程中的稀釋倍率進行調整，例如 Cd 的口服 (Oral) 限量為 5 (μg/day)，而此藥物攝取劑量為 2 (g/day)，且在檢液製備過程中的稀釋倍率為 100 倍 (0.5 g 樣品最終定量至 50 ml)，因此 Cd 的 "J" 值 $1J = \text{Daily Dose PDE} / (\text{每日最大劑量} * \text{樣品稀釋倍率}) = 25 \text{ (ng/mL)}$ 。參照以上敘述算出每一元素的 J 值後，配製檢量線溶液，此線性範圍必須包括空白溶液、0.5 J、1 J 和 2 J。

不純物元素限量參照最新修改之法規 (如前表一)，本次實驗之元素限量濃度及檢量線濃度如表 A。分析過程中加入 1 (μg/ml) Y 內標準品，以 Y 型管和樣品一起導入分析，作為基質修飾之用。

表 A、元素限量濃度及檢量線濃度

Element	Oral Daily Dose PDE (μg/day)	Component Limits (μg/g)	STD-1(0.5 J) (ng/mL)	STD-2(1 J) (ng/mL)	STD-3(2J) (ng/mL)
Cd	5	2.5	12.5	25	50
Pb	5	2.5	12.5	25	50
As	15	7.5	37.5	75	150
Hg	15	7.5	37.5	75	150
Ir	100	50	250	500	1000
Os	100	50	250	500	1000
Pd	100	50	250	500	1000
Pt	100	50	250	500	1000
Rh	100	50	250	500	1000
Ru	100	50	250	500	1000
Mo	180	90	450	900	1800
Ni	600	300	1500	3000	6000
V	120	60	300	600	1200
Cu	1300	650	3250	6500	13000

分析儀器及條件

本實驗使用Thermo Scientific iCAP 7000 Series ICP-OES，詳細的儀器進樣系統與參數設定如表B。

表B、儀器進樣系統與參數設定

Instrument		
Nebulizer	Aerosalt Nebuliser	
Spray Chamber	Quartz	
Centre Tube	Ceramic 2 mm ID	
Torch	Duo Torch	
Parameter		
	UV	VIS
Exposure Time(s)	20	5
RF Power(W)	1150	1150
Nebulizer Gas Flow(L/min)	0.5	0.5
View Modes	Axial	
Auxiliary Gas Flow(L/min)	0.5	
Coolant Gas Flow(L/min)	12	
Pump Speed(RPM)	50	

實驗數據及結果

1.減量線線性

本實驗建立之檢量線線性R²值皆大於0.999，具有良好的線性。減量線線性、偵測極限(LOD)與背景值(BEC)如表C所示。

表C、檢量線線性、偵測極限和背景值(ppb)

Element	LOD	BEC	R ²
Cd	0.179	-0.02	0.9999
Pb	3.277	4.657	1
As	4.657	8.713	0.9996
Hg	0.683	0.285	0.9998
Ir	1.17	0.221	0.9999
Os	0.801	-0.89	0.9997
Pd	3.707	-4.816	0.9998
Pt	3.305	2.977	0.9998
Rh	4.346	17.425	0.9998
Ru	3.431	2.618	0.9998
Mo	0.503	0.178	0.9999
Ni	3.735	5.154	0.9998
V	0.842	0.979	0.9997
Cu	0.63	2.556	1

2.樣品實際濃度

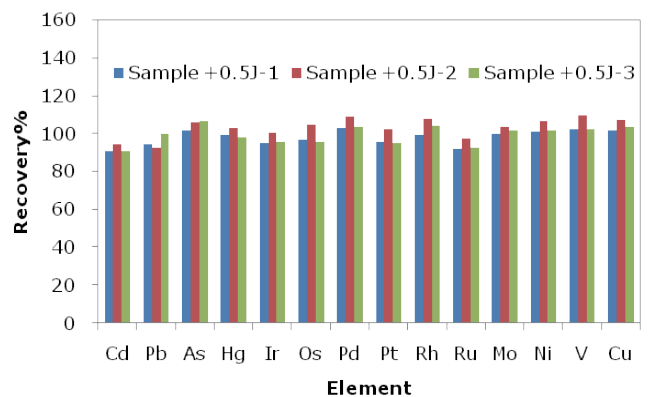
樣品不純物實際濃度均小於USP<232>所制定的限量濃度，如表D所示。

3.準確度測試(Accuracy Test)

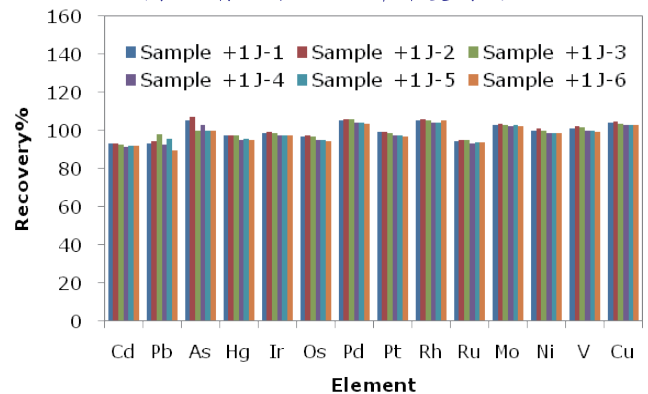
三個獨立樣品於樣品消化前分別加入0.5與1.5 J目標濃度，另六個獨立樣品則添加1 J目標濃度，添加回收率須落在70~150%。樣品添加0.5、1及1.5 J的回收率結果見圖A~C，其回收率結果都在90~110%之間，表示儀器擁有優良的穩定性及對樣品基質有良好的加乘性。

表D、樣品實際濃度(ppm)

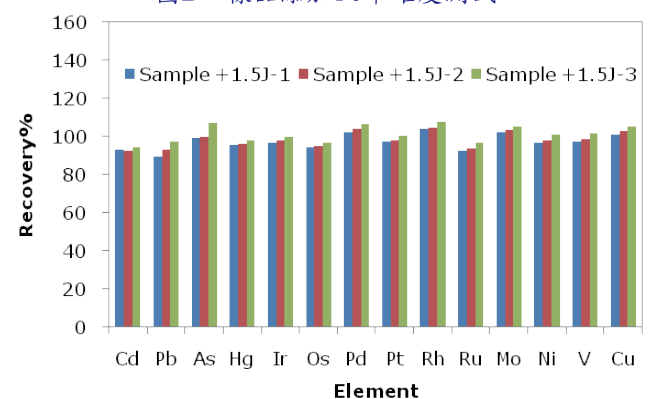
Element	MDL	Component Limits	Sample Concentration
Cd	0.018	2.5	<MDL
Pb	0.328	2.5	<MDL
As	0.466	7.5	<MDL
Hg	0.068	7.5	<MDL
Ir	0.117	50	<MDL
Os	0.08	50	<MDL
Pd	0.371	50	<MDL
Pt	0.331	50	<MDL
Rh	0.435	50	<MDL
Ru	0.343	50	<MDL
Mo	0.05	90	0.409
Ni	0.374	300	<MDL
V	0.084	60	0.802
Cu	0.063	650	<MDL



圖A、樣品添加0.5 J準確度測試



圖B、樣品添加1 J準確度測試



圖C、樣品添加1.5 J準確度測試

4.儀器偏移測試(Drift Test)

檢量線建立之後以及樣品分析後皆須查核2J的濃度，藉以計算於實驗分析前後儀器偏移的程度，且相對誤差值必須小於20%。儀器偏移程度請見表E。

表E、儀器偏移測試

unit:ppb	Day 1						Day 2					
	Element	2J	2J Before samples	R (%)	2J After samples	R (%)	Drift (%)	2J Before samples	R (%)	2J After samples	R (%)	Drift (%)
Cd	50	50.16	100	49.88	100	0.6	49.72	99	49.5	99	0.4	<20%
Pb	50	48.84	98	47.21	94	3.3	49.65	99	49.76	100	0.2	<20%
As	150	151.2	101	134.8	90	10.9	149.6	100	144.9	97	3.2	<20%
Hg	150	150	100	142.6	95	5	147.7	98	147.7	98	0.1	<20%
Ir	1000	1003	100	1002	100	0.1	992	99	986.6	99	0.6	<20%
Os	1000	1001	100	951.6	95	4.9	996	100	993.1	99	0.3	<20%
Pd	1000	1004	100	980.4	98	2.3	1005	101	1006	101	0.1	<20%
Pt	1000	1001	100	987.6	99	1.3	994	99	987.4	99	0.7	<20%
Rh	1000	1003	100	1003	100	0.1	1003	100	1001	100	0.2	<20%
Ru	1000	1001	100	981.5	98	1.9	991	99	993.1	99	0.2	<20%
Mo	1800	1812	101	1849	103	2	1783	99	1776	99	0.4	<20%
Ni	6000	6017	100	5697	95	5.3	6003	100	6024	100	0.4	<20%
V	1200	1205	100	1115	93	7.5	1193	99	1198	100	0.4	<20%
Cu	13000	13098	101	12848	99	1.9	12661	97	12787	98	1	<20%

5.中間精密度測試

三個獨立樣品於消化前各別加入0.5、1.5J目標濃度，重複三次分析，其RSD須小於20%。樣品添加0.5、1.5J中間精密度測試結果請見表F、G，其顯示RSD結果都不超過6%。

表F、樣品添加0.5J中間精密度測試

unit:ppb	Add 0.5J								
	Element	0.5J	Sample +0.5J-1	R (%)	Sample +0.5J-2	R (%)	Sample +0.5J-3	R (%)	RSD% (n=3)
Cd	12.5	11.32	91	11.79	94	11.37	91	2.2	<20%
Pb	12.5	11.78	94	11.56	92	12.49	100	4.1	<20%
As	37.5	38.06	102	39.7	106	40.07	107	2.7	<20%
Hg	37.5	37.15	99	38.69	103	36.68	98	2.8	<20%
Ir	250	238.1	95	251.4	101	239.3	96	3	<20%
Os	250	242	97	262.4	105	239.5	96	5.1	<20%
Pd	250	256.7	103	272.8	109	258.9	104	3.3	<20%
Pt	250	239	96	255.1	102	237.5	95	4	<20%
Rh	250	248.8	100	269.5	108	260.8	104	4	<20%
Ru	250	230.2	92	243.3	97	231.3	93	3.1	<20%
Mo	450	449	100	467.1	104	458.2	102	2	<20%
Ni	1500	1518	101	1599	107	1528	102	2.9	<20%
V	300	307.7	103	328.2	109	306.5	102	3.9	<20%
Cu	3250	3315	102	3489	107	3370	104	2.6	<20%

5.儀器偏移測試(Drift Test)

檢量線建立之後以及樣品分析後皆須查核2 J的濃度，藉以計算於實驗分析前後儀器偏移的程度，且相對誤差值必須小於20%。儀器偏移測試請見表G。

表G、儀器偏移測試

unit:ppb	Day 1						Day 2						Limit
	Element	2J	2J Before samples	R (%)	2J After samples	R (%)	Drift (%)	2J Before samples	R (%)	2J After samples	R (%)	Drift (%)	
Cd	50	50.16	100	49.88	100	0.6	49.72	99	49.5	99	0.4	<20%	
Pb	50	48.84	98	47.21	94	3.3	49.65	99	49.76	100	0.2	<20%	
As	150	151.2	101	134.8	90	10.9	149.6	100	144.9	97	3.2	<20%	
Hg	150	150	100	142.6	95	5	147.7	98	147.7	98	0.1	<20%	
Ir	1000	1003	100	1002	100	0.1	992	99	986.6	99	0.6	<20%	
Os	1000	1001	100	951.6	95	4.9	996	100	993.1	99	0.3	<20%	
Pd	1000	1004	100	980.4	98	2.3	1005	101	1006	101	0.1	<20%	
Pt	1000	1001	100	987.6	99	1.3	994	99	987.4	99	0.7	<20%	
Rh	1000	1003	100	1003	100	0.1	1003	100	1001	100	0.2	<20%	
Ru	1000	1001	100	981.5	98	1.9	991	99	993.1	99	0.2	<20%	
Mo	1800	1812	101	1849	103	2	1783	99	1776	99	0.4	<20%	
Ni	6000	6017	100	5697	95	5.3	6003	100	6024	100	0.4	<20%	
V	1200	1205	100	1115	93	7.5	1193	99	1198	100	0.4	<20%	
Cu	13000	13098	101	12848	99	1.9	12661	97	12787	98	1	<20%	

6.重複性測試(Repeatability Test)

六個獨立測試樣品，分別加入1 J的目標濃度，每個目標元素RSD不得超過20%，本次重複性結果顯示所有元素RSD均<5%以下。表H為樣品添加1 J的重複性測試結果。

表H、樣品添加1 J重複性測試

Element	1 J	Sample	R	Sample	R	Sample	R	Sample	R	Sample	R	Sample	R	RSD% (n=6)	Limit
		+1 J-1	(%)	+1 J-2	(%)	+1 J-3	(%)	+1 J-4	(%)	+1 J-5	(%)	+1 J-6	(%)		
Cd	25	23.28	93	23.24	93	23.15	93	22.92	92	22.99	92	22.93	92	0.7	<20%
Pb	25	23.29	93	23.62	94	24.46	98	23.13	93	23.92	96	22.41	90	3	<20%
As	75	79.17	106	80.2	107	74.98	100	77.16	103	74.92	100	74.97	100	3	<20%
Hg	75	73.13	98	73.07	97	73.02	97	71.24	95	71.58	95	71.44	95	1.3	<20%
Ir	500	494.4	99	495.9	99	493.8	99	485.7	97	488.2	98	486.6	97	0.9	<20%
Os	500	485.3	97	487	97	483.3	97	474.3	95	473.6	95	472.1	94	1.4	<20%
Pd	500	526.6	105	530.3	106	528.8	106	520.1	104	520.6	104	518.5	104	1	<20%
Pt	500	496.6	99	494.8	99	494.5	99	486.9	97	486.4	97	484.6	97	1.1	<20%
Rh	500	527.7	106	530	106	527.3	105	520.5	104	521.6	104	525.6	105	0.7	<20%
Ru	500	472.1	94	475.2	95	473.6	95	465.7	93	468.5	94	470.3	94	0.7	<20%
Mo	900	928.4	103	931.3	103	928.4	103	918	102	923.4	103	922.8	103	0.5	<20%
Ni	3000	3001	100	3026	101	2998	100	2955	99	2959	99	2952	98	1	<20%
V	600	607.2	101	614	102	609.8	102	600.2	100	598	100	594.1	99	1.3	<20%
Cu	6500	6751	104	6795	105	6743	104	6670	103	6683	103	6670	103	0.8	<20%

7. 重現性測試(Ruggedness Test)

目的為測試同一樣品於不同天或不同分析人員抑或不同儀器的重現性實驗，其RSD須小於25%。本次測試為不同分析人員在不同天測試樣品，結果顯示RSD均在6%以下，詳見於表I。

表I、重現性測試

unit:ppb		Day 1						Day 2						RSD% (n=12)	Limit
Element	1 J	Sample +1 J-1	Sample +1 J-2	Sample +1 J-3	Sample +1 J-4	Sample +1 J-5	Sample +1 J-6	Sample +1 J-1	Sample +1 J-2	Sample +1 J-3	Sample +1 J-4	Sample +1 J-5	Sample +1 J-6		
Cd	25	23.28	23.24	23.15	22.92	22.99	22.93	24.16	23.99	23.9	24.25	24.19	24.07	2.3	<25%
Pb	25	23.29	23.62	24.46	23.13	23.92	22.41	25.06	23.6	25.02	25.55	26.65	26.35	5.4	<25%
As	75	79.17	80.2	74.98	77.16	74.92	74.97	74.46	77.45	78.16	77.44	77.41	74.26	2.6	<25%
Hg	75	73.13	73.07	73.02	71.24	71.58	71.44	71.09	71.11	70.7	71.35	71.54	71.38	1.2	<25%
Ir	500	494.4	495.9	493.8	485.7	488.2	486.6	456.1	458.3	457	458.5	461.5	462	3.6	<25%
Os	500	485.3	487	483.3	474.3	473.6	472.1	468.7	467.8	465.7	467.7	469.2	467.6	1.6	<25%
Pd	500	526.6	530.3	528.8	520.1	520.6	518.5	523	526.9	527.6	528.8	530.8	528.7	0.8	<25%
Pt	500	496.6	494.8	494.5	486.9	486.4	484.6	456.2	458.5	454	458.6	461.7	460.2	3.7	<25%
Rh	500	527.7	530	527.3	520.5	521.6	525.6	523.5	527.3	523.3	528.8	532.9	530	0.7	<25%
Ru	500	472.1	475.2	473.6	465.7	468.5	470.3	461.4	463.9	463.6	466.7	473	469.9	0.9	<25%
Mo	900	928.4	931.3	928.4	918	923.4	922.8	826.8	833.7	831.9	835.8	841.9	842.9	5.4	<25%
Ni	3000	3001	3026	2998	2955	2959	2952	3057	3052	3066	3061	3072	3051	1.5	<25%
V	600	607.2	614	609.8	600.2	598.4	594.1	607.4	608.8	607.2	610.3	612.8	606.5	1	<25%
Cu	6500	6751	6795	6743	6670	6683	6670	6570	6585	6590	6588	6617	6566	1.2	<25%

結論

利用Thermo Scientific iCAP 7000 Series ICP-OES分析樣品中不純物的濃度均符合USP<232>限量標準，且能完美通過USP<233>分析程序所規範的儀器偏移、準確度、中間精密度、重複性、重現性測試，表示Thermo Scientific iCAP 7000 Series ICP-OES於USP<232>及<233>中，具有出色的適用性、穩定性，也是您最佳的選擇。

Thermo Flash 2000元素分析儀在食品中的應用

醬油中的氮含量分析

應用工程師 連凱莉 黃逸民

Email: kellylien@joytech.com.tw / thomashuang@joytech.com.tw



中國是美食國都代表，相信許多國內外嘗過中國美食而難忘的不下其數，而美食的關鍵之一"醬油"與料理息息相關，說其為"飲料"也不為過，以統計來說2007年醬油生產量達到140,000公噸且產值高達45億新台幣，由於醬油的美味無界線，也為台灣出口貿易重要來源之一。依中華民國國家標準(CNS 423 N5006)中，豆麥醬油基本分成三種等級(如表一)，而淡色醬油與薄鹽醬油品質說明如表二，其醬油等級主要依照總氮量、胺基態氮與總固形物來做分隔，而總氮量在食品中是一種營養指標，代表了如蛋白質、胺基酸等營養成分的總含量，換言之，醬油中的氮含量越高，表示醬油越等級也就越高。而化學調製的醬油以化學原料取代部份的主成分，不僅降低營養價值，長期大量食用下有傷身之憂慮。本刊以Thermo Flash 2000取代傳統凱氏氮分析方法，提供一種快速分析食品中含氮量的方法，其具有分析快速(5min/支)，取樣量少與自動分析的特性，在分析粗蛋白與含氮量上也具有高精準度與精確度。

表一、醬油(豆麥醬油)品質說明與等級規範

說明	以大豆、脫脂大豆、黑豆及小麥、米等穀類利用釀造法、速釀法與混合法所得之醬油		
區分	甲級品	乙級品	丙級品
性狀	具優良釀造醬油味，且無異色、臭味。固有之色澤與香味。	具良好醬油固有之色澤與香味，且無異色、臭味。	具良好之色澤與香味，且無異色、臭味。
總氮量 (TN) (g/100ml)	1.4 以上	1.1 以上	0.8 以上
胺基態氮 (AN) (g/100ml)	0.56 以上	0.44 以上	0.32 以上
總固形物	13 以上	10 以上	7 以上
夾雜物	不得含有		
內容物	需與標示之容積箱符		
備註	釀造醬油果糖酸含量不得超過 0.1%。總固形物不包括食鹽。		

表二、淡色醬油與薄鹽醬油品質說明

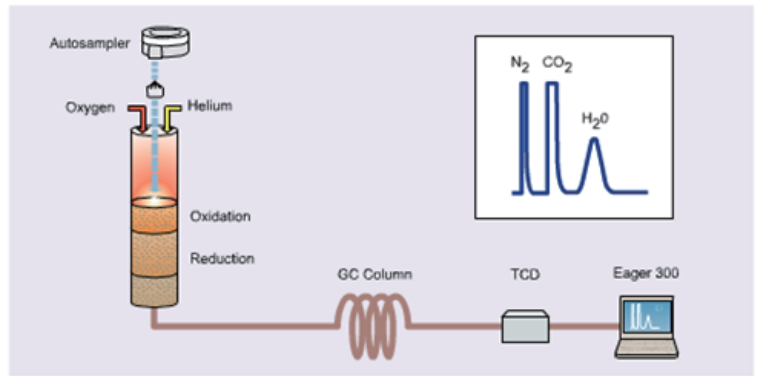
性狀	具良好之色澤與香味，且無異臭、異味。
總氮量 (TN) (g/100ml)	1.1 以上
胺基態氮 (AN) (g/100ml)	0.44 以上
夾雜物	不得含有
內容物	須與標示之容積箱符
色度	3.0 以下或標準色 19 以上
NaCl 含量	薄鹽醬油其 NaCl<12%
備註	※ 釀造醬油果糖酸含量不得超過 0.01%

表三、傳統凱氏氮與Thermo Flash 2000比較

項目	凱氏氮	Flash 2000 (燃燒法)
		
樣品稱重	約 0.5~1g(最多至 2 克)	0.01~1g(適用固態、液態、膠狀物)
分析流程	樣品製備: 稱重-消化-蒸餾-滴定-計算-結果	樣品製備: 稱重-分析-結果
時間		
預熱時間	10~45 mins	30 mins(待機狀態到可分析狀態)也可以使用儀器'喚醒'功能, 直接設定暖機功能
樣品製備(樣品均質化)	5-20 min	5-20 min(分析樣品時其它樣品製備)
試劑準備	手動每樣品需 10~20 min	反應管填充 20 分鐘(可分析 300 以上個樣品)
消化時間	2-6 hrs	不需
冷卻	20mins-2 hrs	不需
氮的分析時間	10 mins	4-6 min
其他步驟花費時間	各項需 5-10 min(如蒸餾、滴定、清洗等)	不需
總花費時間	3-10 hrs	4-6mins/樣品
安全性	高花費 過程產生大量濃酸氣體 含大量有毒催化劑與化學藥劑	無安全性顧慮
廢棄物處理	會有高花費與處理化學藥品時間	產生爐渣與固態性廢棄物, 易清理
設備		
儀器壽命	3-4 個月取決於酸腐蝕程度	儀器壽命長
漏氣問題	橡膠塞破裂導致漏氣, 無法察覺	不需, 儀器備有自動測漏功能
安全儲放櫃損壞	會有酸性藥品溢出導致儲放櫃腐蝕	不需
氣體需求	無	需氮氣(或氫氣)與氧氣
每日分析樣品數	6-20 樣品/每日(主要受限於樣品消化)	一樣品盤可做 32 個樣品, 可另增加至 4 樣品盤最多可一次分析 125 樣品
自動分析	無法自動分析全為人工操作	MAS 200R 自動進樣裝置 分析時不需額外注意操作, 可於分析時另外新增樣品
N 的回收量	受限於樣品基質問題(樣品不完全消化或難消化)	可完全將有機與無機樣品中的 N 成分燃燒轉換為氣體分析。
軟體與計算	無專用軟體, 且需手動運算結果	Eager Xperience Software 可完全控制與依照樣品使用不同蛋白因子來自動運算蛋白質含量。

Thermo Flash 2000 儀器設定

燃燒爐溫度	950°C
層析管柱溫度	65°C
分析氣體流速(氮氣)	140 ml/min
參考氣體流速(氮氣)	100 ml/min
氧氣流速	300 ml/min
注入時間	5sec
總反應時間	300sec



實驗結果

取多款市售醬油樣品來測定其含氮量，因醬油本身以液態為主，因此在分析上會於樣品中添加吸附劑(主要成分為矽藻土以SiO₂·H₂O)，以減少液態樣品在包覆時，因外力擠壓導致有溢散而使秤取的重量減少。表四為市售醬油含氮量的分析結果。

表四、市售醬油含氮量分析結果

代號	氮含量 (%)	平均氮含量(g/100g)	含氮量 (g/100ml)	醬油等級
一般醬油(豆麥醬油)				
A	1.238	1.248	1.450	甲
	1.258			
B	1.539	1.528	1.776	甲
	1.518			
C	1.276	1.298	1.509	甲
	1.321			
D	0.733	0.731	0.849	--
	0.729			
E	1.315	1.318	1.531	甲
	1.321			
F	1.247	1.245	1.447	甲
	1.243			
淡色醬油與薄鹽醬油				
G	0.409	0.407	0.473	--
	0.406			
H	0.902	0.902	1.048	--
	0.902			

市售醬油中，一般醬油(豆麥醬油)都有達到甲級門檻，顯示蛋白質含量高且品質佳。樣品D為蒸魚醬油含氮量較低，表示此等級所含蛋白營養物較低。樣品G為鰹魚醬油而樣品H為薄鹽醬油，淡色醬油與薄鹽醬油無明顯等級規範，分析出來數值都較標準值低。

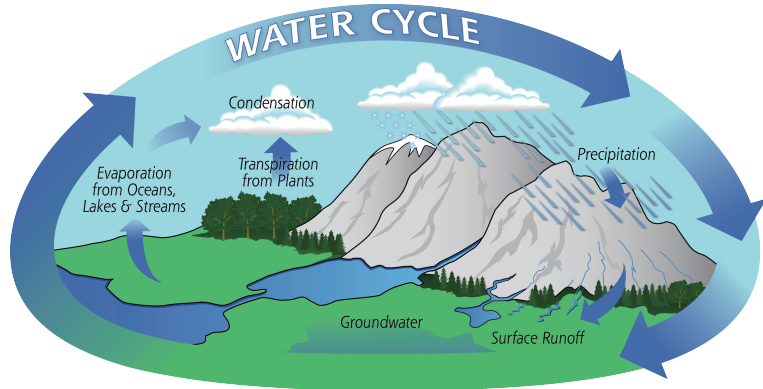
結論

Thermo Flash 2000在食品上的應用可取代傳統凱氏氮費時與費力的分析方法，其分析結果準確穩定度高，且分析時產生的廢棄物較少。Thermo Flash 2000實驗前可依儀器自動作測漏測試(Leaking test)與MAS 200R連續進樣可減少因漏氣，以提升整體分析的穩定性。

高溫轉換元素分析儀串聯同位素比值質譜儀於液態樣品分析之應用

應用工程師 林勁璿
E-mail: dieterlin@joytech.com.tw

受到全球尺度水文循環的特性影響，雨水與降雪等天水中的氫、氧同位素比例分布具有與地域性高度相關的變化特徵，也因此水的氫、氧同位素成分分析對於研究地表水和地下水等水體的水文學而言是重要的課題。而植物與動物體內的氫、氧同位素比例亦受到在其生存環境攝取之水源同位素成分相當程度的影響，因此氫、氧同位素成分分析也成為農畜產品地緣鑑定研究中具有高度潛力的指標。



Thermo Scientific 的高溫轉換技術 (High Temperature Conversion, HTC) 元

素分析儀搭配液體樣品自動進樣器，作為連續流同位素比值質譜儀前端的樣品轉換進樣界面，提供了液態樣品氫、氧同位素分析的解決方案，具有樣品需求量小、分析快速、高樣品通量等優點。本技術利用反應爐高達1400°C的高溫將樣品中的氫原子及氧原子分別轉換為氫氣 (H₂) 及一氧化碳 (CO) 的型式，經過氣相層析管柱將這兩個待測氣體分離後，再以連續流的模式經由 Conflo IV 通用進樣界面送進同位素比值質譜儀中進行測量，配合適當的質量跳躍設定，可以在一次分析中同時測量氫同位素及氧同位素比例，所需時間小於6分鐘。除此之外，整合了 HTC 與動態燃燒 (dynamic combustion) 兩種技術的 Thermo Scientific Flash 2000 HT Plus 元素分析儀讓同一套元素分析儀串聯同位素質譜儀系統可同時具有氮、碳、硫及氫、氧同位素系統的分析能力，並可於數分鐘之內在不同系統間進行切換。

本篇 Thermo Scientific 應用文章展示了高溫轉換技術於液態樣品之氫、氧同位素分析的能力，其分析精確度 (重覆分析結果之標準差) 分別可達 2‰ (δ²H) 及 0.2‰ (δ¹⁸O)。本技術除了水樣以外，亦可應用在酒精、尿液、血漿、果汁等各式樣品的分析。

2015年樂盟研討會

樂盟在三月份分別於台北、台中與高雄舉辦了三場產品說明研討會，總計共一百多間廠商參與。樂名研討會主軸為 ICP OES、ICP MS 各部件原理、拆裝、客戶常見問題的回應、說明競爭對手提出的質疑，並分享醫藥、環境等相關法規，以及分享樂盟實驗數據與實驗方法。

此次研討會對樂盟來說是一個非常大的突破，首次全由樂盟同仁做為講師，與各領域廠商互動，並拍攝樂盟實驗室及樂盟同仁的實機操作與解說，增添廠商對樂盟服務與技術層面上的信心，也謝謝各地廠商與朋友撥冗相挺，讓此次研討會可以順利落幕，未來樂盟會持續努力在各領域繼續深造，希望可以跟各家廠商一起努力、一同成長。



2015年靜宜大學產學合作

樂盟科技於2014年應許靜宜大學應用化學系(所)產學合作，讓莘莘學子在校學習知識能夠學以致用，也為產業界進一分心力。2015年提供現場儀器教學，讓學生能活用"分析"的過程與實機實作，以增進學生對儀器了解與分析應用。樂盟也表示希望未來能夠與更多大學舉辦此類活動，以書本原理結合儀器設計、分析與邏輯，更能在實作中學習分析技巧與注意事項，讓學生在畢業前能充分了解分析儀器對產業的重要性。



近期活動

2015 研討會	日期	地點	舉辦單位
中華民國地球物理學會	104 年 5 月 13 ~ 14 日	文化大學	中華民國地球物理學會 中華民國地質學會
	104 年 7 月 14 日	台北	
2015 樂盟年度研討會	104 年 7 月 15 日	新竹	樂盟科技有限公司
	104 年 7 月 16 日	台南	
台灣質譜年會	104 年 7 月 13 日~15 日	交通大學	台灣質譜年會
台灣公定分析學家協會	預定 10 月底 ~ 11 月初間	台北	台灣公定分析學家協會 (AOAC)
中國化學年會	11 月下旬	東華大學	中國化學年會

Fast and Precise Isotope Analysis of Liquids on a DELTA V Isotope Ratio MS with High Temperature Conversion Elemental Analyzer

Oliver Kracht, Andreas Hilkert, Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany

Key Words

- TC/EA
- Isotope Ratio MS
- EA-IRMS
- Water Analysis



Introduction

^{18}O and ^2H isotope ratio analysis of aqueous solutions such as water, urine, blood plasma, wine, can be performed by a variety of different techniques: equilibration, chromium reduction and carbon reduction (also referred to as high temperature conversion or pyrolysis). The high temperature conversion (TC) method allows a direct isotope ratio analysis of both oxygen and hydrogen in continuous flow mode. It offers the analysis of two isotopes in five minutes from only one injection of water samples as small as 0.1 μL .

Analytical Method

High temperature conversion in continuous flow mode became available with the introduction of the glassy carbon reactors. The conversion is based on the reaction:

$$\text{H}_2\text{O} + \text{C} \rightarrow \text{H}_2 + \text{CO}^1$$

Water samples are entrained in a He carrier gas stream and passed through a glassy carbon reactor at 1400 °C. The tube-in-tube principle (glassy carbon tube in a ceramic tube, Figure 1) prevents oxidation of the glassy carbon by keeping the tube in an oxygen-free atmosphere, constantly flushed by a flow of He. Contamination or exchange of the O in the sample CO with O in the surrounding ceramic (Al_2O_3) tube is prevented because the reaction takes place inside the glassy carbon tube.

Isotope Ratio Analysis of Aqueous Solutions, e.g.

- water
- waste water
- beer
- wine
- fruit juice
- urine
- blood plasma
- ice
- atmospheric water

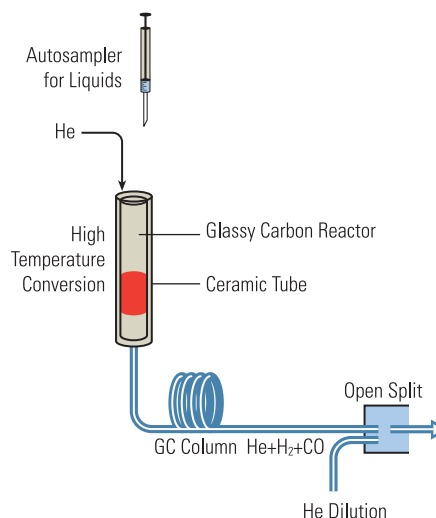


Figure 1: Schematic of the Thermo Scientific high temperature conversion elemental analyzer TC/EA.

The products of the reduction reaction, H₂ and CO, are separated on a gas chromatographic column and analyzed directly in a Thermo Scientific DELTA V Isotope Ratio Mass Spectrometer. After collecting the ion beams of *m/z* 2 and *m/z* 3 in the H₂ peak a fast switch of the magnetic field allows the subsequent collection of *m/z* 28 and *m/z* 30 in the CO peak (dual measurement mode). A narrow stainless steel insert is used at the top of the reactor to ensure both rapid and low memory transfer of the water into the hot zone. The system settings are given in Table 1 and 2.

It is essential that the injection of the water sample takes place immediately after the needle penetrates the septum to avoid isotopic fractionation resulting from evaporation in the needle tip. After the sample injection, the needle stays in the hot reactor for a certain period of time in order to remove any sample residue prior to the next injection.

Reactor temperature	1400 °C
GC temperature	100 °C
Carrier flow	100 ml/min
Autosampler type	Thermo Scientific AS 3000
Syringe size	0.5 µL

Table 1: High temperature conversion elemental analyzer (TC/EA) settings for H and O isotope ratio analysis.

Injection volume	0.1 µL
Plunger strokes	3
Rinses	0
Pre-injection dwell time	0 s
Post-injection dwell time	16 s
Solvent wash cycle	0

Table 2: AS 3000 Autosampler settings.

	$\delta^2\text{H}$ [‰] raw	Mean	S.D.	$\delta^2\text{H}$ [‰] after scaling	IAEA accepted value	$\delta^{18}\text{O}$ [‰] raw	Mean	S.D.	$\delta^{18}\text{O}$ [‰] after scaling	IAEA accepted value
GISP	-185.03					-24.23				
	-186.95					-24.67				
	-186.37					-24.75				
	-187.09					-24.75				
	-186.62	-186.76	0.32	-188.99	-189.5	-24.84	-24.75	0.07	-24.73	-24.5
SLAP	-420.53					-55.16				
	-422.13					-55.36				
	-422.35					-55.42				
	-424.45					-55.89				
	-422.67	-422.90	1.06	-428.00	-428.0	-55.52	-55.54	0.24	-55.50	-55.5
SMOW	-1.76					-0.32				
	-0.29					-0.04				
	0.31					-0.06				
	-0.02					-0.02				
	-0.11	-0.03	0.25	0.00	0.0	0.13	0.01	0.09	0.00	0.0
Sample A	-47.10					-7.44				
	-42.47					-6.99				
	-41.40					-6.82				
	-41.32					-6.66				
	-40.11	-41.32	0.96	-41.79	-	-6.76	-6.81	0.14	-6.81	-

Table 3: Mean and Standard Deviation (S.D.) of $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values of five consecutive injections of international water standards GISP, SLAP, SMOW and a lab standard. The data is given in sequence of injection to demonstrate memory effects. The table shows raw data and data after scaling with SMOW and SLAP. The data was acquired during field installation. Strike-through data is not considered.

Results

Accuracy

Table 3 shows data from an installation of a TC/EA at a customer site. International water standards (IAEA, Vienna) plus a lab standard (Sample A) were injected in the given sequence. The water standards cover the full range of $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values of natural water. The specifications of the TC/EA are < 2‰ for $\delta^2\text{H}$ and < 0.2‰ for $\delta^{18}\text{O}$. The typical precision achieved during routine analysis can be < 1‰ for $\delta^2\text{H}$ and < 0.1‰ for $\delta^{18}\text{O}$. All samples were analyzed in dual measurement mode.

The uncorrected raw data in Table 3 show that there is no need for any post-acquisition evaluation or correction. The direct conversion of the sample in the reactor, together with a highly precise, small and stable H₃⁺-factor of 6.2 ppm/nA provides very accurate delta values. This is a clear advantage over equilibration techniques. Common approaches for post-evaluation of raw delta values like the SMOW/SLAP scaling and drift corrections have been discussed by several authors.^{2, 3, 4}

Memory

In Table 3 only the first data point of each set of five injections shows the influence of preceding samples. Large differences between delta values of adjacent samples can corrupt the first analysis due to memory effects mainly caused by the syringe. The implementation of post-injection dwell time of the syringe in the reactor removes most of this memory. Washing cycles for the syringe do not help here because any solvent would contaminate the syringe with H- and O-isotopes.

Analysis Time

Table 4 shows a sequence of injections with samples of Antarctic precipitation with similar isotope ratio values. Mean and Standard Deviation (S.D.) were calculated from five consecutive injections per sample. The mean precision for $\delta^2\text{H}$ is $\ll 0.6\text{‰}$ which is a requirement for ice core analysis by paleoclimatologists. High resolution data of long ice cores demand high sample throughput.

Figure 2 and Figure 3 compare the mean value with the first injection of each set to see if the number of repetitions can be reduced without affecting the accuracy. All $\delta^{18}\text{O}$ isotope values of the first injection fall within the S.D. except for Sample H showing that already the first injection gives correct results. About half of the $\delta^2\text{H}$ values of the first injection fall outside the S.D. range requiring repetition.

Sample	Mean $\delta^2\text{H}$	S.D.	Mean $\delta^{18}\text{O}$	S.D.
Standard	-413.82	0.40	-39.48	0.07
Sample A	-429.78	0.43	-41.46	0.03
Sample B	-423.93	0.79	-40.68	0.09
Sample C	-422.30	0.55	-40.52	0.08
Sample D	-418.52	0.55	-40.02	0.06
Standard	-414.56	0.28	-39.58	0.11
Sample E	-402.63	0.48	-37.94	0.04
Sample F	-398.87	0.25	-37.54	0.08
Sample G	-392.22	0.88	-36.56	0.25
Sample H	-394.69	0.48	-36.83	0.13
Standard	-412.87	0.76	-39.15	0.13

Table 4: Mean and Standard Deviation (S.D.) of $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values of five consecutive sample injections ($N = 5$) with similar isotope ratio values. No data was excluded as memory effects are negligible. Standard: $N = 3$.

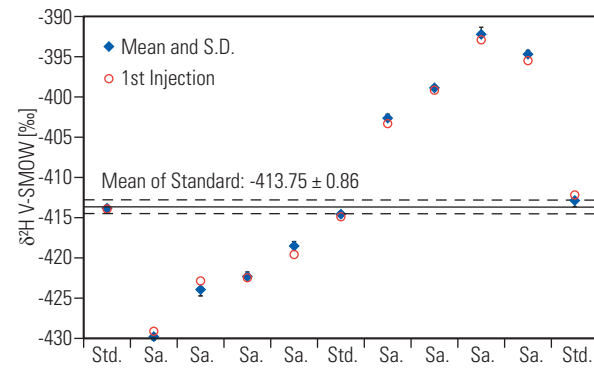


Figure 2: $\delta^2\text{H}$ mean (sample $N = 5$, Standard $N = 3$) with Standard Deviation. Red circle data points represent the first injection of each set, all first injections fall within the S.D. range except for Sample H.

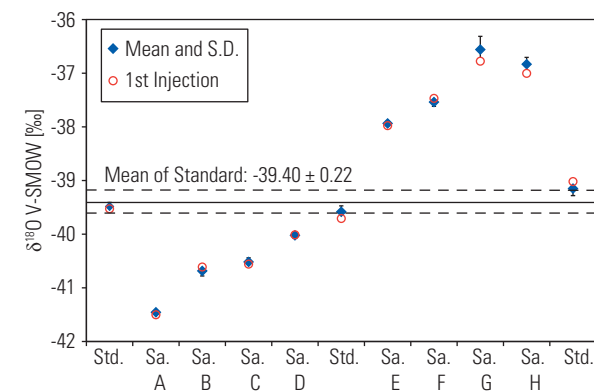


Figure 3: $\delta^{18}\text{O}$ mean (sample $N = 5$, standard $N = 3$) with Standard Deviation. Red circle data points represent the first injection of each set. Most first injections fall within the S.D. range.

In Short

Single Measurement $\delta^{18}\text{O}$

6 minutes analysis time,
no repetitions for screening required ($N = 1$),
10 injection per hour,
240 samples per day

Single Measurement $\delta^2\text{H}$

6-7 minutes analysis time,
2 repetitions (multiple injections, $N = 3$),
9 samples per hour,
216 samples per day
See Figure 4

Dual Measurement $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$

5-6 minutes analysis time,
2 repetitions ($N = 3$),
9 injections per hour,
72 samples per day
(9 injections \times 24 h/3(triplicate) = 72)
See Figure 5

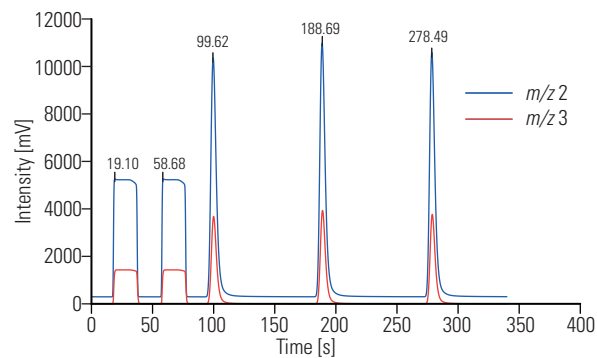


Figure 4: Single measurement $\delta^2\text{H}$ with multiple injections of the same sample to account for two repetitions. The analysis time is six minutes.

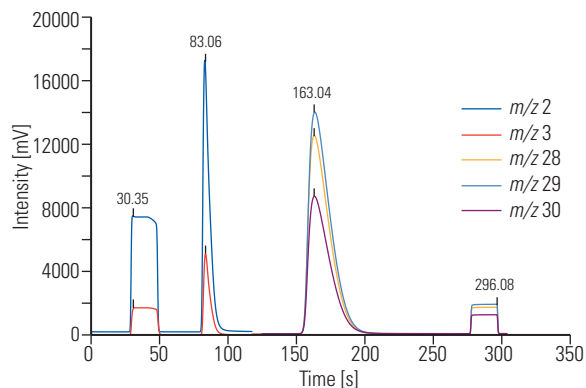


Figure 5: Dual measurement of $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ from a single injection with a fast magnet switch at 120 s. The analysis time can be reduced to less than five minutes.

Sample	Mean $\delta^2\text{H}$	S.D.	Mean $\delta^{18}\text{O}$	S.D.
Lab Standard	-53.69	0.20	-7.84	0.04
V-SMOW	0.00	0.34	0.00	0.08
GISP	-189.50	0.40	-24.80	0.05
Ethanol	-234.80	0.12	-24.18	0.08
Lab Standard	-53.76	0.39	-7.85	0.03

Table 5: Mean and Standard Deviation (S.D.) of $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values of two standards and ethanol demonstrating the possibility to run organic liquids. N = 10 for standards, N = 5 for ethanol.

Other Liquid Samples

While isotope ratio analysis of water is by far the predominant application, other substrates have been tested, including purified blood plasma, urine, and ethanol (see Table 5), see also Calderone et al. for ethanol applications.⁵ The application lab of Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany, took part in an interlaboratory study initiated by BEVABS (Ispra), IRMM Geel, and the French bioanalytical company Eurofins. The object of the interlaboratory study was to evaluate the use of tetramethylurea (TMU) as a reference compound for TC/EA-IRMS analysis of wine and alcohols as defined in European Commission Regulation (EEC) N° 2676/90.

The final report of the TC/EA-IRMS interlaboratory study states the applicability and emerging potential of EA-IRMS for food authenticity testing.⁶ Even the analysis of organic substances like dodecane, methyl dodecanoate and methyl N-methylantranilate produced good results.

Conclusion

Since its introduction in 1997, the Thermo Scientific high temperature conversion elemental analyzer TC/EA has created a new field of application for the O- and H-isotope analysis world-wide. TC/EA-IRMS is since then used for the analysis of liquids.

The advantage of fast sub- μL analysis of liquid samples (only five minutes for two isotope ratios) by far outweighs the eventually lower precision.

Low investment with high sample throughput leads to low cost per analysis. In addition, an autosampler for solids with minor modifications on the reactor packing makes the TC/EA also a valuable system for the isotope ratio analysis of solid samples.

Since 2003, the oven design and reactor technology of the TC/EA has been integrated in the Thermo Scientific Flash 2000 HT elemental analyzer for isotope ratio MS, so that Dumas combustion for the analysis of N and C isotopes is combined with high temperature conversion for analysis of O and H isotopes in a single system.

The Flash 2000 HT elemental analyzer for isotope ratio MS enables the user to switch from N-C isotope ratio analysis to H-O isotope ratio analysis within just a few minutes. The performance of water analyses in both elemental analyzers the TC/EA and the Flash 2000 HT is identical.

References and Related Literature

- 1 Koziat J.J., Isotope Ratio Mass Spectrometric Method for the Online Determination of Oxygen-18 in Organic Matter, *J. Mass Spectrom* **1997**, *32*, 103-108.
- 2 Coplen T., Normalization of oxygen and hydrogen isotope data, *Chem. Geol.* **1988**, *72*, 293-297.
- 3 Nelson S.T., A simple, practical methodology for routine VSMOW/SLAP normalization of water samples analyzed by continuous flow methods, *RCM* **14**, **2000**, 1044-1046.
- 4 Werner R. & Brand W.A., Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis, *RCM* **15**, **2001**, 501-519.
- 5 Calderone G., Reniero F. & Guillou C., $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ measurements on ethanol, *RCM* **20**, **2006**, 937-940.
- 6 Bréas O., Thomas F., Zeleny R., Calderone G., Jamin E. & Guillou C., Performance evaluation of elemental analysis/isotope ratio mass spectrometry methods for the determination of the D/H ratio in tetramethylurea and other compounds – results of a laboratory inter-comparison, *RCM* **21**, **2007**, 1555-1560.

In addition to these offices, Thermo Fisher Scientific maintains a network of representative organizations throughout the world.

Africa-Other
+27 11 570 1840

Australia
+61 3 9757 4300

Austria
+43 1 333 50 34 0

Belgium
+32 53 73 42 41

Canada
+1 800 530 8447

China
+86 10 8419 3588

Denmark
+45 70 23 62 60

Europe-Other
+43 1 333 50 34 0

Finland/Norway/Sweden
+46 8 556 468 00

France
+33 1 60 92 48 00

Germany
+49 6103 408 1014

India
+91 22 6742 9434

Italy
+39 02 950 591

Japan
+81 45 453 9100

Latin America
+1 561 688 8700

Middle East
+43 1 333 50 34 0

Netherlands
+31 76 579 55 55

New Zealand
+64 9 980 6700

Russia/CIS
+43 1 333 50 34 0

South Africa
+27 11 570 1840

Spain
+34 914 845 965

Switzerland
+41 61 716 77 00

UK
+44 1442 233555

USA
+1 800 532 4752



Thermo Fisher Scientific (Bremen)
GmbH Management System
Registered to ISO 9001:2008

AN30180_E 11/10C

www.thermoscientific.com

©2010 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.