

102 年專門職業及技術人員高等考試第 1 次食品技師考試

等別：高等考試

類科：食品技師

科目：食品分析與檢驗

一、請簡述下列食品成分分析常用方法的偵測原理：(每小題 5 分，共 25 分)

- (一)烘箱乾燥法水分測定
- (二)Somogyi 方法
- (三)蛋白質定量(280nm 紫外光吸收法)
- (四)皂化價(saponification value)
- (五)粗纖維定量法

【擬答】

(一)烘箱乾燥法水分測定 **命中特區--講義 3A, page 5-7**

常壓乾燥法即是烘箱乾燥法，使用烘箱：附有自動溫度調節器，測定肉類樣品時，需附有空氣對流設備。

原理：常壓乾燥法為在一般大氣壓下進行的乾燥方式，其乾燥時間長，可適用於大部分的樣品，且同時間可處理多量樣品。

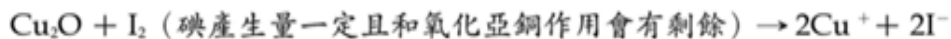
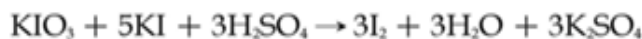
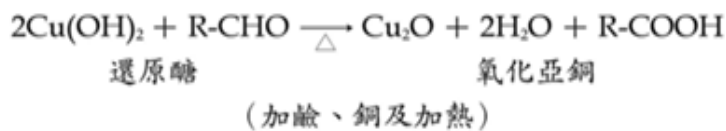
- (1)將秤量瓶洗淨、加熱乾燥(105°C)至恆量，冷卻後稱重。
- (2)加入已經過前處理的樣品後並精稱，接著放入烘箱中。
- (3)依照樣品的種類，選擇乾燥溫度及時間(100~110°C，乾燥時間為 1~6 小時)。
- (4)待乾燥完成後將樣品取出，再放入玻璃乾燥器冷卻至室溫。
- (5)精稱樣品，再將樣品繼續乾燥 1 小時，冷卻、精稱，重複上述步驟直至樣品重量達到恆重。

$$\text{水分(\%)} = \frac{\text{樣品重量} - \text{乾燥後恆重之樣品重量(g)}}{\text{樣品重量(g)}} \times 100$$

(6)水分計算：

(二)Smogyi 法 **命中特區--講義 3A, page 40，總複習 1W page 48**

Smogyi 法是碳水化合物的化學定量法。原理：Somogyi 變法之前置處理和 Bertrand 法相同，實驗過程中所產生的紅色氧化亞銅沉澱則利用已知量且和氧化亞銅作用後會有剩餘之碘(I₂)量來做為中間介質，再以標準之硫代硫酸鈉滴定剩餘碘量，則可得知 I₂ 消耗量，由 Somogyi 法醣類醣量之比對可得知還原醣量，Smogyi 法可定量 0.015~3 mg 的醣量，其化學反應式如下：



(三)A280 蛋白質定量法 **命中特區--講義 3A, page 30，總複習 1W page 44**

蛋白質紫外線分光光度計法：

原理：蛋白質之芳香族胺基酸如酪胺酸(tyrosine)、色胺酸(tryptophan)、苯丙胺酸(phenylalanine)在紫外光區(波長 280 nm)有一定的吸收，且其吸收值與蛋白質濃度(3~8 mg/ml)成直線關係。以已知濃度的標準品如白蛋白(albumin)做出標準曲線圖，由待測蛋白質稀釋液的 A280 吸光值，即可定出蛋白質濃度。也可根據 Lambert-Beer Law (A=εc l)測出蛋白質濃度。

(四)皂化價 **命中特區--講義 3A, page 55, 總複習 1W page 53**

皂化價 (saponification value, SV)：使 1 克油脂完全皂化所需氫氧化鉀的毫克數，稱為皂化價 (SV)。藉由油脂皂化價之測定，可判定油脂之分子量及油脂種類。

- (1)精確秤取油脂樣品約 1.5~2.0 克置於 100 ml 三角瓶內，以定量吸管加入 0.5N KOH 之酒精溶液 25 ml。
- (2)於三角瓶上安裝迴流冷凝管，避免反應溶液乾涸，中火加熱至稍微沸騰的程度，維持 30 分鐘，加熱時隨時緩緩地搖動三角瓶，以促進其皂化完全。
- (3)冷卻後，卸下迴流冷凝管，加入數滴酚酞指示劑，過剩的氫氧化鉀以 0.5N HCl (已知力價) 溶液滴定。滴定至以放置 1 分鐘仍不著色之時間，作為滴定之終點。同時不加油脂樣品，依同樣操作方法進行空白試驗。
- (4)代入公式計算法出皂化價。

(五)粗纖維定量法 **命中特區--講義 3A, page 45, 總複習 1W page 49**

原理：粗纖維(crude fiber)為不溶於稀酸、稀鹼、酒精和乙醚的植物性化合物，其成分包括木質素(lignin)、纖維素、半纖維素(hemicellulose)等。前處理時以酒精、稀酸、稀鹼和乙醚溶解可溶性的醣類、蛋白質及脂肪等，經乾燥後再利用灰分爐以 550°C 進行灰化，冷卻後秤重即為灰分重(有機物 and 無機物)；原乾燥重扣除灰分重，即為粗纖維重量。

- (1)於 500 ml 三角瓶中置入約 2 克樣品(已除去可溶性的醣類、蛋白質及脂肪)，加入 200 ml 1.25% 硫酸溶液，以加熱迴流煮沸 30 分鐘。
- (2)使用粗纖維 Gooch 坩堝連結減壓抽氣裝置(內置處理過之石棉)過濾除去酸液，再以熱水洗滌三角瓶內溶液至不呈酸性，接著以 1.25% 氫氧化鈉溶液 200 ml 沖洗過濾器，洗液迴流至三角瓶內，三角瓶重複加熱迴流 30 分鐘。
- (3)同樣使用過濾器除去鹼液，亦以熱水洗滌至濾液呈中性，最後以 95% 酒精 20 ml 洗滌，置入 110°C 乾燥 1 小時後秤重，反覆操作至恆量。
- (4)最後移入 550°C 之灰化爐中灰化一小時，待冷卻後即移入乾燥器內冷卻後秤重，反覆操作至恆量。
- (5)代入公式計算法出粗纖維量。

二、食用油脂品質常檢測碘價(Iodine value)、酸價(Acid value)、過氧化價(Peroxid value)及硫巴比妥酸價(Thiobarbiburic acid value)，請說明這些項目的檢測理由及檢測原理。(20 分)

【擬答】

(一)碘價 **命中特區--講義 3A, page 54、總複習 1W page 52**

100 克油脂能夠吸收的鹵化碘 (ICl 或 IBr) 量以碘的克數表示的值稱為碘價 (IV)。藉由碘價之測定可用以判定油脂乾性、半乾性與不乾性之性質，另外由碘價亦可估計油脂之雙鍵數。

- (1)試料的秤取依碘價不同而稱取不同量之油脂樣品，碘價愈高，稱取之油脂樣品量愈少，以避免 WIJS 試液不夠反應。因此固體脂肪稱取量為 0.8~1.0 g，不乾性油稱取量 0.3~0.4 g，半乾性油稱取量 0.2~0.3 g，乾性油稱取量 0.15~0.18 g。
- (2)標準的放置時間：反應放置時間亦依碘價高低而有所差別，碘價最低之不乾性油反應時間最短，碘價最高之乾性油反應時間最長，以利反應進行完全。不乾性油為 30 分鐘，半乾性油為 1 小時，乾性油為 2 小時，然後加入碘化鉀溶液 20 ml 和蒸餾水 100 ml 振盪，以 0.1N 硫代硫酸鈉溶液進行滴定，滴定至溶液呈淡黃色時，才加入數滴澱粉指示劑搖晃，此時溶液呈深藍色，繼續滴定，充分振盪，滴定至澱粉藍色消失時即為滴定終點。另再進行一組不加油脂但操作過程完全一樣之空白試驗。

(二)酸價 **命中特區--講義 3A, page 53、總複習 1W page 52**

中和 1 克油脂中游離脂肪酸所需氫氧化鉀的毫克數，稱為酸價(AV)。藉由酸價可了解油脂中游離脂肪酸之含量；游離脂肪酸含量愈高，油脂氧化反應就愈易進行。

- (1)精確秤取油脂樣品 5~10 g 置於 200 ml 三角瓶內，加入中性溶媒(乙醚酒精混合液) 100 ml

溶解，並加入酚酞指示劑 2~3 滴。

(2)以 0.1N 之 KOH 酒精溶液滴定（已知力價），滴定至溶液呈淡粉紅色且能保持 30 秒即為滴定終點。

(3)代入公式計算酸價。

(三)過氧化價 **命中特區--講義 3A, page 56、總複習 1W page 54**

過氧化價的測定係採用碘量法，即在酸性條件下，脂肪中的過氧化物與過量的 KI 反應生成 I₂，以 Na₂S₂O₃ 滴定生成的 I₂，求出每 1,000 g 油中所含过氧化物的毫克當量數，稱為脂肪的過氧化價(POV)。

藉由過氧化價之測定，可以了解油脂初期的氧化情形，初期氧化情形愈嚴重，过氧化物的含量愈高，油脂品質愈差。

(1)精確稱取油脂樣品 2 g 置於乾燥的 250 ml 三角量瓶，加入 20 ml 氯仿-冰醋酸混合液，輕輕搖動使油脂溶解。接著加入 1 ml 飽和碘化鉀溶液，搖勻，加塞，於暗處放置 5 分鐘。

(2)5 分鐘後取出立即加水 50 ml，充分搖勻，以 0.01N Na₂S₂O₃ 滴定至水層呈淡黃色，加入 1 ml 澱粉指示劑，繼續滴定至藍色消失，記下體積(V)。

(3)代入公式計算過氧化價

(四)硫巴比妥酸價 **命中特區--講義 3A, page 57、總複習 1W page 54**

脂質氧化裂解生成醛、酮、酸，尤其是丙二醛(malondialdehyde; MDA)能與硫巴比妥酸(thiobarbituric acid; TBA)反應，生成粉紅色之 TBA 色素，此 TBA 色素能在波長 532 nm 具有吸光值，故將油脂與 TBA 反應後，測定其在 532 nm 之吸光值，吸光值愈強，表示丙二醛類之酸敗生成物含量愈高。

由於 TBA 之反應專一性不夠，不僅丙二醛可與之反應，其他一些脂質過氧化生成物如醛、酮類等物質都可與之反應，因此這些與 TBA 反應之物質，統稱為 TBA 反應物(TBA reactive substances; TBARS)。

硫巴比妥酸價 反應需要：

- (1)樣品製備與反應
- (2)標準品做出標準曲線
- (3)空白試驗
- (4)代入公式計算出硫巴比妥酸價。

三、請簡述下列層析法的分離原理及用途：

(一)氣相層析法(Gas chromatography)(9 分)

(二)膠體過濾層析法(Gel filtration chromatography)(8 分)

(三)離子交換層析法(Ion exchange chromatography)(8 分)

【擬答】

(一)GC **命中特區--講義 2A, page 48、總複習 1W page 21**

色層分析(chromatography)簡稱層析。係一種分離技術。操作過程：利用含混合物之移動相(mobile phase)流經固定相(stationary phase)。分離原理機制：

1. 混合物中各成分在固定相和移動相之間的分配係數不同(即親和力不同)。

2. 各成分移動速率不同，而達到分離之目的。

* 若化合物與靜相親和力較強，則滯留時間長、沖提較慢。

* 若化合物與移動相的親和力較強，則滯留時間短、沖提較快。

氣相層析，是將待試樣品氣化，藉著另一攜帶氣體(carrier gas，如氮，氫，或氦)帶動，通過一個分離用的管柱，管柱中充填了固相的載體，在此固相的載體表面具有一層薄薄的液體，當試樣通過時，一方面氣相的攜帶氣體會帶動試樣往前行，但是載體上的液相薄層又會與試樣有相互吸引的拉力，一個化合物在管柱中行進的速度快慢則端視這兩種相反的作用力之淨值大小而定，不同的化合物其作用力之淨值可能不同，因此就會在行進速度上有所差異，導致分離。

有機會分離，並非代表一定可以分離，變換管柱中充填物可造成不同的分離效果。GC 儀器基本

上可分為四大部份：

- (1)注射器(injector)部份，
- (2)管柱(column)部份
- (3)偵檢器(detector)部份
- (4)記錄器(recorder)部份

注射器是用來將試樣注入，攜帶氣體帶著試樣通過管柱，試樣必須要氣化才能被攜帶，因此注射器的溫度通常設定在 250 °C 以上；管柱的功能為分離，流速為 10-30 mL/min；偵檢器提供我們試樣通過的訊息，常用熱導偵檢器(thermal conductivity detector, TCD)與火焰離子化偵檢器(flame ionization detector), FID)；記錄器則將偵測結果以書面方式表達出來

(二)凝膠層析 Gel Filtration Chromatography 命中特區--講義 2A, page 37

(1)原理：

凝膠層析又稱為分子排斥層析(molecules size exclusion chromatography, MSEC)、分子篩層析(molecules sieving chromatography) 或凝膠過濾層析法(gel filtration)，此層析法中移動相溶液、溶質及固定相間。

無相互吸附或作用，其分離溶質的特性是以溶質的分子大小模式來進行分離。

分子大的溶質，不能進入管柱中固定相顆粒中的孔隙，所以直接在填充的顆粒和顆粒之間的孔隙中通過，因此大分子的溶質會先行從管柱中流出。

顆粒夠小的溶質分子，可進入固定相顆粒的孔徑內，其流動的速率變慢，而且流動的路徑亦變長，因此較小的溶質分子會較慢被溶出。

(2)用途：

凝膠層析的固定相材料中，有分離橡膠和塑料的聚苯乙烯化工材料，是屬於較硬質的材料；而一般分析水溶性溶質，則以多聚醣的交聯葡聚醣為主，其孔徑之大小較大且用以分離水溶性溶質，如蛋白質、酵素、明膠等。由於此法的溶出條件並未使欲分析的溶質產生變性或失去其生物活性，因此常被利用分離具生理活性的酵素或蛋白質。

由於分析管柱中的可有效分配的體積有限，因此在溶質的濃度和移動相的溶液流速間需有效的控制，如溶質和溶液分配得當，溶質的溶出條件和其分子量大小（顆粒直徑）有對數的直線關係，因此可利用此線性關係來比對欲分析溶質的分子量或分子大小，一般分子量大者先被洗脫流出管柱。應用在低壓之凝膠管柱層析，除可分離蛋白質或酵素外，並可直接測定酵素活性及分析其蛋白質的濃度。

(三)離子交換層析 Ionic Exchanger Chromatography 命中特區--講義 2A, page 36

(1)原理：

離子交換可視為吸附層析的一種，固定相的載體為樹脂，鍵結有固定化的官能基，此官能基具有正電荷或負電荷，而正負電荷則決定欲交換的離子官能基為正電荷，則交換陰離子，稱為陰離子交換樹脂；如官能基為負電荷，則交換陽離子，稱為陽離子交換樹脂。

陽離子交換樹脂的官能基如為強酸型（如磺酸化團基： RSO_3^- ，則在 pH2 以上，其官能基團則為離子化狀態。而樹脂上鍵結強鹼的三級胺團基(R-NR_4^+)屬強陰離子交換樹脂，在 pH 10 以下其官能基均為離子化。

強酸或強鹼的離子交換樹脂在大範圍的 pH 上均具有正或負的離子化官能基團，因此受移動相的 pH 影響不大；而弱陽離子交換樹脂則含有弱酸型官能基團（如在 pH 4~10 有交換能力的羧基團： R-CO_2^- ），弱陰離子交換樹脂則含有弱鹼的一、二級胺團基，此弱陽離子及弱陰離子交換層析在溶質結合於官能基團上時，可藉由改變移動相的 pH 或增加移動相的離子強度，降低官能基團的離子電荷吸引力而溶出溶質。

(2)商品化用途：

離子交換樹脂有由二乙烯和苯乙烯交聯而成的聚苯乙烯，此類樹脂兼具不同顆粒大小及不同交聯程度的顆粒硬度，且經化學的衍生化得到具陽離子或陰離子的交換樹脂，此離子交換樹脂層析管柱並具有凝膠層析和離子交換的特性。另外，多醣體（如纖維素、甲殼素或凝膠之瓊脂糖）類離子交換樹脂具有較大的孔徑及低密度電荷，其 OH 基團可衍生結合強或弱的酸性或鹼性基

團，常被應用在大分子的蛋白質、核酸和脂肪酸及特殊藥物之分離。
目前發展出的自動化胺基酸分析儀，就是利用離子交換樹脂的方式分離胺基酸。

四、化學分析方法中常應用重量分析法(gravimetric analytical method)及容量分析法(volumetric analytical method)，試說明此兩種方法之意義。(10分)

【擬答】

(一)重量分析法 **命中特區--講義 1A, page 20**

1. 重量分析乃以測量質量為根據之分析方法。
2. 一般是使欲定量之成分成為可稱量之形態，再將其從其他成分中分離出來後以天平進行稱重，求得此定量成分在原試樣中所佔之百分比。
3. 重量分析所使用的分離操作方式，大致有：沉澱法、電解法、揮發法以及萃取法四種，而沉澱法是最常使用之方法。

重量分析一般操作程序：

1. 先稱取一定量之試樣，並記載樣品為何種狀態下所得之重量。
2. 配製試樣溶液：將試樣溶解於水、酸或其他溶媒成為溶液。若不易溶解時，可先使其溶解後再溶解之。常用之溶劑有碳酸鈉(Na_2CO_3)、硫酸氫鈉(NaHSO_4)、氫氧化鈉(NaOH)等。
3. 沉澱處理：以沉澱法而言，使欲定量之成分完全沉澱是最重要的關鍵。操作時須注意：
 - (1) 溶液之氫離子濃度、pH 值應適當，否則無法得到定量之沉澱；
 - (2) 沉澱劑之添加，應添加至較當量略高之量，但為避免浪費和增加實驗誤差，亦不可添加過量；
 - (3) 為使沉澱粒子體積變大、減少不純物質之吸附、使用過濾後即容易洗滌，一般會於添加劑加入後加溫，提高溶液溫度；沉澱物一般是以過濾方式使其和母液分離，並以少量多次之洗滌方式洗去殘留之母液。
4. 沉澱物之灼熱與稱量：沉澱物之灼熱，在重量分析過程中非常重要，操作時須注意各種化合物之不同灼熱溫度。此操作是將已乾燥之沉澱物，經最後步驟之灼熱與稱量。若沉澱物是以濾紙過濾處理時，沉澱物則需移至磁製或金屬製之坩鍋內加熱，以去除沉澱物中之水分，使其重量達到恆重；同時，亦可藉由加熱使其發生化學變化，進而轉變成為另一種化合物後進行稱重。將灼熱後之沉澱物移至玻璃乾燥器內，經冷卻至室溫後稱重，即可計算出欲定量之成分在原試樣中所佔的百分比。

(二)容量分析法 **命中特區--講義 1A page 11**

1. 定義：
以預先調製正確已知濃度的試劑溶液（一般稱為標準溶液(standard solution)，需準確標定其當量濃度）滴入試樣溶液（內含欲定量的物質，並添加適當指示劑(indicator)）中，直到反應完全的滴定終點(end point of titration)為止，從其完成反應所消耗掉的試劑溶液體積，計算出試樣中物質含量的方法。容量分析比重量分析應用更廣泛。
2. 滴定終點 (end point of titration)
係指標準溶液與待測物二者之化學當量相等，例如酸鹼中和滴定中，酸的當量數等於鹼的當量數。達到滴定終點時，需要靠指示劑顏色的變化、出現或消失，也可以用伏特計、安培計、比色計、折色儀來偵測。
3. 容量分析的操作
操作時一般是將待測的試樣溶液放置於三角錐瓶之中，再加入適當之指示劑(indicator)，而後以裝於滴定管內的試劑溶液進行滴定，直到反應完成。依反應的種類大致可將容量分析分為酸鹼滴定、氧化還原滴定、錯化合物滴定等。雖反應種類不相同，但在操作及注意事項卻有其共通性。

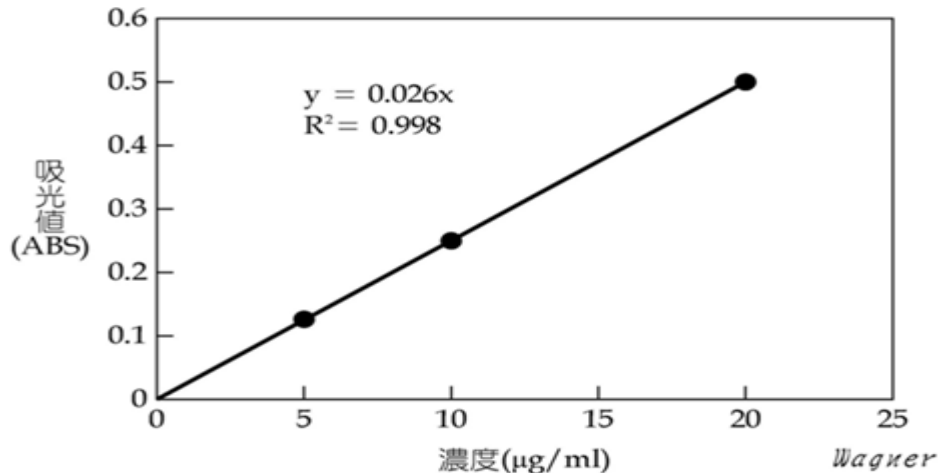
五、試解釋下列各名詞：(每小題 5 分，共 20 分)

- (一)標準曲線法(standard curve method)
 (二)變異係數(coefficient of variation)
 (三)乾量基準(dry basis)
 (四)容積莫耳濃度(molarity;M)

【擬答】

(一)標準曲線圖 **命中特區--講義 2A, page 14-15, 講義 3A, page 15**

定量分析與實驗時，會以已知不同濃度的標準物質做出標準曲線圖，例如在 540 nm 吸光下的數值，以不同濃度作為 X 軸，吸光值為 Y 軸，建立一標準曲線圖(standard curve)與其直線方程式，如圖。再由待測樣品之吸光值及直線迴歸方程式測出待測樣品的濃度。



例如在同樣的條件下(即波長 540 nm)下分析待測樣品，其吸光值的結果假設為 0.412，之後，將 $y=0.412$ 代入直線方程式中，計算求出 x 值的結果為 15.85 ($\mu\text{g/ml}$)，即為待測樣品濃度。

直線迴歸法求得下列方程式： $Y=aX+b$ a ：斜率； b ：截距

標準曲線：用於各種物質的定量，例如水活性分析、黃麴毒素、順丁烯二酸、塑化劑、蛋白質定量、吸光光度計法、比色法、GC、電泳、HPLC、TLC、層析法等。

(二)變異係數 **命中特區--講義 1A, page 31-32, 總複習 1W, page 15**

變異係數(Coefficient of variance, CV)為標準偏差除以測定之平均值，如下式，利用 CV 大小可以瞭解標準偏差，CV 越小表示重複結果的精密度越高。一般而言，CV 應小於 5%才可接受。

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{X}} \times 100\%$$

(三)乾重基準 (dry basis) **命中特區--食化講義 1A, page 8**

乾量基準(dry basis)是食品中水分含量的表示法之一，簡稱乾基，每 1 Kg 乾燥食品所含有的水分含量 (Kg)。乾量基準(簡稱乾基)含水率(dry basis moisture content)以每公斤食品乾物中所含水量表示(水重/乾物重的比值)

乾基含水率 (MC dry basis)與濕基含水率(MC wet basis)的轉換如下：

$$MC_{\text{dry basis}} \left(\frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg D.M.}} \right) = \frac{MC_{\text{wet basis}} (\%)}{100 - MC_{\text{wet basis}} (\%)}$$

四容積莫耳濃度 molarity **命中特區--講義 1A, page 8**

容積莫耳濃度 molarity, M

定義為每公升溶液中所含溶質的莫耳(mole)數,又可簡稱為莫耳濃度,簡記為 M,其公式表示為:

$$M = \frac{W \text{ solute}}{M \text{ solute}} \times 100 = 1 \text{ 公升溶液中所含溶質的莫耳數}$$

V solution (公升)

W solute = 溶質的重量

M solute = 溶質的分子量

V solution = 溶液的體積 (以 1 公升為基準)

※配製時一般是先以一些溶劑將溶質溶解後,再加溶劑定容至一定之體積。

