

## 103 年第二次專門職業及技術人員高等考試 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、請說明下列方法的測定原理並說明優缺點。

(一)以雙縮脲比色法定量蛋白質。(10分)

(二)以酚-硫酸法測定醣類化合物。(10分)

【擬答】

**命中特區：詳見本班講義 103-2 食品分析檢驗 P121, P123, P132**

(一)雙縮脲比色法原理：**命中特區：詳見本班講義食品分析檢驗 P121 & P123**

雙縮脲試劑(Biuret reagent)是氫氧化鉀、硫酸銅與酒石酸鉀鈉的組成溶液，呈藍色，在蛋白質存在下，銅離子在鹼性溶液中，會與蛋白質勝肽鏈上的-CONH基結合，生成紫色的複合物，在A540 nm有吸光值；在三勝肽或者短鏈多勝肽鏈存在下，生成粉紅色的複合物。在鹼性的環境之下，雙縮脲會與硫酸銅結合為紫紅色的化合物；另外當化合物中含有二個或二個以上的勝肽鍵時，在鹼性的環境之下，亦會與硫酸銅鹽類產生紫紅色化合物。

優點：(1)省時 (2)快速測定

缺點：(1)敏感度較低0.005~2 mg/ml (2)需≥2以上勝肽才可測出  
(3)脂肪含量高樣品準確度低 (4)受到硫酸銨與TRIS的干擾

(二)以酚-硫酸法原理：**命中特區：詳見本班講義 103-2 食品分析檢驗 P132**

酚-硫酸法是利用多醣在硫酸的作用下先水解成單醣，並迅速脫水生成醣醛衍生物，然後與苯酚生成橙黃色化合物。再以A<sub>490</sub>比色法測定。乾燥樣品中醣類被濃硫酸氧化為醣醛，加入酚溶液加熱，冷卻後呈橙黃色，在波長490 nm測定吸光值。

優點：(1)用以測定單醣、寡醣及多醣混合之總醣量 (2)呈色上具有安定性 (3)對五碳醣的反應較六碳醣迅速。

缺點：(1)一般用於定性 (2)無法確定是單醣、寡醣或多醣 (3)硫酸具腐蝕性

二、下列方法可作為油脂氧化品質指標，請說明原理和優缺點。

(一) 折射率(refractive index)。(10 分)

(二) 羰基價(carbonyl value)。(10 分)

【擬答】

**命中特區：詳見本班講義 103 食品化學 P128, P140**

(一) 折射率(refractive index, R)：

定義折射率：油脂的折射率為光波在參考介質(真空)中的波速(C)，與在油脂中波速(v)的比值， $R = C / v$ 。在40°C時，食用油脂的折射率約為1.448~1.474，依脂肪酸種類的不同而異。當脂肪酸的碳鏈長度與不飽和度增加時，折射率會提高，故可利用折射率的變化與油脂的氫化反應，藉其了解氫化程度，供各類產品加工利用。

優點：(1)快速 (2)省時 (3)利用折射率測定脂肪酸的碳鏈長度與飽和度

缺點：(1)需有儀器設施 (2)需有標準品

(二) 羰基價 (carbonyl value)。(10 分)

羰基價 (carbonyl value, CV) 是指油脂酸敗時產生的含有醛基和酮基的脂肪酸或甘油酯及其聚合物的總量。CV測定乃利用酸敗油脂中所含有的醛、酮化合物，其可與2,4-二硝基苯肼(2,4-dinitrophenyl hyrazine)作用產生黃色到橘紅色物質，藉此測定油脂中的羰基量，進而判定油脂酸敗的程度。

優點：直接定油脂酸敗的程度

缺點：無法判斷初期或後期的氧化酸敗

三、何謂解離度(Resolution)？請以高效液相層析為例說明影響解離度的三個主要因素，並說明其影響為何？(20 分)

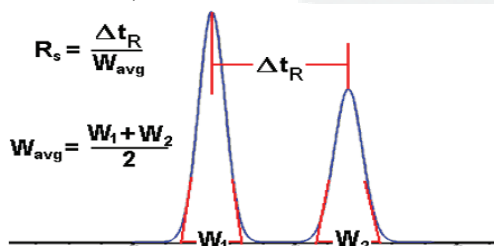
【擬答】

103-2 食品分析檢驗 P76-80

解離度(Resolution,  $R_s$ ) 也稱解析度定義：

相鄰二種組成分之層析峰線滯留值之差異值與二種組成分之層析峰線底寬總和一半之兩者比值。最大化是任何層析想要達成之目標。

例如樣品混合物含 A 及 B 二成分，注入固定相管柱頂端，藉著流動相的移動，將樣品混合物分配成二相 A 及 B 的層帶 (band)，A 及 B 二成分波峰分開解離的程度稱為解離度 (Resolution,  $R_s$ )或解析度。



高效液相層析法是一種有效的物理分離分析方法，它根據試樣混合物中各成分在不互溶的兩相（固定相與流動相）中的吸附能力、分配係數、或其他親和作用之性能的差異，配合惰性氣體高壓力高流速下使其流速不同，作為分離的依據。

影響解離度的三個主要因素：1. 分配係數 2. 容量因子 3. 選擇因子

四、食品中礦物質的測定常會使用到火焰式原子吸收光譜法(Flame atomic absorption spectrometry)，請說明此法的測定原理及優缺點。(20分)

【擬答】

**命中特區：詳見本班講義 103-2 食品分析檢驗 P58**

火焰原子化原理：

當樣品進入了氣態燃料與氧化劑氣體混合所產生的火焰中，原子化的步驟即開始進行。首先溶解樣品的溶劑被蒸發去除後，樣品經火焰加熱後，從固態或液態型式蒸發變成氣態，之後大部分氣態化合物再進一步分為小分子或原子，少部分原子會再分解成離子。原子化後經分光區，在進入光電倍增管偵測器進行吸光直數據處理。

在火焰原子化中，燃料與氧化劑的組合與燃燒速度都是影響原子化程度之因子。

優點：(1)準確度高 (2)精密度高 (3)偵測極限低 (4)特異性高

缺點：(1)儀器設備較貴 (2)需要特殊礦物質的中空陰極管 (3)需要非常高溫 (4)成本高

五、何謂理論板數等量高度(height equivalent to theoretical plate; HETP)？請以氣相液態層析法為例說明影響 HETP 的三個主要因素，並說明其影響為何？(20分)

【擬答】

**命中特區：詳見本班講義 103-2 食品分析檢驗 1W P88**

平板理論將層析管柱比喻為一座精餾塔，借用精餾塔中的平板概念與理論來處理層析過程，並使用理論平板數作為衡量管柱效率的一種指標。

平板高度一般稱為理論平板相當高度 HETP (height equivalent of theoretical plate) 簡稱平板高度。每單位管柱長度的變異值來定義管柱效率，而管柱效率通常用平板高度表示。平板高度 (plate height) H 可定義為： $H = L/N$

其中 L 為管柱填充之長度（單位為厘米，cm）。N 為管柱的理論板數 (number of theoretical plate)。

$$N = 16 (T_R/W)^2 \text{ \& } H = LW^2/16 T_R^2$$

假若 L 管柱填充之長度增加，則滯留時間( $T_R$ ) 也增加。

一般的層析管柱效率隨平板數 N 的增加及平板高度 H 的減少而增加。

由於管柱型式、流動相及固定相之不同，層析管柱的效率有很大的差異。以平板數表示的效率值，可由數百至數十萬不等。平板高度範圍由數十分之一至數千分之一厘米。

HETP 的三個主要因素：

1. 理論平板數(N)
2. 波峰寬(W)與滯留時間( $T_R$ )
3. 管柱填充之長度 (L)