

# 107 年專門職業及技術人員高等考試第二次食品技師考試

類 科：食品技師

科 目：食品分析與檢驗

一、請舉例詳細說明外標準品校正法 (external standard standardization) 與內標準品校正法 (internal standard standardization) 之區別及使用之時機。(20 分)

【擬答】100%來自北志聖食品分析與檢驗 B01, p 56-57

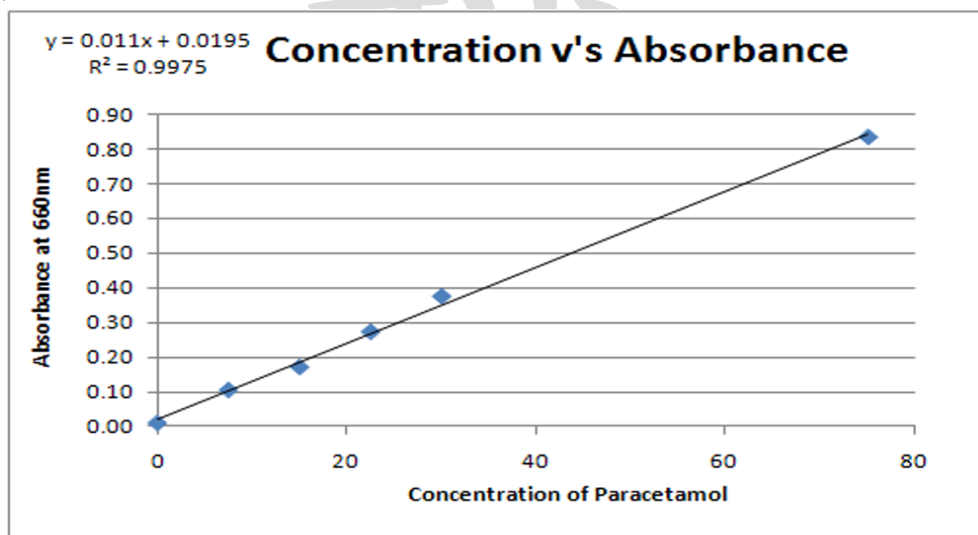
## (一)外標準法與其標準曲線 (External standard curve)

外標準法：以所要定量的樣品標準品作系列稀釋，但注意樣品的濃度要在這些標準品的稀釋範圍內。在相同的分析條件下，將上述標準品稀釋液做同樣的吸光光度計分析，以縱座標吸光值對應於橫坐標(不同濃度的標準溶液)做出標準曲線圖(standard curve)。將不同濃度標準品所得的積分面積(X)與其濃度(Y)作直線迴歸  $Y=aX+b$  方程式，由 Y 吸光值即可算出樣品溶液的濃度 X。

外標法也稱為標準曲線法。

其特點及要求：

1. 操作條件變化對結果準確性影響較大。
2. 對進樣量的準確性控制要求較高。
3. 優點簡便快速



## (二)內標準法 (internal standard method)：

內標準法簡稱內標法，係稱取一定重量且物質與樣品相似的某純物質作為內標準物，加入至已知重量的樣品中，混合均勻後成分注入管柱中進行分析。

根據樣品及內標準物的重量和峰面積，可求出待測定成分之含量。

內標物要滿足以下要求：

- (1) 試樣中不含有該物質；
- (2) 與被測組成分性質比較接近；
- (3) 不與試樣發生化學反應；
- (4) 滯留時間應位於被測組成分附近，且無組成分波峰影響。

二、關於油脂之碘價 (iodine value)，請說明其定義為何？測定碘價常使用威治氏法 (Wijs method) 之原理為何？及此項滴定以澱粉為指示劑，其加入之時機為何？為什麼？(20分)

【擬答】100%來自北志聖食品分析與檢驗 B01, p 175-176

1. 碘價 (Iodine value)

100 克油脂進行碘加成反應，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 (iodine value, 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，碘價亦可測知油脂不飽和程度 (雙鍵數)，雙鍵數越多，IV 值越大，當油脂氫化，IV 值下降。

2. 測定碘價常使用 威治氏 WIJS 法，原理如下：

氯化碘溶液 (威治氏 WIJS 液)：氯化碘法，為 ICl + 冰醋酸，用於測定 IV。

屬於以 Wijs 法測定待測樣品吸收碘的質量的方法，並以每 100 g 脂肪酸甲酯所吸收碘之克數表示測定結果。吸收的碘以硫化硫酸鈉溶液滴定，以澱粉為指示劑，同時做空白試驗，由滴定量求出碘價。

將碘 13 克溶於 1 L 冰醋酸 (特級)，以吸管吸取 10 ml，再以 0.1N 硫代硫酸鈉標準溶液滴定求其濃度。然後於剩下的碘溶液中通入精製乾燥的氯氣，當液體從暗褐色急變為橙紅色時，即停止通入氯氣。再用吸管吸取 10 ml，加入 10ml 之 10% 碘化鉀溶液，再加入蒸餾水 100 ml，充分攪拌，以 0.1N 硫化硫酸鈉溶液滴定，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。

碘價計算法：

$$\text{碘價(IV)} = \frac{(b - s) \times F \times 0.01269}{S} \times 100$$

b：空白試驗之 0.1N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  溶液的消耗量(ml)

s：本試驗樣品之 0.1N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  溶液的消耗量(ml)

0.01269：0.1N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  1 ml 相當於碘之 g 數

S：油脂樣品稱取量(g)

F：0.1N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  溶液的力價

3. 澱粉指示劑加入的時機：以 0.1N 硫化硫酸鈉溶液滴定，滴定至溶液呈淡黃色時，才加入數滴澱粉指示劑搖晃。澱粉指示劑加入後，反應溶液呈深藍色，繼續以硫化硫酸鈉滴定，充分振盪，滴定至澱粉藍色消失時即為滴定終點。

三、請詳述高效能液相層析-質譜儀 (HPLC-MS) 中，電噴灑游離法 (electrospray ionization, ESI) 及大氣壓力化學游離法 (atmospheric pressure chemical ionization, APCI) 離子化之機制。此兩種游離法何者適用於大分子化合物 (如蛋白質) 之分析？為什麼？(20分)

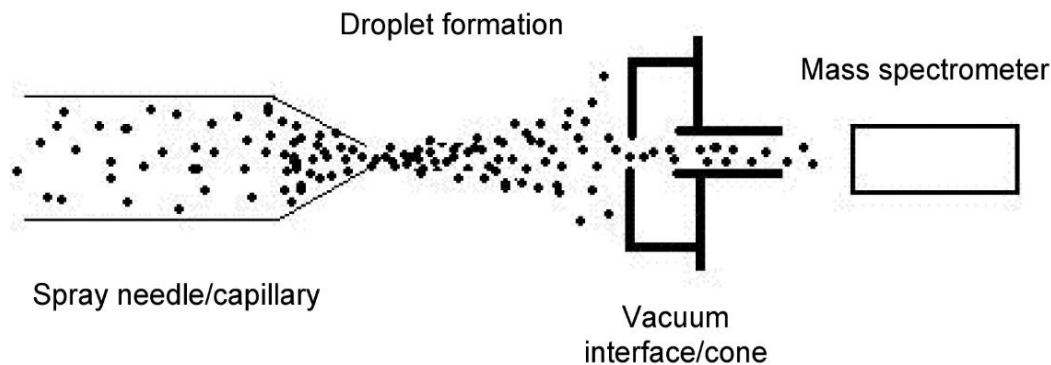
【擬答】來自北志聖食品分析與檢驗 B01, p 67-74

質譜法是利用適當的離子化方法，使試樣游離成帶正電或負電的離子，再以質量分析器 (mass analyzer) 分離不同質荷比 (mass to charge ratio, m/z) 的離子，並由偵檢器偵測不同 m/z 值離子之強度，以得到有關化合物分子量與結構訊息之質譜圖。質譜分析之首要步驟為試樣之離子化，應用之試樣範圍則隨使用之離子源而定，大氣壓下游離法為一種能在大氣壓下使待測物游離的方法。在大氣壓下游離法中，電噴灑游離法及大氣壓下化學游離法為兩種最重要的游離方法。比較電噴灑游離法 (electrospray ionization, ESI) 與大氣壓力化學游離法 (atmospheric pressure chemical ionization, APCI)，如下。

1. 電噴灑游離法 (electrospray ionization, ESI)

這是將液態樣本轉化成氣態離子的基本方法。經由高電壓與高速氣體的噴灑作用，流注的溶液變成許多微細的液滴。這些帶有電荷的液滴在電場的引導下，進入質譜儀的前開口，在高熱與真空的狀態下，液滴內的溶劑會逐漸蒸發掉。隨著液滴的體積縮小，其表面電荷密度便逐漸增加。這些電荷因距離縮短而斥力增加，使得帶電的胜肽被迫離開液滴，隨電場而進入質譜儀的內部。在 ESI 作用下，胜肽與蛋白質常帶有多個電荷。一般而言，長度

越長所帶的電荷越多。大部分的胜肽與蛋白質的質荷比 ( $m/z$ ) 皆落在類似的範圍內。



## 2. 大氣壓力化學游離法 (atmospheric pressure chemical ionization, APCI)

大氣壓力化學游離法 (APCI)：APCI 中，一開始的裝置與 ESI 類似，有一  $N_2$  流幫助溶液霧化。但與 ESI 不同的是，APCI 在進行離子化之前設置了一個加熱區，先將樣品汽化，產生液體噴霧後，再透過一高電壓 ( $\sim 6000\text{ V}$ ) 的放電針 (corona needle)，使得分析物可在常壓下被游離成離子。隨後通入  $N_2$  作為反應氣體 (reagent gas)，進行化學游離。APCI 特點是：(1)與 ESI 不同，使用 APCI 所產生的分析物離子只帶單一電荷。(2)可量測的質量上限  $< 1000$ ，而且由於不能產生足夠的碎片，而且質量分析器所能測到的  $m/z$  也有上限，所以 APCI 不適合用來測大分子。(3)APCI 所需要的分析物揮發性，較 ESI 來的高；亦即，APCI 較適用於極性小的分析物。這是因為 ESI 的分析物在霧化時就已帶電荷，而 APCI 的分析物在霧化後並未帶電荷，而是須先變成氣相之後，透過放電針而帶電。由於 APCI 不是透過高能電子直接撞擊樣品，所以轉移給樣品的能量不會太多，樣品所獲得的能量較低，而且產生的質子化離子  $MH^+$  較分子離子  $M^+$  穩定。所以與 ESI 相比，APCI 是傷害比較小的離子化方式，產生的碎片比率較低。

## 3. 電噴灑離子化 (electrospray ionization, ESI) 適用於大分子化合物(如蛋白質)等生化大分子的重要技術。電噴灑過程中，生化大分子會形成多電荷之離子，可降低分子離子之質荷比 ( $m/z$ )，使不致超出質量分析器之檢測極限。

在 ESI 作用下，胜肽與蛋白質常帶有多個電荷。一般而言，長度越長所帶的電荷越多。大部分的胜肽與蛋白質的質荷比 ( $m/z$ ) 皆落在類似的範圍內。

四、某食品分析技師以紫外光-可見光分光光度計 (UV-Visible spectrometer) 測定蜜餞樣品中苯甲酸 (benzoic acid) 之含量，取 10.0g 樣品經二次蒸餾獲得 15mL 之蒸餾液，置入 50mL 定量瓶 (volumetric flask) 中，以 0.01M NaOH 溶液稀釋至刻度，再以分光光度計於 225nm 處測得空白試液之吸光度為 0.01。另外以每 1mL 分別含有 2.0、4.0、6.0、8.0 和 10.0 $\mu\text{g}$  苯甲酸之標準溶液測得其檢量線 (calibration curve) 之方程式為  $y=0.05x+0.01$ ，其中  $y$  為吸光度； $x$  為濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )。請計算每公斤密件樣品中所含苯甲酸之毫克 (mg) 數。(20 分)

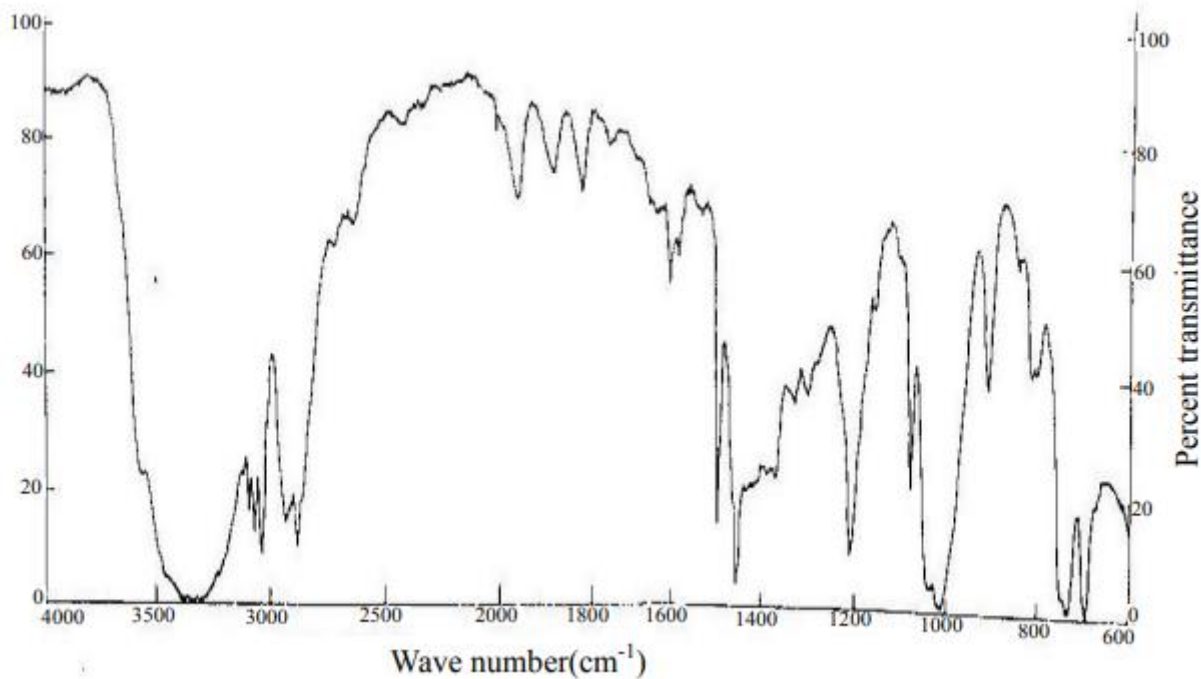
【擬答】100%來自北志聖食品分析與檢驗 B01, p 54-56

- 由操作知，蜜餞樣品 10 g 萃出 15 mL，分析時樣品稀釋 50ml/15 ml = 3.3334 倍
- 由實驗外標準法得知， $y$  為吸光度 (縱作標)， $x$  為濃度 (橫作標，分別是 2.0, 4.0, 6.0, 8.0  $\mu\text{g/mL}$ )。
- A225 吸光值 (減去空白試驗，只有 0.01 M NaOH 溶液):  $0.37-0.01 = 0.36$
- 代入迴歸直線方程式  $y = aX + b = 0.05x + 0.01$   
 $0.36 = 0.05x + 0.01$   
 $0.05x = 0.35$   
 所以  $x = 7\ \mu\text{g/mL}$

因為樣品稀釋 3.3334 倍，所以 10 公克蜜餞樣品含  $7\ \mu\text{g/mL} \times 3.3334 = 23.3338\ \mu\text{g}$ 。因此一公斤蜜餞樣品含苯甲酸  $23.3338 \times 100 = 2333.38\ \mu\text{g} = 2.3338\ \text{毫克}$ ，相當於 2.3338 ppm 苯甲酸。

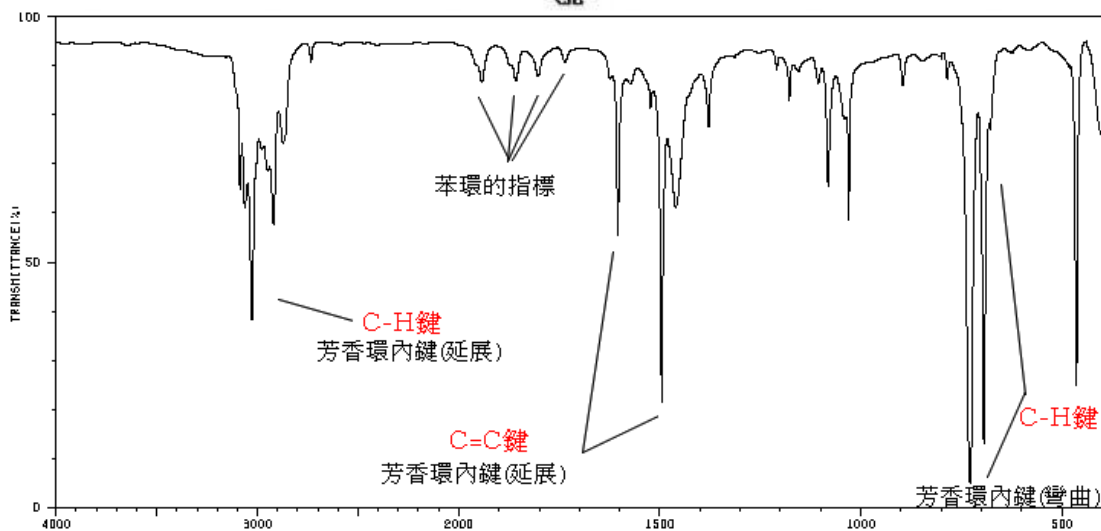
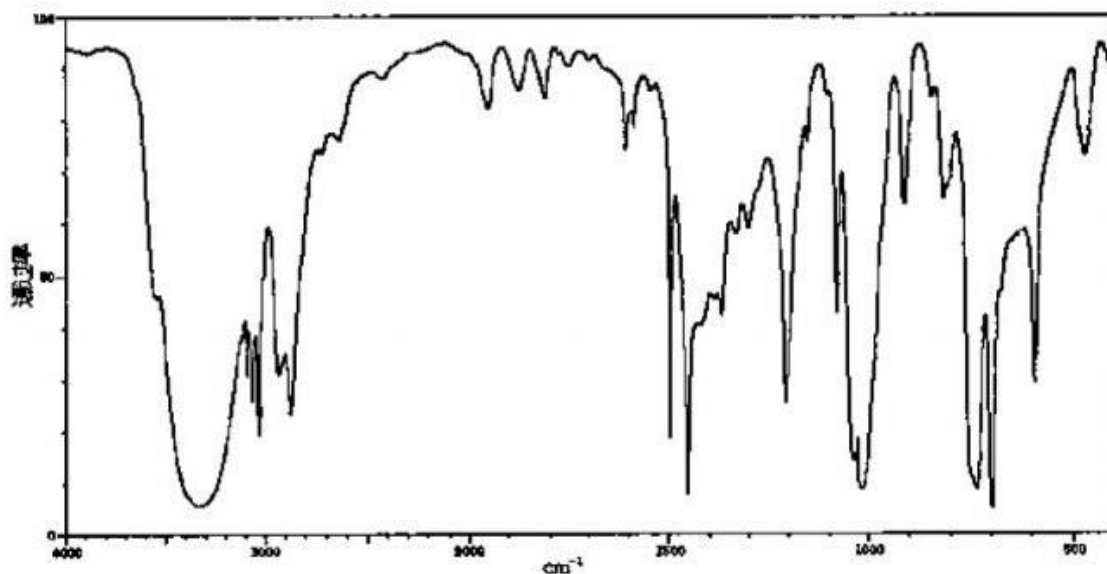
公職王歷屆試題 (107 專技高考)

五、下圖所示為某化合物之紅外線光譜圖。已知此化合物之分子式為  $C_7H_8O$ ，請解析此化合物之結構式。(請務必寫出此結構式之解析過程，而非只畫出此化合物之結構式) (20 分)



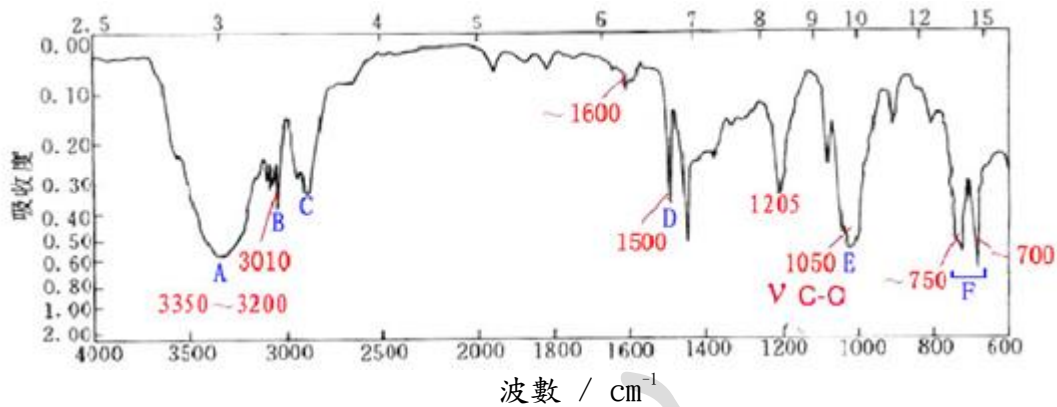
【擬答】來自北志聖食品分析與檢驗 B01, p 48-50

有機化合物  $C_7H_8O$  為防腐劑苯甲醇，其紅外線光譜 IR，如下。



苯甲醇  $C_7H_8O$  的有機紅外線圖譜分析 IR，如下。

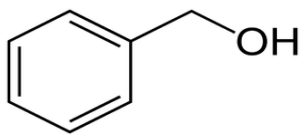
波長 /  $\mu\text{m}$



苯醇的紅外線光譜：

A: 縮合的 O-H 伸縮振動, B: 芳香環上 C-H 伸縮振動, C: 亞甲基的 C-H 伸縮振動, D: 芳香環上 C=C 伸縮振動, E: C-O 伸縮振動, F: 芳香環上 C-C 與 C-H 彎曲振動。

防腐劑苯甲醇  $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$  的結構式為：



公職王