

111 年專門職業及技術人員高等考試第二次食品技師考試試題

類別：高等考試

類科：食品技師

科目：食品分析與檢驗

一、稀釋的次氯酸水可用於清洗食器但不適合以加熱進行有效殺菌的生鮮即食蔬果，使用時須經充分的清水漂洗以避免殘留，最終食品中殘留的總有效氯含量需低於 1ppm，方符合規範。請說明如何測定食品中的總有效氯含量。(20 分)

【擬答】

- (一)水中餘氯檢測方法為採用分光光度計法進行檢測。水樣加入磷酸緩衝液溶和 N,N-二乙基-對-苯二胺 (N,N-diethyl-p-phenylenediamine, 簡稱 DPD) 呈色劑後，水中之自由有效餘氯可將 DPD 氧化，使溶液轉變為紅色，立即以分光光度計在波長 515 nm (或其他特定波長) 處量測其吸光度。
- (二)若於前述反應溶液中再加入多量碘化鉀，則水中之結合餘氯可將碘化鉀氧化而釋出碘，碘再氧化 DPD，使溶液之顏色加深，再以分光光度計在波長 515 nm (或其他特定波長) 處量測其吸光度。以同一檢量線分別求得自由有效餘氯和總餘氯之濃度，二者之差即為結合餘氯之濃度。

標準曲線

- (一)取 10.0 mL 高錳酸鉀儲備溶液 (891 mg/L)，以試劑水稀釋至 100 mL。取 0.1 至 8 mL 前述稀釋液，再以試劑水稀釋至 200 mL；配製含一個空白和至少五種濃度的高錳酸鉀檢量線標準溶液，其範圍約為 0.0446 至 3.56 mg/L，大約相當於 0.05 至 4 mg/L 之氯原子。
- (二)於 250 mL 三角燒瓶中，依次加入 5 mL 磷酸鹽緩衝溶液、5 mL DPD 呈色劑及所配製高錳酸鉀標準溶液 100 mL，使均勻混合並呈色，以分光光度計在波長 515 nm (或其他波長) 處測其吸光度。
- (三)將測定液倒回三角燒瓶中，立即以 FAS 溶液 滴定至紅色消失，計算相當於氯之濃度 (mg/L)。以吸光度對應相當於氯之濃度 (mg/L)，製備標準曲線。

$$\text{相當於氯之濃度}(\mu\text{g/mL}) = \frac{C \times V}{50(\text{mL})} \times \frac{158}{5} \times \frac{1}{0.891} \times 1000$$

C：硫酸亞鐵銨溶液之濃度(M)

V：硫酸亞鐵銨溶液之滴定體積(mL)

水樣測定

(一)檢液之調製

取檢體約 3 g，精確稱定，置於 50 mL 離心管中，加入去離子水 30 mL，輕搖 30 秒，上清液經濾膜過濾後，供作檢液。

(二)含量測定：

精確量取檢液 10 mL，置於 15 mL 離心管中，依次加入磷酸鹽緩衝溶液 0.5 mL、DPD 呈色液 0.5 mL 及碘化鉀 0.1 g，混合均勻，靜置 2 分鐘，經濾膜過濾後，於波長 515 nm 測定其吸收值，並依下列計算式求出檢體中總有效氯之含量：

$$\text{檢體中總有效氯之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中氯之濃度($\mu\text{g/mL}$)

V：萃取檢體之去離子水體積(30 mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

二、膠體金 (immune colloidal gold) 免疫層析技術常用於食品中動物用藥或農藥殘留之快速篩檢，請說明膠體金標記的呈色原理，並說明一般快篩試劑的組成及使用方式。(20 分)

【擬答】

(一)膠體金標記的呈色原理

膠體金為一種紅色奈米大小，在還原劑作用下，可聚合成一定大小的金顆粒，形成帶負電的疏水膠溶液。由於靜電作用而成為穩定的膠體狀態，故稱膠體金。膠體金之標記技術，為利用蛋白質等高分子被吸附到膠體金顆粒表面之包埋過程。原理為膠體金顆粒表面負電荷與蛋白質的正電荷基團因靜電吸附而結合。以還原法可以從膠體金製備各種不同粒徑，亦即不同顏色的膠體金顆粒。此球形的粒子對蛋白質有很強的吸附功能，可以與毒素、免疫球蛋白、糖蛋白、酶、抗生素、激素、牛血清白蛋白等以非共價鍵之結合。

(二)快篩試劑的組成及使用方式

快篩試劑內含的試紙可依序為檢體層、膠體金抗體層、纖維膜與吸收層。原理使用相似於抗體連結免疫法 (ELISA) 的原理，待測樣本流經反應區，此反應區中有能辨識待測目標之抗原/抗體，當樣本流經反應區，待測目標被捕捉，最後利用膠體金進行呈色反應。

三、請比較說明傳統聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)、反轉錄聚合酶連鎖反應 (reverse transcription PCR, RT-PCR) 及定量聚合酶連鎖反應 (quantitative PCR, qPCR) 三者之差異。(20 分)

【擬答】

(一)聚合酶連鎖反應(PCR)為用以快速擴增 DNA 片段的方法，利用一種人工和反覆相同程序的方法，並利用一種特殊的酶—即耐熱性 DNA 聚合酶來擴增特定的 DNA 片段。原理包括三個重複進行的步驟：三個重複步驟形成一個循環。由新合成的 DNA 片段亦可做為下一循環的模板 DNA，每一循環以 2^n 放大，在重複進行超過 25 個循環後，將可至少獲得約 225 或 106 倍的擴增效率。如此大量的 DNA 擴增片段(PCR 產物)，便可以 DNA 電泳(DNA electrophoresis)來進行確認與分離純化。

1. 變性(denaturation)：利用加熱的方式，一般為 95°C 加熱 1 分鐘，將欲擴增片段的雙股 DNA 模板(template)分開成單股。
2. 黏合(annealing)：自動降低反應溫度到 $42\text{-}50^{\circ}\text{C}$ ，2 分鐘，使已知序列的 DNA 引子(primer)黏合至特定互補序列的單股 DNA 模板上。
3. 延伸(extension)：利用耐熱性 DNA 聚合酶例如 Taq DNA polymerase 自引子的 3'-端進行 DNA 複製，合成新的雙股 DNA。此階段的作用溫度是以 DNA 聚合酶的最適反應溫度為主，一般為 72°C ，2 分鐘。

(二) Reverse Transcriptase PCR 技術原理為將一段待測的 RNA 序列經反轉錄酶的作用轉錄成 cDNA，再利用 PCR 技術將基因片段以幾何級數倍增的方式增加到數十萬倍，形成 PCR 基因產物化學作用後，進一步與 DNA 進行嵌合作用，經紫外燈照射時後，發生螢光現象，即在電泳膠片上會呈現具有特定分子量的 PCR 基因片段的產物。

(三) Quantitative polymerase chain reaction 是藉由 PCR 擴增原理將 DNA 放大的同時並達到即時

公職王歷屆試題 (111 專技高考)

定量之結果，螢光染料標記在一段可與單股 DNA 模板進行專一性雜交的探針（如 SyBR green 或 TaqMan probe）上，技術利用專一的 Primer probe(引子探針)會在 PCR(聚合酶連鎖反應)過程中產生螢光，再利用螢光偵測系統來偵測每個循環(cycle)所釋放出的螢光量，進而推算出每個循環所產生的產物含量，達到即時定量的目的。

傳統 PCR 的方法是基於偵測目標物在反應前及 PCR 後產物的量化關係，越早探測到指定螢光值表示目標基因組越多。qPCR 優點為結果可以較快取得且穩定，因為是採用易於判讀的螢光反應，不需要再繼續處理 PCR 反應後的偵測，可以快速得到判讀的結果。

四、酵素聯結免疫吸附分析法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 常用於食品中蛋白質抗原的快速篩檢，請列出間接三明治 ELISA 法 (indirect sandwich ELISA) 之檢測步驟，並以此說明檢測原理，並說明間接三明治 ELISA 法相較於直接固定抗原的直接 ELISA 法 (direct ELISA) 其優勢何在？(20 分)

【擬答】

- (一)直接法 (direct ELISA)為利用抗原抗體之間專一性鍵結之特性，對檢體進行檢測的分析方法；由於結合於固體承載物(塑膠孔盤)上的抗原或抗體仍可具有免疫活性，配合酵素呈色反應，即可顯示特定抗原或抗體是否存在，並可利用呈色的深淺進行定量分析。
- (二)三明治法 (Sandwich ELISA)為檢測大分子抗原常用的方法，原理利用兩種抗體對檢體中抗原進行兩次專一性辨認，亦為利用兩種抗體針對待測抗原進行專一性辨識，此方法需要足夠的空間進行抗體抗原之結合作用，不適合應用於半抗原或小分子之標的抗原。三明治法分別以兩種抗體對檢體中的抗原進行兩次專一性辨認，相較於直接 ELISA 法，三明治法 (Sandwich ELISA)專一性相當高。

五、請說明感應耦合電漿光發射光譜儀 (inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, ICP-OES) 之測定原理及組成元件，並說明可能干擾分析之因素。(20 分)

【擬答】

感應耦合電漿原子放射光譜儀，Inductively Coupled Plasma (ICP-OES) 原理為將樣品前處理至均相之液體後，在將樣品經進樣系統導入高溫之原子化器 (plasma)，樣品經高溫氣化後，樣品蒸氣 (火焰) 中的基態原子吸收能量，外層的電子產生躍遷，從低能態躍遷到高能態，成為激發態原子。激發態原子不穩定，當回到基態時，能量以熱或光的形式輻射出來，成為發射光譜，測出發射光波的強度，求出樣品中待測元素的能量。ICP 光源是由高頻感應電流產生的類似火焰的激發光源。儀器主要由高頻產生器、電漿炬管、霧化器等三部分組成。

干擾因素包括：

(一)光譜干擾

光譜干擾可分為不同元素光譜的重疊、分子光譜無法解析的重疊、由光譜連續及電漿中物種之再結合現象造成之背景和高濃度元素迷光造成干擾。光譜的重疊可單獨測定。干擾元素，再對重疊光譜加以修正。對分子光譜之重疊則需選擇不同的波長來改善。至於背景值與高濃度的光譜可經由背景基線的調整得到修正。多元素同時測定時，必須確定樣品在儀器偵測頻道中無元素間造成之光譜干擾，由於每一儀器系統不同，必須個別建立資料。

(二)物理干擾

樣品霧化及傳送過程中，因黏度及表面張力等性質之改變，若樣品中含有高溶解度固體或酸度過高時，造成明顯之分析誤差，利用蠕動幫浦將可降低這類干擾；若這類干擾仍存在時，必須將樣品稀釋或利用標準添加法予以修正。此外，含高濃度鹽類之溶液易在噴霧器

公職王歷屆試題 (111 專技高考)

上沈積而影響分析結果，此時可將樣品稀釋或利用噴嘴洗滌器以減少此現象。而氫氣流量之大小亦會影響儀器之功能，最好使用流量控制器。

(三)化學干擾

指形成分子狀態、離子效應及溶質揮發效應等之干擾。通常這些效應在 ICP 的技巧上並不顯著，但若仍存在時，則可改變操作條件（如入射功率，觀測位置）或加入適當的緩衝藥品、適當的基質或使用標準添加法，使干擾減至最低。

公
職
王