

教育部教學實踐研究計畫成果報告
Project Report for MOE Teaching Practice Research Program

計畫編號/Project Number：PAG107014

學門分類/Division：農科學門

執行期間/Funding Period：107 年 8 月 1 日至 108 年 7 月 31 日

(計畫名稱/Title of the Project)

油品快速檢測方法的建立與評估之教育訓練

The workshop of development and evaluation of oil rapid assays

(配合課程名稱/Course Name)

實務專題

計畫主持人(Principal Investigator)：黃至君 Chih-Chun Jean Huang

共同主持人(Co-Principal Investigator)：無

執行機構及系所(Institution/Department/Program)：國立屏東科技大學食品科學系

繳交報告日期(Report Submission Date)：9/16/2019

(計畫名稱/Title of the Project)

油品快速檢測方法的建立與評估之教育訓練

The workshop of development and evaluation of oil rapid assays

一. 報告內文(Content)

1. 研究動機與目的(Research Motive and Purpose)

請描述所選擇研究議題的問題挑戰與背景、教學實務現場遇到之挑戰以及該議題的重要性與影響力。

申請人欲藉由現今國人關心的食用油品質問題，包括因各種油種的特性不同的了解不足、不確定油品在高溫過程的變化導致對人體健康的影響、高經濟價值的油品以低價位油種取代或摻雜但不實標示以提高利益，以及因不信任市售商品而在家自製產品，但對於產品製作環境衛生、原物料品質判定、原料成份特性、貯藏環境對食品保存的影響變化、劣變等知識不足，有高度風險造成有害物質的累積，危害人體健康等食品安全事件之發生可能等議題。傳統的檢驗分析方法需足夠時間且消耗大量精力，檢驗步驟繁鎖、檢出之靈敏度較小、分析誤差大，影響到檢驗的準確度不良等限制；儀器分析具有高效率、檢體量少、準確度高的優點，傳統方法逐漸被分析儀器所取代，搖身一變成檢驗分析的新領域與發展的重點。但儀器分析後所得到之結果圖譜，其判定的能力需要長時間的養成與培訓，才可成為優秀的檢驗人員，亦是儀器分析之專業人員的教育訓練過程。學生要能在有限的時間內，蛻變成上述之優秀的檢驗人員是相當不易的。於教學現場發現學生對於食品本科專業相關的社會議題關心程度不高，連結學習過的專業知識的能力也極為缺乏，面對不熟悉的技術大多沒有信心學習而興趣缺缺，少部分學生雖有想再進一步研究的興趣，但尚缺乏尋找文獻與研讀文獻的能力、判斷資訊正確性以及以科學的方法求證的能力，現今諸多此類學生，太輕看實驗課的學習，對於實驗本身的設計理解不足，以為照做步驟即可，不知其中的道理，觀察力亦不足以發現細微變化而須在實驗過程中做修正，獨立思考的能力也不足，實驗數據的整理及文字陳述的能力也尚為缺乏，種種現象使申請人欲傳達學生基本科學概念與誘使學生自主學習與獨立思考。此外，身為食品人更該有為食品把關的社會責任，因此透過食用油品質的食安議題，來誘發學生的學習興趣，帶領學生尋找問題、釐清容易被誤解的資訊、學習基礎油品檢測方法與探討開發快速檢測油品的的方法，並學習基本油品品質檢測方法與其他分析儀器的檢測，綜合食品加工、食品化學、分析化學、食品分析及食品儀器分析等不同專業科目的，考量學科之間的交互作用，發展跨領域性的邏輯思考與應用，以評估快速檢測方法的可行性與其他應用性，藉此帶領學生認識油脂化學的原理及重要性，提升專業知識的認知水準、檢驗人員應具備之態度、更強化實務經驗的操作技術等層面的教育力量，故訂定研究目標、設計實驗、整理數據與結果呈現，也學習觸類旁通，發現其他食品議題與找尋可能解決的方案，有社會服務的意義，也有教導學生關心社會議題與彰顯技職教育的意涵。

2. 文獻探討(Literature Review)

請針對本教學實踐研究計畫主題進行國內外相關文獻、研究情況與發展或實作案例等之評析。

(1). 拉曼光譜法原理

拉曼光譜法利用拉曼散射(Raman scattering)原理，當單色光照射到物質上時，大部分的光會透過物質，少部分的光則是會與樣品中的分子碰撞，若發生能量交換或是散射光子頻率和波長改變則產生拉曼位移(Raman shift)，拉曼光譜法為量測此光子與物質分子之間的非彈性碰撞所產生的拉曼位移的一種分析方法。拉曼光譜法不像紅外線光譜法容易受到水的影響干擾，因此可以用來測定含水或是溶於水中的樣品，進一步應用於測定水汙染或是生物學領域(柯等，2007; 劉等，2008)。

近年來文獻上有越來越多利用拉曼光譜法於食品檢測的應用，主要因為拉曼光譜儀操作簡單、省時省力、快速以及在不需破壞樣品的情況下即可檢測的優點。早期拉曼光譜法受限於光源，只能進行透明液體的試驗，因此侷限了它的發展和應用性。近年來由於雷射的發明、半導體的進步以及電子光儀技術的快速發展，以穩定的雷射作為激發光源搭配適合的偵測器使得拉曼光譜法的應用更加廣泛(柯等，2007)，目前拉曼多應用於物質如礦物質與寶石的鑑定、藥廠進料之品管或是無機和有機分析化學等領域。

(2). 拉曼光譜法在食品檢測的應用

關於拉曼光譜法於食品檢測的應用，其中包括檢測橄欖油中是否含有其他植物油如大豆油、葵花籽油和玉米油等油種，因冷壓初榨橄欖油為目前較高經濟價值的油種，在台灣則有苦茶油，因此容易有不肖商人添加價格較低的油種，以獲取較高利潤。然而傳統油品檢測方法較複雜且耗時耗力，因此有建立一快速分辨摻雜方法的必要，故本實驗欲利用拉曼光譜儀建立分辨油種摻雜之快速檢測方法。

拉曼光譜法分析油種的原理，主要是藉由不同油種含有不同比例之脂肪酸來做分辨，因不同油種中的單元不飽和脂肪酸與多元不飽和脂肪酸的比例不同，所以當拉曼圖譜經過標準化後，於脂肪酸的特徵波峰中可以明顯發現差別，藉此鑑定油品攙偽(Zhang et al., 2011a; Zhang et al., 2011b; Zou et al., 2009.)。其中 Zhang 等人(2011b)在初榨橄欖油中以 1%為間距分別混合大豆油、玉米油和葵花籽油至 10%，之後以 2%為間距混合至 100%作為校準。其中取以混合 2%開始每 6%為間距直到混合 98%者作為驗證，以 785 nm 光源測定，結果以平均絕對百分比誤差(mean absolute percentage error, MAPE)和均方根誤差(root mean-square error, RMSE)評估初榨橄欖油中回添大豆油、玉米油和葵花籽油模型是否符合實際狀況，由 MAPE 和 RMSE 推論出在橄欖油中摻有大豆油的百分率，皆可以由線性函數中的波峰強度來計算。本實驗室亦成功建立快速分級橄欖油的方法，結果正準備發表中。

其他的應用有 Özbalci 等人於 2013 年利用拉曼光譜法以 785 nm 作為激發光源並應用主成分分析(principal component analysis; PCA)、部分最小平方(partial least squares; PLS)和人工類神經網路(artificial neural network; ANN)方法分析水溶液及市售蜂蜜中葡萄糖、果糖、蔗糖和麥芽糖含量。從研究得知拉曼光譜法搭配適當的統計方法，能夠在不須任何前處理或層析法的情況下定量蜂蜜中葡萄糖、果糖、蔗糖和麥芽糖之含量。因此可利用拉曼光譜法建立分辨蜂蜜是否摻雜其他糖類的方法。

另於肉品檢測的應用上，有學者利用拉曼光譜法結合 PCA 開發快速測定牛肉中攪偽馬肉的方法(Boyacı et al., 2014)。樣品中脂肪酸萃取出後以拉曼光譜法在 785 nm 激發光源檢測，收集 200 到 2000 cm^{-1} 的訊號，結果顯示馬肉和牛肉具有相似光譜，但在一些特徵峰強度有差異，此外馬油跟牛油的脂肪酸比例相比具有獨特波峰段差異，因此可提供一個快速的檢測方法，通過鑑別脂肪酸來分辨牛肉中是否摻有馬肉，分析時間短且不須經過費時的樣品製備程序。而 Olsen 等人則是於 2007 年利用拉曼光譜法檢測同一組織的豬肉脂肪組織和融化脂肪，再與氣相層析法結果做參考比較，研究顯示拉曼光譜法為一可快速且非破壞性的直接檢測同一組織的豬肉脂肪組織和融化脂肪之碘價、單元不飽和脂肪酸、多元不飽和脂肪酸以及飽和脂肪酸的方法。

至於危害物質的檢測應用上，Hu 等人於 2015 年使用表面增強拉曼光譜法搭配生物感測器結合架構分子印刷高分子(molecularly imprinted polymers; MIPs)，檢測全脂牛奶中之三聚氰胺。藉由架構分子印刷高分子萃取法作為前處理方法，來達到簡單且有效地分離濃縮全脂牛奶中的三聚氰胺，再以表面增強拉曼光譜法做檢測，使用 785 nm 激發光源能夠快速且痕量級的定量，與一般三聚氰胺分析方法相比可節省至少 20 分鐘以上分析時間，可拿來作為食品化學性危害之快速檢測方法。

3. 研究方法(Research Methodology)

可包含實驗場域、研究對象、研究架構、資料蒐集方法與工具與分析方法等項目，但不限於列舉內容。

本研究對象為大三大四高年級的學生或研究生，已修習過基礎分析化學與食品分析課程，研究假設為大學生與研究生是否可經由引導，學習如何搜尋資訊、判斷資訊適用性與整理資訊的能力，是否可學習獨立操作食品相關的分析儀器、儀器數據判讀與整理的能力，是否可經由練習加強口頭與書面報告將成果清楚呈現的能力。於學生修習「實務專題」此課程的過程中，藉由食品儀器分析原理教授(例如拉曼光譜儀介紹與分析數據品質控制的介紹等)、文獻資料搜尋與書目管理來引導學生搜尋與油品相關的資訊(包括油品處理相關加工方式與影響品質的條件等)、與學生討論訂定欲研究的主題目標、實驗設計與設計實驗架構等、儀器認識與操作訓練、實際操作執行實驗、實驗數據的整理與結果的判讀、統計方法軟體的學習與實驗數據分析、結果整理與成果報告(文書撰寫與口頭陳述訓練)的訓練，並學習將結果與文獻上不同分析方法的結果比較並探

討本研究方法是否可應用於其他領域，以及因應不同的食品問題延伸思考本研究方法未來可以發展的方向。

本計畫的研究方法及工具如下所示：

(a). 文獻資料搜尋與書目管理：查詢食品相關領域的研究文獻，利用網路 pubmed 搜尋引擎能搜尋許多發表期刊文獻；另外申請人任教學校購有搜尋 SciFinder 網站的權限，可供搜尋諸多研究結果、專利、與食品化學相關資訊。書目管理則可利用 Reference manager 或 Endnote。

(b). 實施程序：課程教授與教導學生資料搜尋同時進行，學生具備基本學理知識後，引導學生探討有興趣的議題，再協助學生設定研究主題，之後設計實驗架構與擬訂實驗步驟方法，與儀器操作學習同時進行。之後執行各項實驗，其中得到的數據隨時討論與整理，最後完成實驗後整理成果以口頭及書面方式報告。

(c). 樣品蒐集與處理：學生各訂立其研究主題與目標後，則收集相關所需樣品做為後續分析使用。

(d). 拉曼光譜儀：本計畫使用原已購置的一台攜帶式穩頻拉曼光譜儀，配有顯微鏡裝置(ProTT-EZ Raman-A6 series & Micro Raman System，光源 785 nm，恩威光電股份有限公司)，此儀器的雷射功率為 450 mW，CCD 溫度為致冷-90°C，光譜範圍為 250~2350 cm^{-1} ，系統解析度為 1.27 $\text{cm}^{-1}/\text{pixel}$ ，雷射線寬 $<0.15 \text{ cm}^{-1}$ ，波數校正為 1 cm^{-1} ，可校正訊號強度，訊號品質訊噪比 12000:1。每次使用前均須以乙腈作為校正液。此拉曼光譜儀操作簡單，可用於檢測氣體、液體與固體樣品，有樣品放置台可以固定距離偵測，探測頭也可以手持式偵測，另有顯微鏡裝置可調整樣品偵測位置做定位，並有攝影功能可拍攝顯微鏡下偵測的樣品型態；儀器亦附有電腦可做檢測後的圖譜數據處理，並有食品添加物的拉曼光譜圖可做比對。每位學生皆學習可獨立操作此儀器，並分析收集到的樣品。

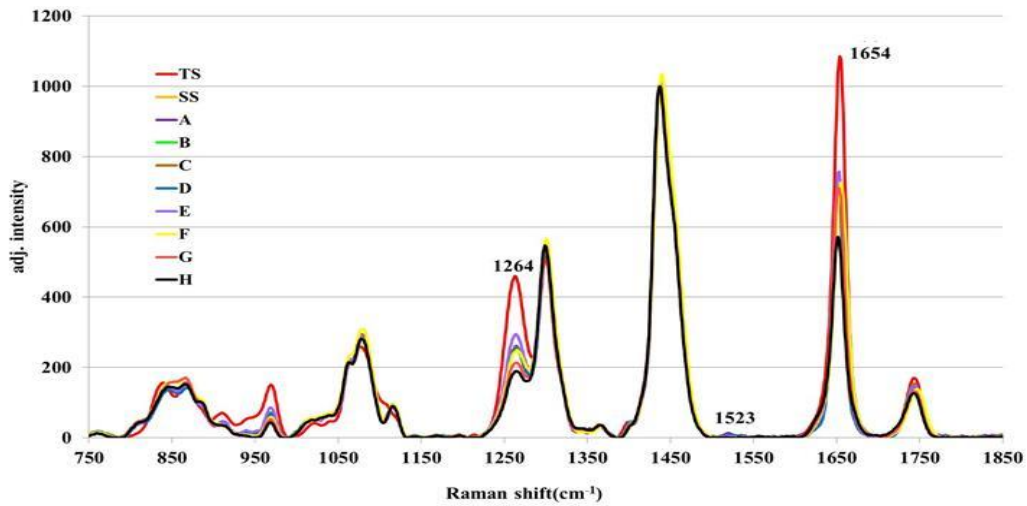
(e). 資料處理與分析：分析各樣品所得的拉曼光譜圖及找出特徵峰，利用統計軟體 Past3.x 進行數據處理分析，選擇統計上的多變量分析例如主成分分析(PCA)及階層族群分析法(HCA)作為樣品分類分群之方法。

4. 教學暨研究成果(Teaching and Research Outcomes)

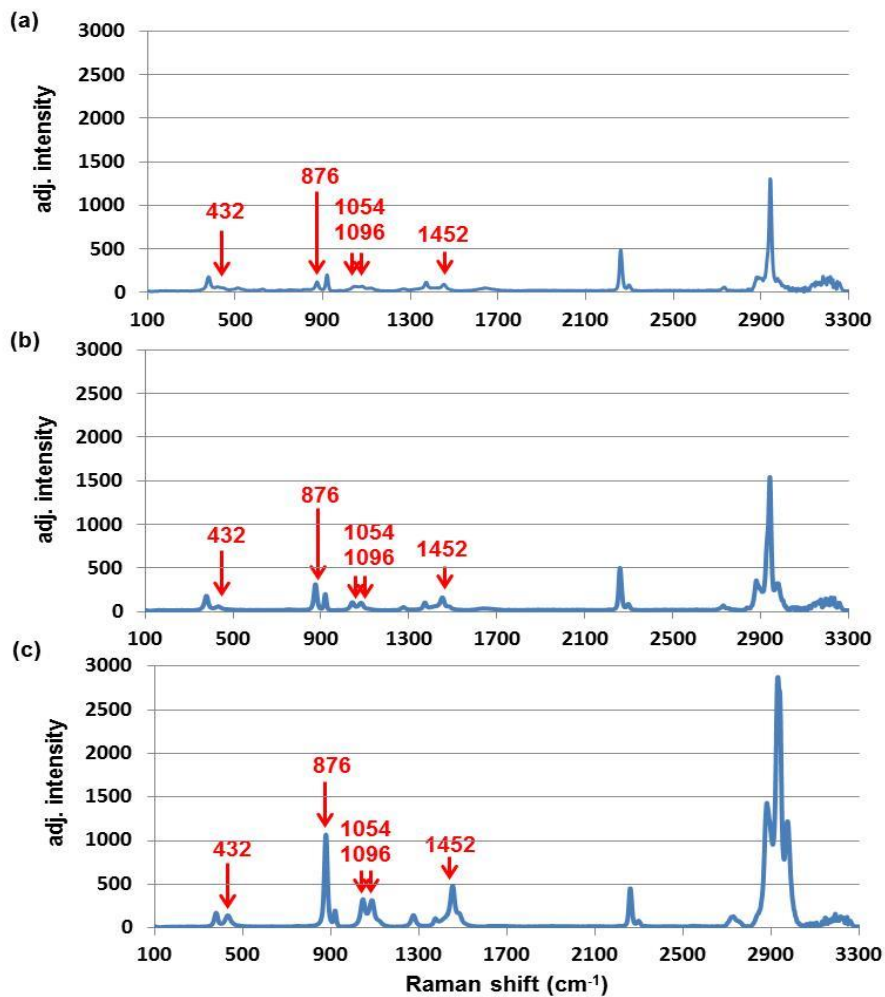
(1). 教學過程與成果

藉由此課程的訓練，學生學習了對文獻資料做系統整理，能找出有興趣的研究議題、收集科學資料及利用科學方法做有邏輯性的研究，也學習了如何處理拉曼光譜法產生的龐大數據，也因此有超過預期的成果，例如向儀器廠商建議儀器的操作軟體改善，多項快篩方法的建立(苦茶油之外另有酒與蜂蜜樣品)，研究結果如圖一至圖三所示。將市面上收集到之苦茶油與大豆油樣品以 785 nm 光源測定並以 1437 cm^{-1} 標準化後所得之拉曼光譜圖比較(如圖一)，發現市售苦茶油品質不一。另外，本研究建立一快速檢測乙醇的方法，用以檢測低中高濃度的市售酒樣品後的拉曼光譜圖如圖二，乙醇的特徵峰處依濃度高低有不同的訊號強度，可用於快速定量酒樣品的酒精度。其他另有學生檢測蜂蜜樣品，依

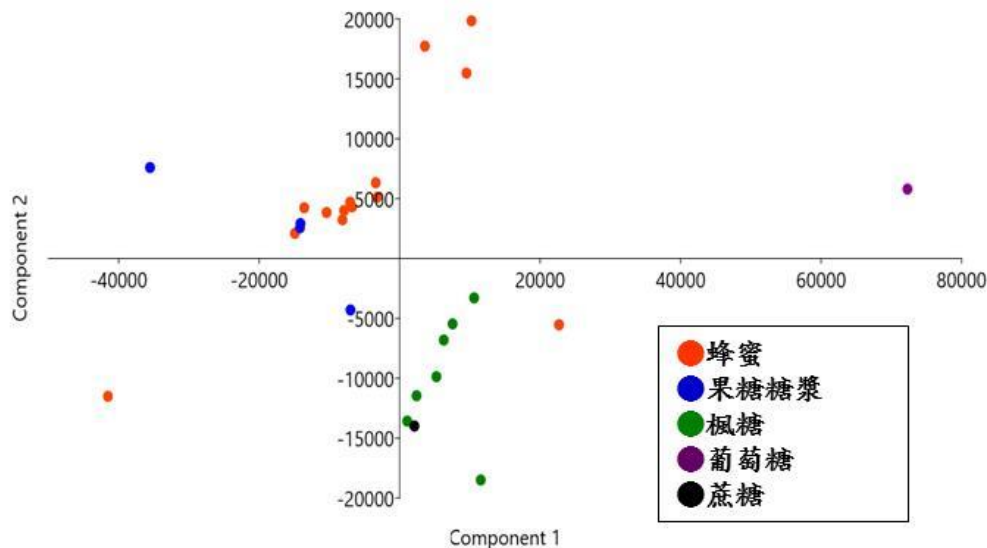
其拉曼光譜結果的特徵峰強度以主成份(PCA)方法統計分析,結果如圖三所示,此研究建立之方法可快速分辨蜂蜜樣品、楓糖樣品與高果糖糖漿樣品。此計畫之研究成果目前準備於國際期刊的發表中,因此需延後公開內容。



圖一、油樣以 785 nm 光源測定於 1437 cm⁻¹ 標準化後之拉曼光譜圖



圖二、代表乙醇低(a)、中(b)及高(c)濃度的酒樣品之拉曼光譜圖



圖三、蜂蜜與楓糖樣品、高果糖糖漿與蔗糖及葡萄糖標準品之 PCA 統計結果圖

(2). 教師教學反思

此計畫之教學方式為鼓勵學生發揮創意思考及注重深度學習，且每個學生的專業程度與遇到的困難不同，所以教師對單一位或單一組的學生所花費的時間較多，此教學方法適用小班教學，為教學上的限制。此外，因學生的程度與學習障礙皆不同，例如語言程度、學理基礎程度、積極性與表達能力等皆不同，因此教師需要因材施教，針對不同問題的學生給予不同的指導與協助，也因此不適合傳統考試方式評分，學習成效難以量化，此有專業領域的特殊性，因而有學生特質的限制。因此這部分的學習評估，除了評估過程中的學習挑戰與克服，以及最後的研究成果，亦利用學習回饋單請學生填寫。

另外，因鼓勵學生針對有興趣的議題多做深度探討，因此每個學生或組別的研究方向不同，所需經費較多，此有經費上的限制，感謝此計畫的支持，教師與學生得以研究較多較廣的議題！

總而言之，在此計畫的執行機會下，教與學雙方教學相長，有很多的收穫，皆得到很高的成就感！

(3). 學生學習回饋

除了研究成果以外，本計畫亦請修習的學生填寫學習回饋單(如附件)，以了解(一)學生在學習的過程中是否遇到什麼樣的困難以及運用了何種方式來解決所遇之困難，從「文獻閱讀」、「實驗設計」、「儀器操作」、「實驗步驟」、「結果判讀」或「其他」等面向說明；(二)學生從參與此次的專題研究過程後是否得到任何啟發或是改變，從「未來職業」、「專業知識」、「食安議題」或「其他」等面向說明；(三)學習心得。

整合修課學生的學習回饋單結果，了解透過此次油品快速檢測方法的建立與評估之教育訓練研究，學生皆是收穫滿滿。除了英文語言上有明顯的進步，反應在較高分的多益成績上，學生對於專業領域也了解從事檢驗工作的人員需

要高度的耐心、專注及觀察力，需要從細微變化中抽絲剝繭，發現可疑的契機，更需要專注於重覆性高的檢驗程序，而不感到無趣，還要從中找到樂趣。另外學生也了解了一個快速檢驗方法的研發，需要靠大量的數據來堆砌，一次次的修正再調整，而思考的面向就要跳脫以往，從單面向衍生到多面向，如同專業科目間的整合思考，更激發學生對自己的專業知識的累積，重新省思是否足以面對與應用新事物的挑戰。檢驗免除不了化學試劑的使用，有了快速檢測方式應用，對於有疑慮的樣品進行確認試驗，可減少化學試劑的使用，學生意識到實落環境保護、永續資源議題的重要性。面對市面上琳琅滿目的民生用品，學生開始思考，這樣的內容物標示，是貨真價值的嗎？學生們也認知到分工合作、團隊的重要性，不僅培養專業技能的熟練、增加他們與人相處、溝通能力等社會技巧的練習，從事研究，需要學會如何尋找資訊、計設實驗，此過程是另一種職業的試探與分流，找到學生的興趣、更認識自己，更瞭解到身為食品人的重要社會責任。

二. 參考文獻(References)

- 柯以侃、周心如、董慧茹、賀秀平、楊屹、張新祥 (2007) 儀器分析。新文京開發出版股份有限公司。7-89，241-260 頁。
- 劉興鑑、孫逸民、陳玉舜、趙敏勳、謝明學、楊明德 (2008) 儀器分析。全威圖書有限公司。211-227 頁。
- Boyacı, İ. H., Temiz, H. T., Uysal, R. S., Velioglu, H. M., Yadegari, R. J., Rishkan, M. M. (2014) A novel method for discrimination of beef and horsemeat using Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 148, 37-41.
- Hu, Y., Feng, S., Gao, F., Li-Chan, E. C. Y., Grant, E., Lu, X. (2015) Detection of melamine in milk using molecularly imprinted polymers–surface enhanced Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 176, 123-129.
- Olsen, E. F., Rukke, E. O., Flatten, A., Isaksson, T. (2007) Quantitative determination of saturated-, monounsaturated- and polyunsaturated fatty acids in pork adipose tissue with non-destructive Raman spectroscopy. *Meat Sci*, 76(4), 628-634.
- Özbalci, B., Boyacı, İ. H., Topcu, A., Kadilar, C., Tamer, U. (2013) Rapid analysis of sugars in honey by processing Raman spectrum using chemometric methods and artificial neural networks. *Food Chem*, 136(3-4), 1444-1452.
- Zhang, X., Qi, X., Zou, M., Liu, F. (2011a) Rapid Authentication of Olive Oil by Raman Spectroscopy Using Principal Component Analysis. *Analytical Letters*, 44(12), 2209-2220.
- Zhang, X., Zou, M., Qi, X., Liu, F., Zhang, C., Yin, F. (2011b) Quantitative detection of

adulterated olive oil by Raman spectroscopy and chemometrics. Journal of Raman Spectroscopy, 42(9), 1784-1788.

Zou, M. Q., Zhang, X. F., Qi, X. H., Ma, H. L., Dong, Y., Liu, C. W., Guo, X., Wang, H. (2009) Rapid authentication of olive oil adulteration by Raman spectrometry. J Agric Food Chem, 57(14), 6001-6006.

三. 附件(Appendix)

學習回饋單

一、在學習的過程中，你有遇到什麼樣的困難？此外你運用了何種方式來解決所遇之困難？請從「文獻閱讀」、「實驗設計」、「儀器操作」、「實驗步驟」、「結果判讀」或「其他」等面向說明。

	遇到的困難	運用了何種方式來解決所遇之困難
文獻閱讀		
實驗設計		
儀器操作		
實驗步驟		
結果判讀		
其他		

二、參與此次的專題研究過程後，對您有何啟發或是改變？

請以「未來職業」、「專業知識」、「食安議題」或「其他」等面向說明。

	有何啟發或是改變
未來職業	
專業知識	
食安議題	
其他	

三、心得