

類 科：環境檢驗、化學工程
科 目：儀器分析
考試時間：2小時

座號：_____

※注意：(一)可以使用電子計算器。

(二)不必抄題，作答時請將試題題號及答案依照順序寫在試卷上，於本試題上作答者，不予計分。

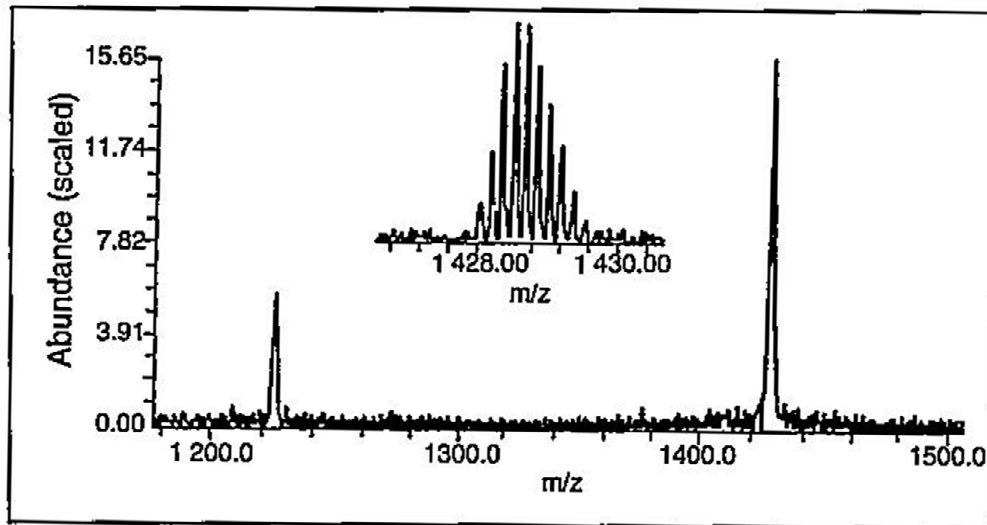
(三)本科目除專門名詞或數理公式外，應使用本國文字作答。

一、以質譜術 (mass spectrometry) 研究高分子 (macromolecules)，與以質譜術研究中等大小 (medium or more modest size) 的分子，兩者相較，有其差異。

(一)這些主要的差異為何？(15分)

(二)使用兩種不同的方法及下列質譜圖 (註：橫軸為質荷比 m/z ，縱軸為相對含量Abundance) 所提供的資訊，試計算泛素 (ubiquitin，為麵包酵母中所發現的一種蛋白質) 的近似分子量。(10分)

(提示：質譜圖中，在質荷比 m/z 為1224與1429處，各有一訊號峰；在內插圖中，質荷比 m/z 為1428.0與1430.0間，共有10個訊號峰。)



二、請回答下列有關原子光譜術 (atomic spectroscopy) 的問題：

在牙齒與骨骼的微量金屬，可透露出1991年所發現的5300年前的冰人奧茨（一具因冰封而保存完好的天然木乃伊），其在孩童及成年時期的飲食與環境資訊。在牙齒與骨骼的無機礦物基質 (matrix) 是氫氧基磷灰石 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 。在利用鐳射剝蝕測量 (laser ablation measurements) 的冰人奧茨考古研究上，與基材吻合的材料為測量校正之所需。石墨爐原子吸收 (graphite furnace atomic absorption, GF-AA) 與感應耦合電漿質譜術 (inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS) 曾被用來測量在標準參考骨骼中的鎂金屬含量。

- (一) 解釋為何硝酸鎂 ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$) 添加在骨骼樣品中，能在石墨爐原子吸收術分析錳 (Mn) 金屬時，抑制基材干擾。(9分)
- (二) 解釋為何添加三價的鑰離子 La^{3+} 在骨骼樣品中，能在石墨爐原子吸收術的替代測量中，分析錳 (Mn) 金屬。(8分)
- (三) 解釋為何添加氨 (NH_3) 在動態反應槽中 (dynamic reaction cell)，能在感應耦合電漿質譜術 (ICP-MS) 的測量中，抑制干擾。(8分)

三、考慮在 25°C ，1 M (莫耳濃度) HCl 下，以 0.100 M (莫耳濃度) Fe^{3+} (鐵離子)，滴定 25.0 mL (毫升) 的 0.0500 M (莫耳濃度) Sn^{2+} (亞錫離子)，產生 Fe^{2+} (亞鐵離子) 及 Sn^{4+} (錫離子)，在此係使用白金 (Pt) 與飽和甘汞 (saturated calomel) 電極。

(註：飽和甘汞電極 (SCE) 在 25°C 下的標準還原電位為 +0.241 V； Fe^{3+} 的標準還原電位為 0.771 V，而 Sn^{4+} 的標準還原電位為 0.139 V)

- (一) 寫出平衡的滴定反應式。(2分)
- (二) 寫出指示電極的兩個半反應式。(4分)
- (三) 寫出電池電壓的兩個 Nernst (能士特) 方程式。(4分)
- (四) 計算添加下列 6 個鐵離子 (Fe^{3+}) 體積下的電池電壓值 E ：1.0, 12.5, 24.0, 25.0, 26.0 及 30.0 mL，並繪出滴定曲線。(15分)

四、根據由內部標準法 (internal standard method) 所衍生的分析方法，以高效能液相層析術 (HPLC) 測量環孢素 (cyclosporin A，為預防皮膚與器官移植排斥的免疫抑制劑)，所採用的步驟詳述如後。

樣品的製備：抽取1毫升 (mL) 的血漿，其內再添加2毫升的水與乙腈 (acetonitrile, CH₃CN) 的混合物 (80/20比例)，並內含有250奈克 (ng, nanogram; 1 ng = 1 × 10⁻⁹ g) cyclosporin D為內部標準品。(cyclosporin D與cyclosporin A有相似的結構)

這3毫升的新混合物，使其通過一個用完即可丟棄的固相萃取分離管柱 (solid phase extraction column)，以分離留存在吸附劑上的cyclosporins。在分離管柱經過洗滌與乾燥程序後，cyclosporins再以1.5毫升的乙腈洗離，將溶劑蒸發，使其濃縮為200微升 (μL)。一部分的這個最後溶液，再注射至層析儀中。

(一)原始血漿內的cyclosporin A，經此處理後，其濃度為原來的幾倍？(5分)

(二)在固相的萃取步驟完成後，可否推斷出cyclosporins的回收率？試述其理由。(5分)

樣品：標準品係以不含cyclosporin的原始血漿製備之。擬製備的6個不同的溶液，其內各自添加所需用量的cyclosporin A，以分別產生50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、400 ng/mL、800 ng/mL及1000 ng/mL的濃度。從每一個溶液中抽取1毫升，再添加250奈克 (ng) cyclosporin D為內標準品至每一個溶液，然後比照與上述相同的萃取系列流程。所測得之6個標準品校正數據 (C vs. R_h)，詳如下表。

ng/mL (cyclosporin A濃度) (C)	50	100	200	400	800	1000
ratio of peaks heights, cyclo. A/cyclo. D(R _h) (cyclo. A與cyclo. D訊號峰的高度比)	0.25	0.5	1.02	2.04	4.05	5.1

分離管柱 (Column) 規格：Supelco 75 × 4.6 mm、Silica gel (矽膠) 3 μm、phase (固定相) RP-8。

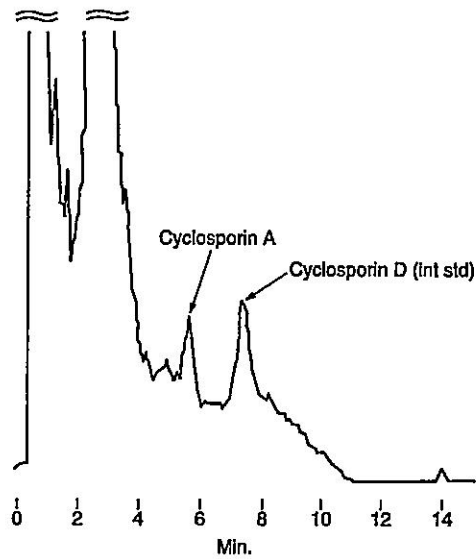
(三)根據下列的層析圖 (chromatogram) 實驗結果，試推算出血漿中cyclosporin A的濃度 (以奈克(ng)/毫升(mL)為單位)。

(提示：原始的層析圖中，cyclo. A與cyclo. D訊號峰的高度比為9:14。)
本題應以兩種方式求解。(15分)

1. 任選一個標準品的校正數據為計算基準。

2. 由上表的校正數據，利用線性迴歸法 (最小平方法)，求出R_h與C的線性方程式後，再求算之。

(註：以上這兩種求解方式，都是以訊號峰的高度為計算基準。)



(註：對於n組數據對 $(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_n, y_n)$ ，以線性迴歸法（最小平方法）所得到的線性方程式為 $y = mx + b$ ，其中直線的斜率 m ，及 y 截距 b ，可以下列算式求出：

$$m = \left[n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right) \left(\sum_{i=1}^n y_i \right) \right] / \left[n \left(\sum_{i=1}^n x_i^2 \right) - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2 \right]$$

$$b = \left[\left(\sum_{i=1}^n x_i^2 \right) \left(\sum_{i=1}^n y_i \right) - \left(\sum_{i=1}^n x_i y_i \right) \left(\sum_{i=1}^n x_i \right) \right] / \left[n \left(\sum_{i=1}^n x_i^2 \right) - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2 \right]$$