

2024年【科學探究競賽-這樣教我就懂】

普高組 成果報告表單

題目名稱:『啡』你莫屬, 咖啡的分段成分分析

一、摘要

本研究把咖啡根據沖泡開的先後順序分成五段, 用調配過的萃取液與每一段咖啡混合萃取後放入光譜儀做分析, 紀錄每一段的咖啡因以及綠原酸的多寡, 得到咖啡因、綠原酸隨著時間的濃度變化。

二、探究題目與動機

咖啡是日常生活中常見的飲品, 具有提神、抗氧化...等有益的功效, 但飲用過多會造成失眠等負面影響, 因此我們希望藉由一些實驗, 測量不同種咖啡的咖啡因含量、抗氧化力...等條件。

三、探究目的與假設

分析不同種沖泡方式的咖啡以及沖泡時啡咖前、中、後段的成分變化。測量不同咖啡成分隨時間的變化以及給予咖啡攝取方式建議。

四、探究方法與驗證步驟

一、研究設備與器材

(1) 研究設備:

- (1)超聲波振盪器
- (2)紫外光—可見光光譜儀
- (3)電子天平

(2) 器材:

- (1)微量吸量管(Micropipette)
- (2)石英比色槽

(3) 藥品:

- (1)咖啡因標準品
- (2)綠原酸標準品
- (3)乙酸乙酯
- (4)酒精

二、研究方法及過程

本次實驗主要研究咖啡在冰滴(低溫長時間)及手沖(高溫短時間)下的差異, 我們將咖啡由前至後分成5組, 再將各組分別檢測, 比較各組差異。

1. 咖啡因及綠原酸測試

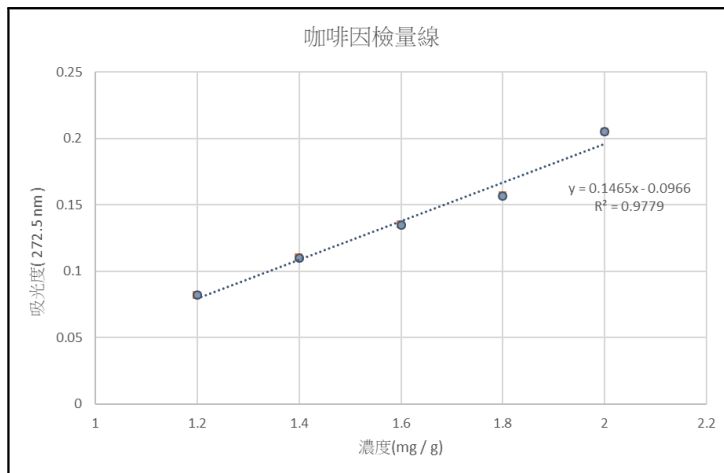
咖啡因及綠原酸的測試, 我們將乙酸乙酯與酒精以6:4體積混合作為有機相, 再將有機相與咖啡原液混合進行萃取, 接著將有機相稀釋後以光譜儀測量咖啡因及綠原酸濃度, 檢量線的實驗步驟與咖啡相同, 只是將咖啡替換成已知濃度的咖啡因及綠原酸標準品。

步驟:

- (1) 將乙酸乙酯與酒精以6:4體積混合
- (2) 取 10 mL 咖啡與 10 mL 有機液於樣品瓶, 搖晃後靜置分層, 取出有機相
- (3) 取 0.02 mL 萃取後的有機相, 加 3 mL 乙酸乙酯稀釋後以光譜儀測量
- (4) 對照檢量線, 定出咖啡因(272 nm)與綠原酸(324nm)濃度

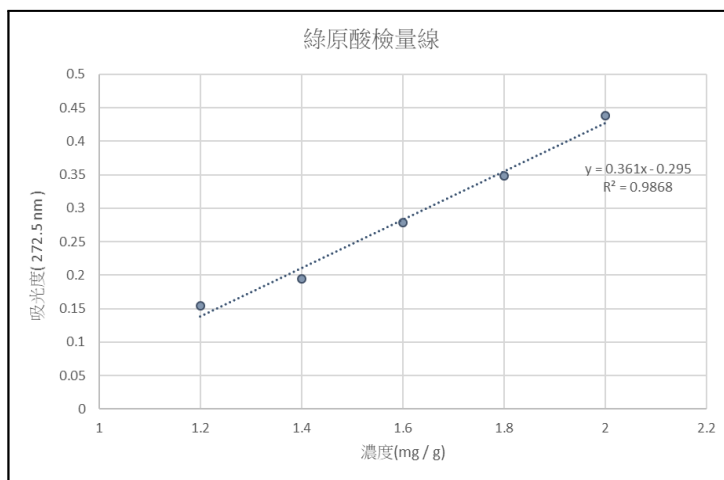
檢量線:

- (1) 咖啡因檢量線



(圖一)、咖啡因減量線

- (2) 綠原酸檢量線



(圖二)、綠原酸減量線

2.還原力測試

還原力的部份我們使用DPPH進行測試, 我們取 1.75 mL 的 DPPH(濃度0.08mM, 溶劑甲醇), 與 0.7 mL 咖啡溶液(原液稀釋1000倍)於樣品瓶, 在暗室反映20分鐘後, 取出用光譜儀分析, 我們還做了清水與 0.01mg/mL 的維生素C作為對照。

步驟:

- (1) 配製 0.08 mM 的DPPH溶液(甲醇)及 0.01 mg/mL、過量(1 mg/mL) 的維生素C溶液(水)
- (2) 取 1.75 mL DPPH溶液及0.7 mL 試液(咖啡溶液、清水、維生素C溶液)加入試管, 於暗室反應20分鐘

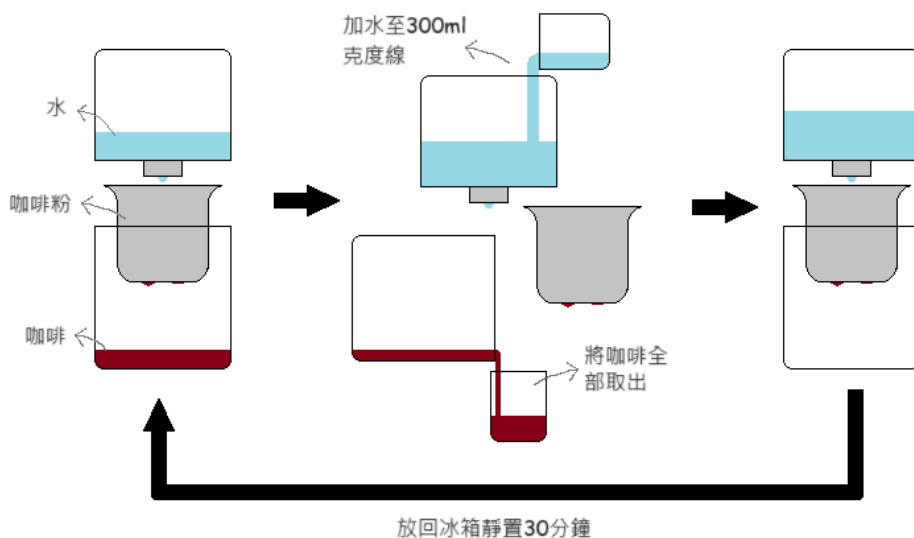
(3) 用光譜儀測量溶液吸光度，再以清水組為0%，過量維生素C組為100%換算還原的DPPH比例

(4) 以0.01mg/mL 的維生素C為基準，換算咖啡的還原力對應維生素C濃度

3.冰滴咖啡實驗結果

(1) 樣本製作

如圖，重複圖中步驟五次，取五組，最先滴出的為第一段(最濃)。



(圖三)、冰滴咖啡製作流程

(2) 咖啡樣本資料

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|----------|-------|-------|---------|---------|---------|
| 時間 | 30:02 | 26:43 | 25:22 | 27:15 | 28:34 |
| 累積時間 | 30:02 | 56:45 | 1:22:07 | 1:49:22 | 2:17:56 |
| 咖啡汁重量(g) | 60 | 63 | 67 | 60 | 62 |
| 累積咖啡量(g) | 60 | 123 | 190 | 250 | 312 |

咖啡粉量:20g

上表為咖啡樣本資訊，由於咖啡一般常用水粉比為10:1，對照上表可知前三組的平均大約會是實際上的咖啡情形，另外由於每次取樣後都會將上層水加滿，每組的水壓會相近，可假設水滴出速率是固定的。

(3) 咖啡因及綠原酸實驗結果

對照前面繪製的兩條檢量線，經過計算後得到每段咖啡中咖啡因和綠原酸的濃度

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-------------|------|------|------|------|------|
| 咖啡因濃度(mg/g) | 5.56 | 2.45 | 1.60 | 1.29 | 1.06 |
| 綠原酸濃度(mg/g) | 1.87 | 1.23 | 1.06 | 1.01 | 0.95 |

(4) 還原力實驗結果

| | 水 | 維生素C | 過量維生素C | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 吸光度(517 nm) | 0.532 | 0.261 | 0.020 | 0.225 | 0.370 | 0.437 | 0.437 | 0.462 |
| 還原力對應維生素C濃度(mg/ml) | * | * | * | 10.22 | 8.29 | 5.75 | 3.51 | 2.59 |

4. 手沖咖啡實驗結果

(1) 五段咖啡樣本收集

用玻璃漏斗裝濾紙以及咖啡粉來模擬手沖咖啡沖泡，在漏斗下方放置量筒依時間順序每收集20mL咖啡為一段，最先滴出的20mL為第一段，總共收集五段共100mL咖啡。

(2) 咖啡因及綠原酸實驗結果

對照前面繪製的兩條檢量線，經過計算後得到每段咖啡中咖啡因和綠原酸的濃度

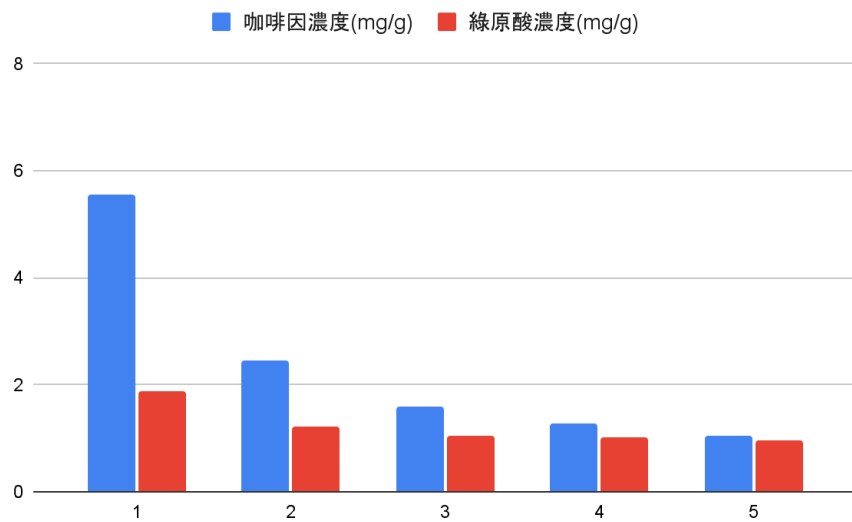
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-------------|------|------|------|------|------|
| 咖啡因濃度(mg/g) | 6.14 | 4.41 | 3.14 | 2.35 | 1.83 |
| 綠原酸濃度(mg/g) | 2.44 | 1.97 | 1.60 | 1.37 | 1.21 |

(3) 還原力實驗結果

| | 水 | 維生素C | 過量維生素C | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 吸光度(517 nm) | 0.538 | 0.231 | 0.019 | 0.241 | 0.387 | 0.477 | 0.485 | 0.514 |
| 還原力對應維生素C濃度(mg/ml) | * | * | * | 10.54 | 4.92 | 2.00 | 1.73 | 0.79 |

五、結論與生活應用

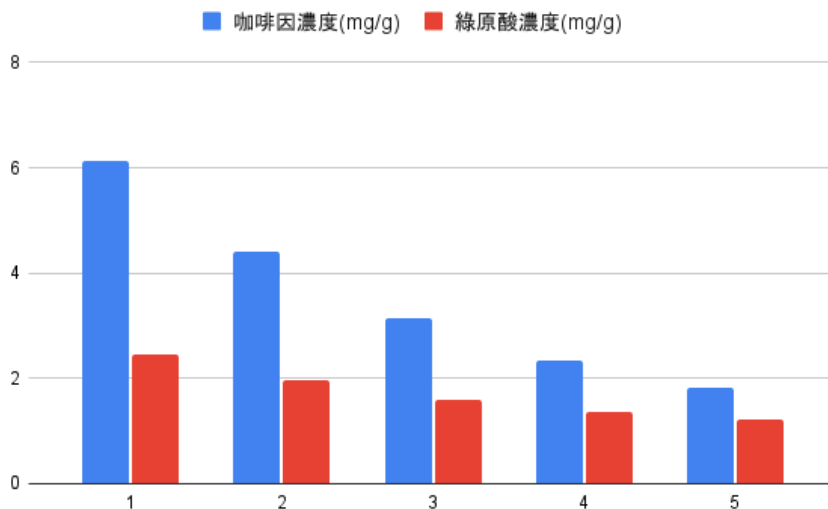
1.冰滴咖啡



(圖四)、冰滴咖啡咖啡因與綠原含量(橫軸:第幾段, 縱軸:濃度mg/g)

根據圖表, 冰滴咖啡中的咖啡因與綠原酸都隨著時間呈現遞減趨勢, 我們定義濃度遞減律為: $(\text{樣本}n - 1\text{的吸光度} - \text{樣本}n\text{的吸光度}) / \text{樣本}n - 1\text{的吸光度}$, 咖啡因第2,3,4,5樣本的濃度遞減律分別為56%, 34.7%, 19.4%, 17.8%, 綠原酸第2,3,4,5樣本的濃度遞減律分別為34.7%, 13.8%, 4.8%, 6%, 綠原酸後面四組的濃度遞減不明顯。兩者的濃度遞減隨著時間增加變慢, 其中第一樣本與第二樣本的濃度差距最大, 並且咖啡因隨時間遞減程度相較綠原酸隨時間遞減程度更為明顯。

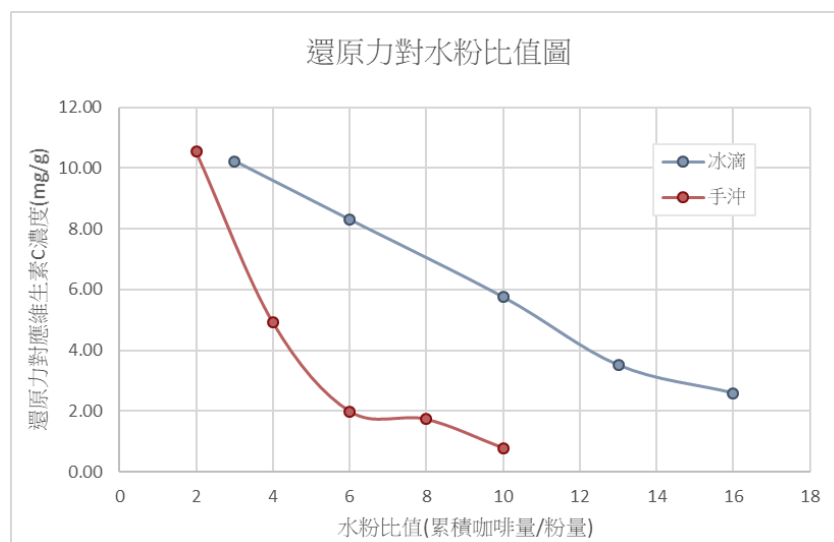
2.手沖咖啡



(圖五)、手沖咖啡咖啡因與綠原含量(橫軸:第幾段, 縱軸:濃度mg/g)

圖表中手沖咖啡中的咖啡因與綠原酸也隨著時間呈現遞減趨勢, 咖啡因第2,3,4,5樣本的濃度遞減律分別為28.1%, 28.8%, 25.2%, 22.2%, 綠原酸第2,3,4,5樣本的濃度遞減律分別為19.3%, 18.8%, 14.4%, 11.7%。兩者的濃度遞減隨著時間變化稍微下降, 並且咖啡因隨時間遞減程度相較綠原酸隨時間遞減程度也更為明顯。

3.還原力比較



(圖六)、還原力對水粉比值圖

根據圖表，相同水粉比的條件下，冰滴的還原力表現優於手沖。圖中冰滴的還原力大致是穩定下降，而手沖則是先快速下降再持平再下降。

4.咖啡攝取建議

(1)冰滴咖啡

歐盟食品科學專家委員會評估，咖啡因每日攝取量建議在300mg以下，最多不超過400mg，綠原酸每日最佳攝取劑量則為300-600mg，第一段的咖啡因含量過高，第四、第五段的咖啡風味已經變得很淡，綜合考量下，我們認為第二、第三段，也就是累計時間30分鐘到一小時二十分鐘左右的咖啡為最佳選擇，取第二段、第三段分別可以喝120mL、180mL的咖啡而不超過咖啡因建議攝取量，由於綠原酸後面四段含量差異不大，第三段可以在不超過咖啡因建議攝取量的情況下攝取最多的綠原酸，第二段則是味道更為濃郁。

(2)手沖咖啡

手沖咖啡咖啡因和綠原酸的遞減律相對冰滴咖啡較為線性，咖啡因隨時間遞減程度相較綠原酸隨時間遞減程度明顯，越後面的段數在相同咖啡因的情況下，可攝取到的綠原酸更多，我們建議可以取第二到第五段，也就是第20-100mL，共80mL飲用，或是取用後面風味更淡的40-140mL，共100mL取用，兩者都不會超過建議攝取量。

參考資料

- 1.沈馨仙、郭旻奇、張思平、鍾佳玲、楊榮季。抗氧化劑及常見之抗氧化活性評估方法。藥學雜誌。2010.6.30，<https://www.taiwan-pharma.org.tw/magazine/103/132-137.pdf>
- 2.chimacti: Determination of the activity of an antioxidant by the DPPH° assay 日期：未知
<https://chimactiv.agroparistech.fr/en/aliments/antioxydant-dpph/principe/1>
3. scinco: 淺談紫外光可見光光譜原理/uv vis原理 2023.02.20
https://www.scincotaiwan.tw/zh-cht/TechnicalSupport_Detail-60.html