

中華民國第 55 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國中組 生活與應用科學科

第三名

030803

等一杯想要的咖啡~咖啡發酵，健康美味加分

學校名稱：高雄市立五福國民中學

作者： 國一 楊兆迪 國三 楊華育	指導老師： 余尚芸 簡加妮
---------------------------------	-----------------------------

關鍵詞：DPPH 清除力、綠原酸、碘還原力

摘要

從咖啡文化深度之旅出發，好奇是否可使咖啡更健康美味。從自製烘豆機並採用市售五種複合菌，對東山咖啡「生豆」和「鮮果」進行不同條件發酵，結果證實使用複合菌發酵的咖啡豆，其對 DPPH 自由基清除的抗氧化能力稍有提升；而碘還原力及對人體健康助益良多的綠原酸含量則有顯著增加；對攝取過量有害健康的咖啡因含量也顯著降低。更特別的是，不同條件發酵的咖啡，每杯風味都不同，杯測評價均不輸市售優質咖啡豆，評比得分優於市售與麝香貓咖啡風味相似的高價咖啡，其中三組咖啡豆達精品咖啡等級。本研究結合所學知識並應用於本土產咖啡，再以科學儀器加以驗證，以簡單製程烘焙出更優於外國的健康美味咖啡豆，期能對台灣咖啡產業有所提升。

壹、研究動機

日前和家人參加屏東縣霧台鄉德文村的深度文化體驗行，其中最吸引我們的活動就是自己摘咖啡與烘焙咖啡，因為家人都很喜歡喝咖啡。查閱文獻(金曉嵐，2003)及歷屆科展作品(啡常健康—探討咖啡的抗氧化效力，2014)，得知咖啡豆經過深焙、中焙及淺焙處理後，除了飲用的口感有所差異外，其抗氧化能力亦會因咖啡豆烘焙程度愈深而降低。咖啡生豆含有綠原酸，其具有抗氧化作用、防癌作用、抗潰瘍作用、保肝作用和抗過敏作用(方靜文，2005)。另有研究以複合菌對咖啡豆進行發酵，探討其對抗氧化力與咖啡豆味道的影響(湯子嘉，2014)，讓我們靈機一動想到是否可以利用日常簡易的方法對咖啡豆進行發酵，以自製簡易烘豆機，希望能在家自行烘出爸媽喜歡的味道，且保留更多有益成份的咖啡？於是，我們以台南市東山區的本土產咖啡豆為原料，探討製程改變，能否改善 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸及咖啡因的含量，希望可以讓民眾在咖啡豆的製程方面，有更多的選擇。

△相關教材：

國中自然與生活科技二下課本。第二章 氧化還原反應。康軒文教事業。

國中自然與生活科技一上生物課本。單元4 生物體的運輸作用。康軒文教事業。

貳、研究目的

〔研究一〕由文獻、實地訪察及前導實驗，建立咖啡豆處理、咖啡液萃取及檢測之標準流程。

- 一、瞭解咖啡烘焙設備原理，自製家用四代簡易烘豆機。
- 二、學習 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸及咖啡因含量的檢測方式。
- 三、探討咖啡液萃取方式，其 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸及咖啡因含量。
- 四、比較同種與不同種咖啡豆烘焙程度，其 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸及咖啡因含量。
- 五、拜訪咖啡農，瞭解咖啡生長、鮮果採集及生豆處理流程。
- 六、探討咖啡豆以水果酵素或複合菌發酵後的初步結果。

〔研究二〕探討「咖啡生豆」、「咖啡鮮果」經不同複合菌常溫發酵後，其 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸與咖啡因含量之影響。

〔研究三〕挑選出「咖啡生豆」和「咖啡鮮果」經各複合菌發酵後，所製成品質最佳的咖啡，以杯測法找出最健康美味的咖啡製程。

參、研究設備與器材

一、研究設備：自製咖啡烘豆機、研磨機（Rancilio Rocky）、義式咖啡機（Gee）、HPLC 系統（Hitachi High Technologies Inc., 綠原酸與咖啡因檢測用）、酵素免疫分析儀（ELISA, Multiskan GO, Thermo Scientific，抗氧化能力檢測）、電腦。

二、實驗藥品：

（一）DPPH 反應試劑：以甲醇配製 0.1mM DPPH

（二）抗氧化能力分析：

1. 1%澱粉溶液: 100mL H₂O + 1g 澱粉

2. 1%碘液： 1g I₂+ 1g KI + 100mL H₂O

（三）綠原酸含量及咖啡因含量： HPLC system

（四）市售乳酸複合菌： A 複合菌、B 複合菌、C 複合菌、D 複合菌、E 複合菌。

（五）綠原酸標準品、咖啡因標準品、咖啡生豆、咖啡鮮果、燒杯、微量離心管（1.5mL）。

（六）咖啡口感杯測問卷。

肆、研究過程與方法

經文獻探討及請教專家後，為確保實驗進行順利，實地訪察及進行一系列前導實驗，建立咖啡豆處理、咖啡液萃取及檢測之標準流程。

一、瞭解咖啡烘焙設備原理，自製家用四代簡易烘豆機

一般家庭咖啡烘焙設備多為烤箱或炒菜鍋，其烘焙程度不易控制，且造成咖啡豆成熟度不均勻。

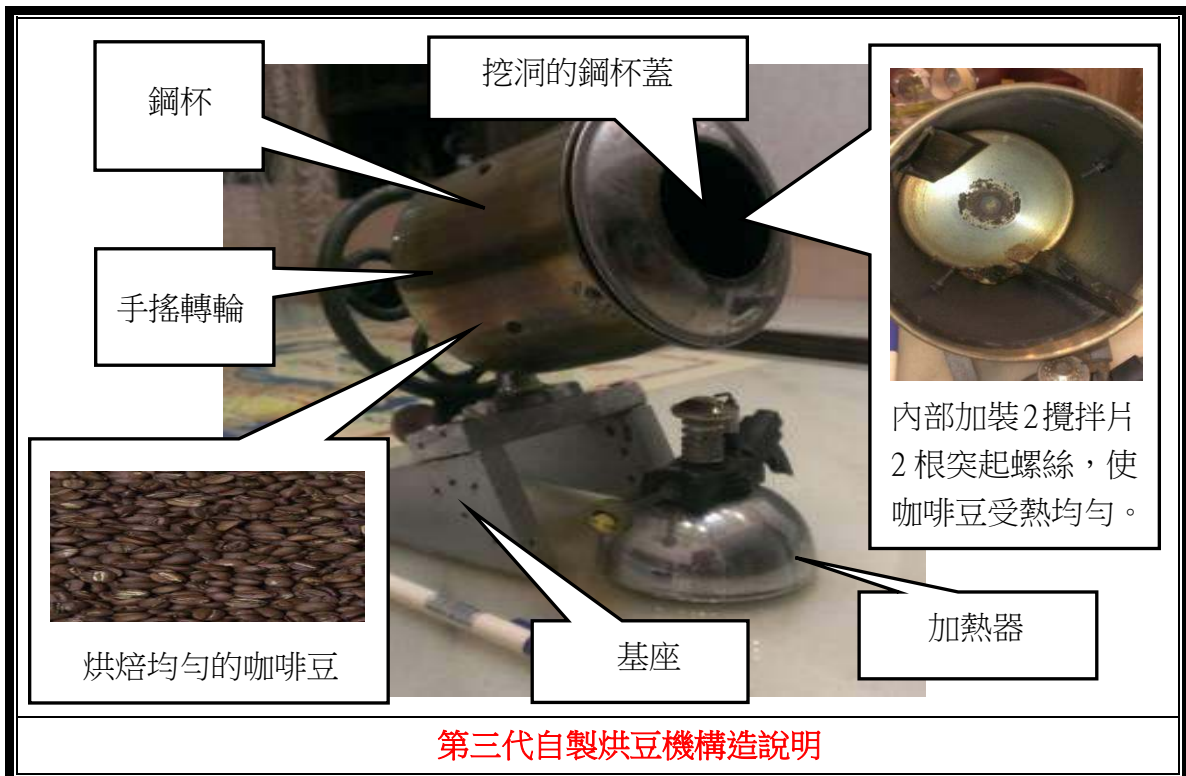


為了在家烘焙出均勻的咖啡豆，於是著手自行研發簡易烘豆機。

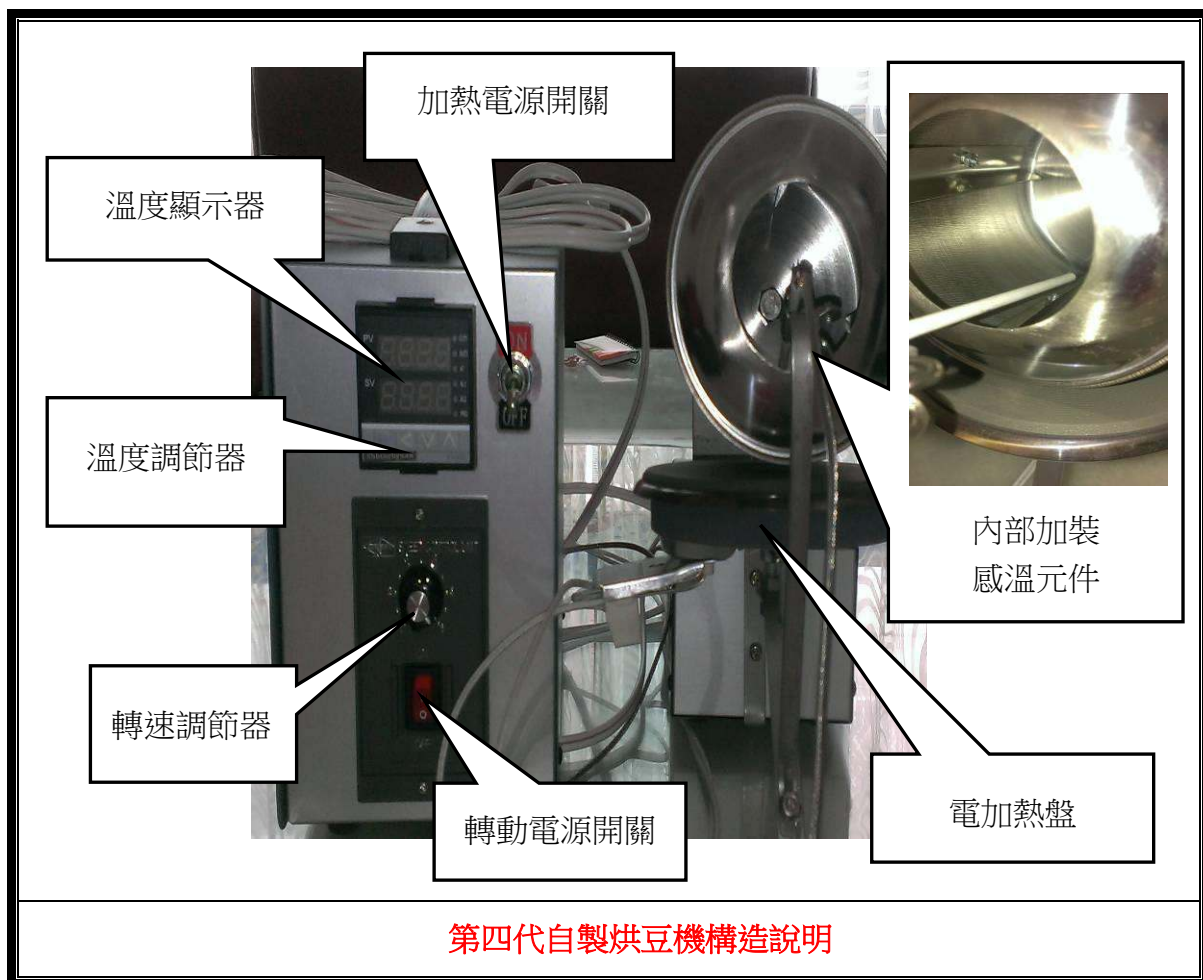
第一代：先用 2 個小漏勺開口相對，以蝴蝶夾固定，發現空隙太大。

第二代（**滾動**）：從專業烘豆機及糖炒栗子的靈感讓我們想出，用鋼杯(含蓋挖洞)、轉輪等器材，自行組裝手搖烘豆機，發現烘焙均勻度雖然改善，少量不均勻的現象仍然存在。

第三代(**均勻攪拌**)：為了讓咖啡豆受熱更均勻，在鋼杯內加裝兩片攪拌片和 2 根突起螺絲，果然得到烘焙均勻度甚佳的咖啡豆。下圖為第三代烘豆機成品圖：



第四代（**控制溫度及轉速**）：為了增進準確度，我們加裝可調節溫度及自動控溫感應器，將烘焙溫度控制在 210°C。另加裝可調速的慢速馬達，控制轉速每分鐘 60 轉，第四代烘豆機如下圖：



發現：第四代自製烘豆機，可透過控制溫度及轉速，使咖啡生豆的烘焙度更加一致。

小結：若在家自行烘焙咖啡豆品嘗，可採用我們自製第三代烘豆機，是既經濟又實惠的選擇。

我們為了實驗需精細控制咖啡豆的烘焙程度，採用第四代控制溫度與轉速的烘豆機。

二、學習 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸及咖啡因含量的檢測方式

透過書籍、文獻深入了解 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸及咖啡因之意涵及含量的檢測方式。

發現：

(一) DPPH 自由基清除能力

指抗氧化劑與 DPPH 自由基反應後，提供氫給 DPPH 自由基，終止氧化連鎖反應進行，在抗氧化實驗中常用來檢測抗氧化物提供氫之能力，DPPH 為較穩定的自由基，在甲醇溶液

中為紫羅蘭色，若與抗氧化劑反應顏色會轉為淡黃色，脫色程度愈高則自由基清除能力愈高，於 517nm 具有較高的吸光值。

其反應式如下： $\text{DPPH} \cdot + \text{AH} (\text{抗氧化劑}) \rightarrow \text{DPPH} + \text{HA} \cdot$

(二)碘還原能力(碘滴定還原能力)

其原理乃利用碘分子與抗氧化劑反應被還原成碘離子的特性，此時會呈現無色的狀態。當抗氧化劑已反應完全，過量的碘分子無法還原成碘離子時，此時碘分子與澱粉指示劑反應形成碘-澱粉錯合物，即呈現藍色達滴定終點，用以測試抗氧化劑的效果。

其反應式如下： $2\text{I}^- (\text{無色}) \rightarrow \text{I}_2 (\text{藍色}) + 2\text{e}^-$

(三)綠原酸

綠原酸是在高等植物中常見的一種酚酸，其中又以咖啡豆含量最高約占 6~12%，其主要生物活性有：抗衰老及抗肌肉骨骼老化、對自由基的清除及抗脂質過氧化作用、抗誘變作用、顯著增加胃腸蠕動和促進胃液分泌及利膽保肝作用、具有較廣泛的抗菌作用、止血及抗病毒作用以及縮短血凝及出血時間的作用。

綠原酸是由奎寧酸以及咖啡酸經過酯化反應脫水縮合而成的。水解屬於吸熱反應，所以在烘焙過程中咖啡受熱以後會促使綠原酸分解。但烘焙不會使綠原酸全部分解光，根據統計，即使到中焙大該會有約一半的綠原酸未被分解。

(四)咖啡因

咖啡因是一種中樞神經系統的刺激物，最早由 Fredinand Runge 在 1820 年發現，化學名稱為 1,3,7-trimethylanthine，沸點為 236°C，屬於黃嘌呤類化學物質。咖啡豆中約含有 0.8~2.8% 的咖啡因，依產地和品種的不同而有差異，其亦提供咖啡中 10~30% 的苦味。咖啡因會快速被腸胃吸收，經血液運輸，在一小時左右即廣泛分佈全身，無法完全被腎臟所排除，因會刺激中樞神經系統，攝取過量會有不良反應，本研究定義其為有害物質。

小結：本實驗綜合以上之探討，提出各項須檢測內容之檢測方式如下

(一)DPPH 自由基清除能力之檢測方法

此方法為參考 Shimada, Fujikawa, Yahara 及 Nakamura (1992)所敘述的方法，取 25 μM DPPH 0.5 mL 及 磷酸鹽緩衝溶液 (Phosphate buffered saline, PBS) 0.4 mL 與 30 μL 稀釋之樣品或 Vitamin C 溶於 0.1 mL 至微量離心管中混合，避光於室溫中反應 20 分鐘，再以酵素免疫分析儀 (ELISA, Multiskan GO, Thermo Scientific) 於波長 517 nm 測定吸光值。

公式計算：清除率(%)=[1-(樣品吸光值/空白吸光值)]*100%

(二) 碘還原力之檢測方法

配置： 1. 1% 澱粉溶液：100mL H₂O + 1g 澱粉，

2. 1% 碘液：1g I₂ + 1g KI + 100mL H₂O。

分析步驟： 1. 配製抗氧化能力測試液：取 9mL H₂O、0.1mL 1% 碘液及 0.36mL 1% 澱粉溶液，分別依序加入玻璃試管中。

2. 利用震盪使測試液混合均勻後備用。

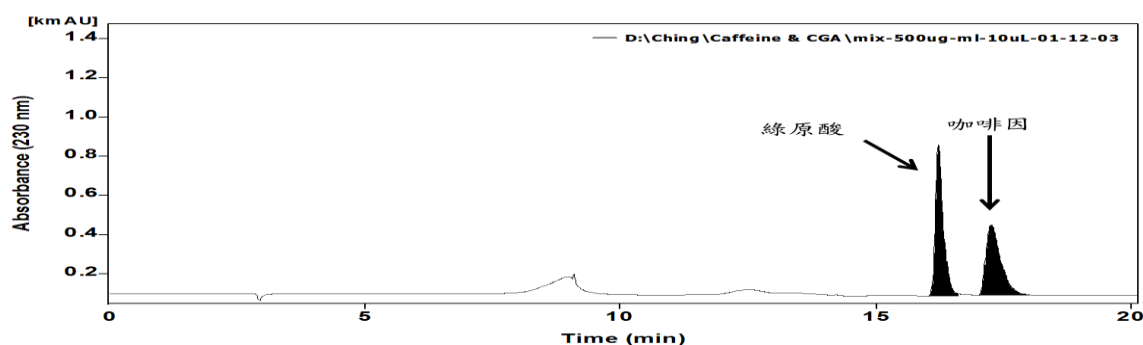
3. 各取 195μL 的抗氧化能力測試液至 96 孔盤中，加入 5μL 咖啡樣品震盪混勻 20 秒。

4. 測定 OD 595nm 測定吸光值。

計算公式：還原率(%) = [1 - (樣品吸光值 / 空白吸光值)] * 100%

(三) 綠原酸及咖啡因之檢測方法

1. 標準品圖譜

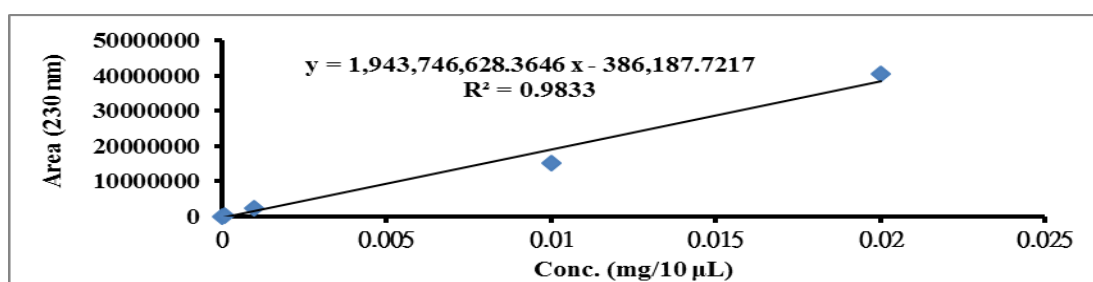


圖三：綠原酸與咖啡因標準品圖譜

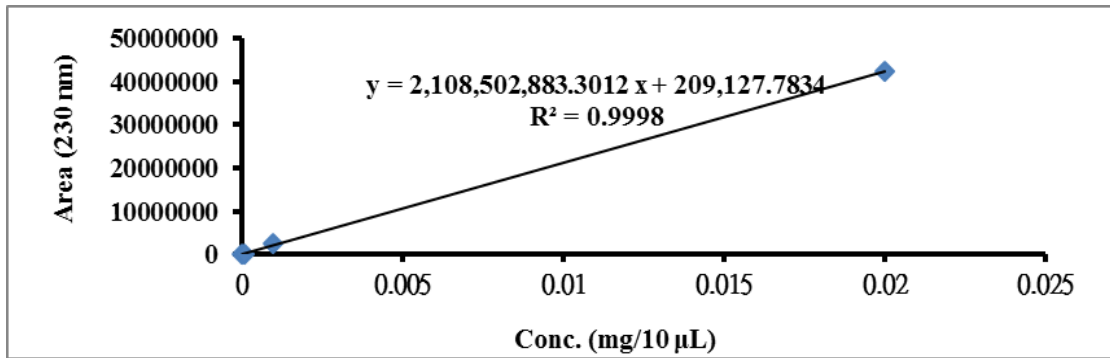
2. 測定方法：本實驗參考 Trugo 及 Macrae (1984) 之方法並修改。

(1) 取咖啡萃取樣品，以 1mL 針頭吸取樣品，經 Syringe Driven Filters (13 nm, 0.22 μm, ADVANGENE™) 中過濾後，稀釋至需要濃度於 1.5mL 離心管中保存備用，標準品同樣進行過濾。

(2) 綠原酸 (咖啡因)：以 10、20、30、40、50、100 μg/mL 濃度製作出檢量線。



綠原酸檢量線



咖啡因檢量線

(3) 高效能液相層析儀 (HPLC) : Pump (Hitachi L-2130)、Autosampler (Hitachi Primaide Series)、UV Detector (HITACHI UV-VIS Detector L-2420)、Column (Zorbax SB-C18, 5 μm, 4.6x250mm)、UV 偵測波長 : 230 nm

(4) 高效能液相層析儀 (HPLC) 條件設定 :




- ① Buffer A : Formic acid/water (0.1:99.9, v/v/v)
- ② Buffer B : Acetontrile
- ③ 梯度條件 : (Buffer A) 0-2.2 分鐘 100% , (Buffer A) 2.2-5 分鐘降至 96% ; (Buffer B) 升至 4% , (Buffer A) 5-10 分鐘 90% ; (Buffer B) 升至 10% , (Buffer A) 10-11 分鐘 90% ; (Buffer B) 10% 。
- ④ 流速 : 1.4mL/min
- ⑤ 注射量 : 10 μL

(5) 分離條件

- ① 0-3 min : 以 100% buffer A 流洗。
- ② 3-5 min : 以連續梯度改變至 95% buffer A 與 5% buffer B 。
- ③ 5-8 min : 以連續 95% buffer A 與 5% buffer B 流洗。
- ④ 8-10 min : 以連續梯度改變至 90% buffer A 與 10% buffer B 。
- ⑤ 10-20 min : 以連續梯度改變至 85% buffer A 與 15% buffer B 。

三、探討咖啡液萃取方式，其 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸及咖啡因含量

市面常見咖啡萃取方式為手沖、虹吸及高壓蒸氣萃取。萃取後的咖啡液以微量離心管密封冷凍，送至實驗室進行各項檢測，結果如下：





				
手沖萃取	虹吸萃取	高壓蒸氣萃取		
	DPPH 清除力%	碘還原力%	綠原酸含量 mg/mL	咖啡因含量 mg/mL
手沖	72.2334	39.2580	0.4255	0.8522
虹吸	69.7842	40.3258	0.3984	0.8372
高壓蒸氣	75.8094	42.1258	0.4738	0.7992
取細研磨咖啡粉 20g + 200mL 水萃取咖啡液				

發現：以高壓蒸氣式萃取所得咖啡液其 DPPH 清除力、碘還原力、綠原酸的含量均最高，相對咖啡因含量最低，與湯子嘉（2014）及金曉蘭（2003）研究結果一致。同時高壓蒸氣式萃取由機器設定萃取條件，能減少人為操作的誤差。

小結：因此後續實驗咖啡萃取方式採用「高壓蒸氣式」。

四、比較同種與不同種咖啡豆烘焙程度，其 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸及咖啡因含量。

(一)購買市售巴西進口水洗處理的的咖啡生豆，做為我們前導實驗的原料，進行淺、中、深焙。養豆 5 天後，取細研磨咖啡粉 20g + 200mL 水，以高壓蒸氣式萃取出咖啡液，檢測其 DPPH 值、碘還原力、綠原酸及咖啡因含量。

				
生豆	淺焙	中焙	深焙	
	DPPH 清除力%	碘還原力%	綠原酸含量 mg/mL	咖啡因含量 mg/mL
淺焙	84.2581	47.6609	0.5320	0.7458
中焙	75.8094	42.1258	0.4125	0.8192
深焙	61.4211	31.2185	0.1347	0.9234
烘焙完成養豆 5 天後，取細研磨咖啡粉 20g + 200mL 水，以高壓蒸氣式萃取				

發現：咖啡豆烘焙程度愈深，其 DPPH、碘還原力、綠原酸含量皆明顯降低，咖啡因濃度明顯增加，亦即淺焙方式保留較多對人體有益物質。

小結：此結果與文獻探討結果（金曉嵐，2003）一致，因此後續實驗咖啡豆採用「淺焙」。

(二)直接購買市售不同烘焙程咖啡豆

購買三大量販店品牌淺、中、深焙咖啡豆共 3 種，以相同方法檢測其 DPPH 值、碘還原力、綠原酸及咖啡因含量。

				
量販店自有品牌咖啡		研磨成粉準備萃取		高壓濃縮方式萃取
	DPPH 清除力%	碘還原力%	綠原酸含量 mg/mL	咖啡因含量 mg/mL
甲咖啡豆 (淺焙)	41.7548	25.9923	0.3072	0.8257
乙咖啡豆 (深焙)	55.2147	30.8756	0.3569	0.8379
丙咖啡豆 (中焙)	35.9862	37.2166	0.4183	0.7652


發現：三組咖啡豆的 DPPH 清除力、碘還原力、綠原酸和咖啡因含量差異頗大，深入分析其原因，發現咖啡豆品種、種植海拔、土壤養分、生豆處理方式（日曬或水洗）、生豆保存時間、烘焙程度、養豆時間、咖啡液萃取方式等皆會影響實驗結果。

小結：為有效控制後續實驗變因，決定採用台灣本土特色產業之咖啡豆。


五、拜訪咖啡農，瞭解咖啡生長、鮮果採集及生豆處理流程

發現：

(一)東山咖啡成長過程：因緯度或種植海拔高度不同，成長時間略有不同。

				
發芽期	成長期	開花期	結果期	採收期
動物食用果實排泄後自然播種發芽	約 3~5 年才能開花結果	國曆 2~3 月開始開白色小花	6~8 月為結果期	9 月~隔年 2 月是採收期

(二)咖啡果實結構

結構名稱	特徵說明	
外果皮	鮮紅的外層果皮，因而有 coffee cherry 之稱	
漿質果肉	外果皮下甜甜、黏黏、軟軟的淡黃色物質	
內果皮	種子與果肉之間，有保護作用的堅硬乳黃色豆形殼，曬乾後會與種子分離。	
銀皮	種子表面的薄膜組織	
種子	即咖啡豆，一般果實內有一雙成對種子；偶爾有些果實只有一個種子，稱為圓豆、單豆、果豆。	





(三)台灣咖啡樹適應能力相當好，幾乎沒有病蟲害發生，所以栽種不噴撒農藥，這是台灣咖啡可以安心飲用的一大優點。



小結：由於咖啡鮮果有果膠及內果皮包覆，無法確定是否會影響實驗結果，因此，本研究最後確定採集咖啡「鮮果」和農家水洗發酵曬乾的「生豆」進行進一步實驗。

六、探討咖啡豆以水果酵素或複合菌發酵後的初步結果

由於高經濟價值的麝香貓咖啡乃來自麝香貓吃下咖啡果實經過消化後，無法被分解的咖啡豆經處理後所得，究其原理，是經過消化道的乳酸菌作用，加上文獻中(湯子嘉，2014)也曾探討複合菌對咖啡發酵的影響，我們想嘗試使用水果酵素或常見的乳酸複合菌做實驗。首先先以農場曬乾的咖啡生豆用自行培養的水果酵素和常見的複合菌分別進行發酵 1、3、5、7 天的實驗。

				
奇異果酵素培養一週	浸泡奇異果酵素和複合菌	陰乾 2 天	烘焙咖啡豆	
	DPPH 清除力%	碘還原力%	綠原酸含量 mg/mL	咖啡因含量 mg/mL
奇異果酵素 (1 天)	72.7448	39.8441	0.4485	0.5485
奇異果酵素 (3 天)	69.3214	33.9275	0.3961	0.4866
A 複合菌 (1 天)	74.2586	75.2492	0.8626	0.6210
A 複合菌 (3 天)	70.3167	45.1983	0.7155	0.5720
市售生豆	81.2114	48.1875	0.5262	0.8236
取細研磨咖啡粉 20g + 200mL 水，以高壓蒸氣式萃取				

發現：

- (一)咖啡鮮果或生豆以水果酵素和複合菌發酵第 5 天後都開始腐敗。
- (二)奇異果酵素發酵 1 天、3 天咖啡豆的品質，除咖啡因濃度外，DPPH 清除力、碘還原力、綠原酸濃度皆明顯比複合菌發酵 1 天、3 天和市售生豆（對照組）差。

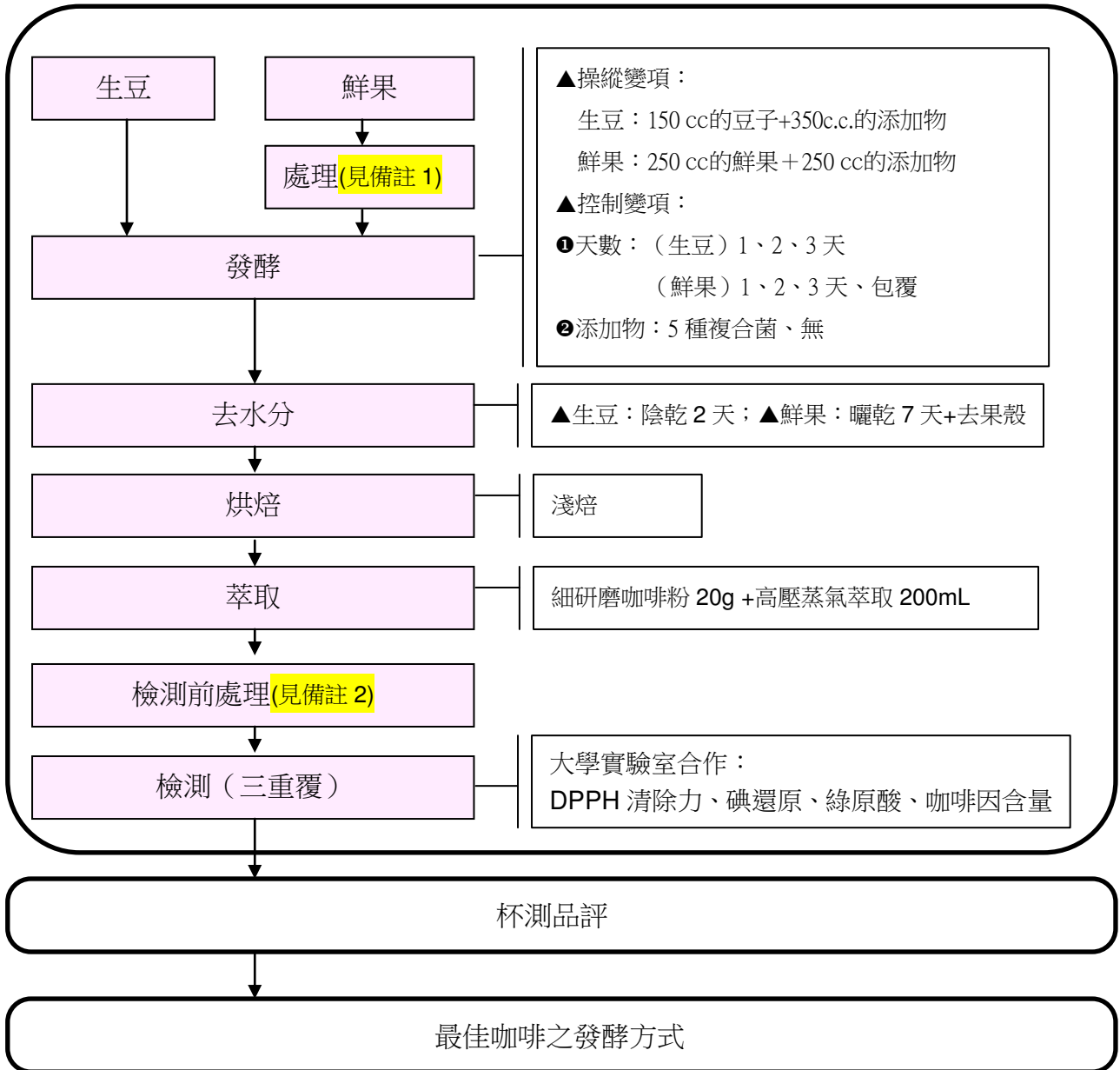
小結：

- (一)後續實驗發酵時間以不超過三天為原則，也就是 0、1、2、3 天為控制變項。
- (二)後續實驗決定採家庭常見的 5 種複合菌對咖啡豆進行發酵。
- (三)以研究一建立之咖啡豆處理、咖啡液萃取及檢驗之標準流程，進行研究二、三，咖啡生豆及鮮果 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸及咖啡因含量。

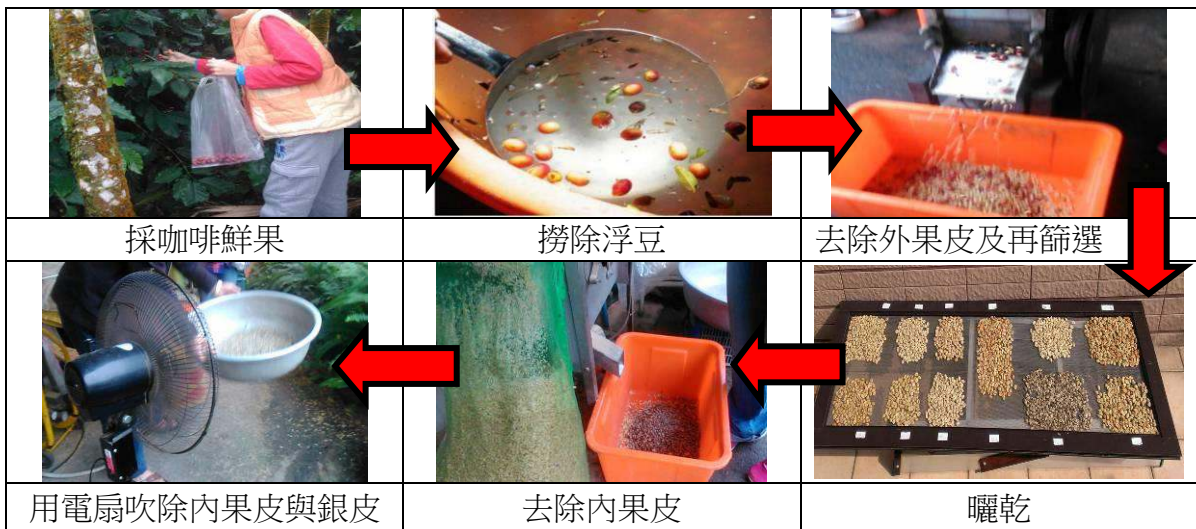
伍、研究結果與討論

【研究一】由文獻、實地訪察及前導實驗，建立咖啡豆處理、咖啡液萃取及檢測之標準流程

根據文獻探討、實地訪察及前導實驗，建立下面咖啡豆處理、萃取及檢測之標準流程，並與大學實驗室合作進行檢測分析，且為了確定咖啡之口感，在檢測分析完成後，針對結果較好的咖啡進行杯測品評，最後確定最佳品質咖啡之處理方式。結果如下圖所示：



▲備註 1：鮮果處理流程

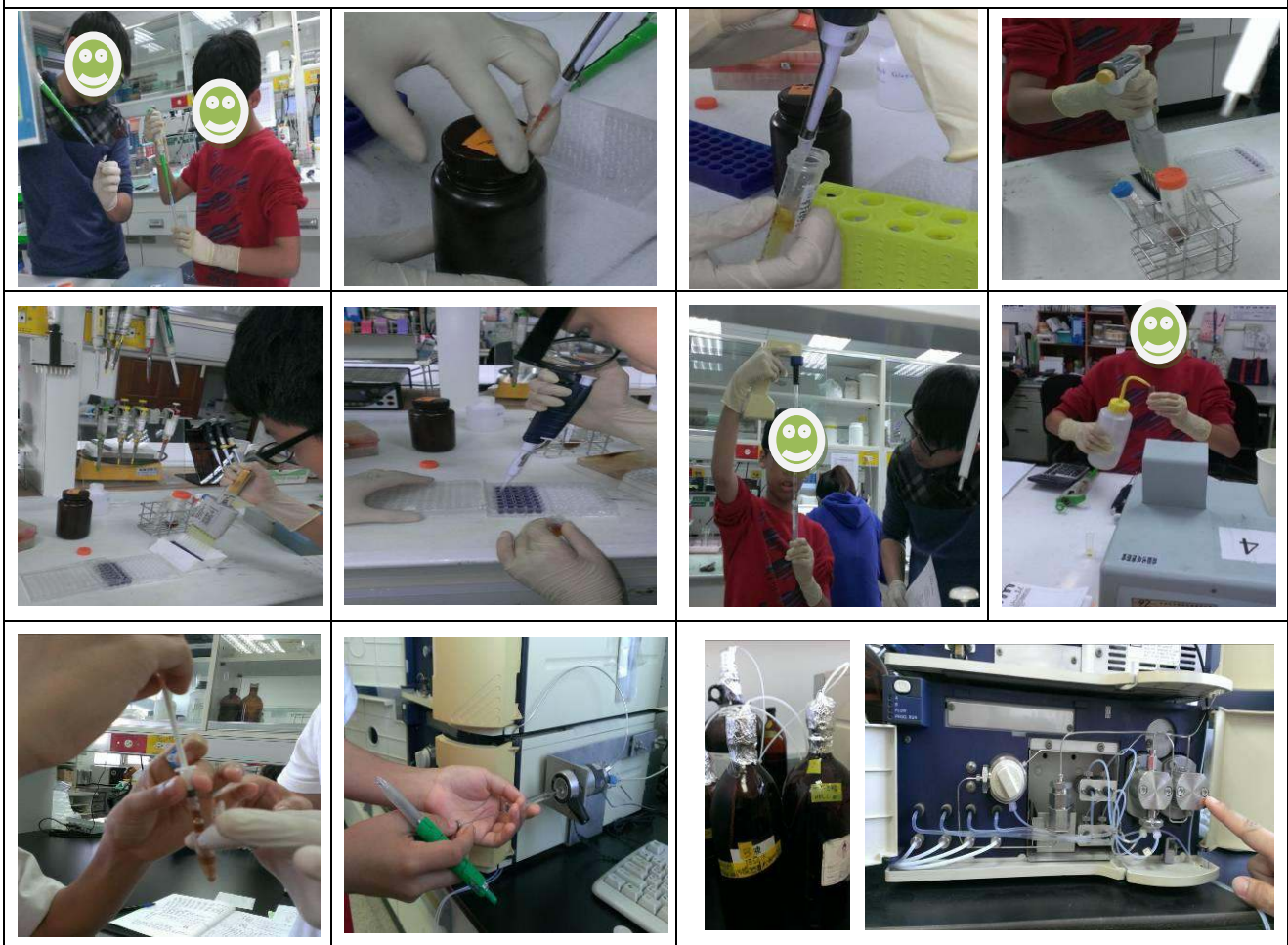


鮮果處理比生豆多了 5 個前置步驟，摘採咖啡鮮果、撈除浮豆、去除外果皮、再篩選，且還要曬乾 7 天、再去內果皮(種子皮)，而這也是最辛苦也最耗時間體力的工作。

▲備註 2：檢測前處理

- (1)對微量離心管密封冷凍之咖啡萃取液進行解凍。
- (2)配置各項檢測藥品：依一定比例混合，震盪混合均勻備用。
- (3)咖啡萃取液離心。
- (4)將咖啡樣品與檢測液依一定比例混合（DPPH 須避光 20 分鐘）。
- (5)以免疫酵素分析儀分別於波長 517nm 及 595nm 測定吸光值。

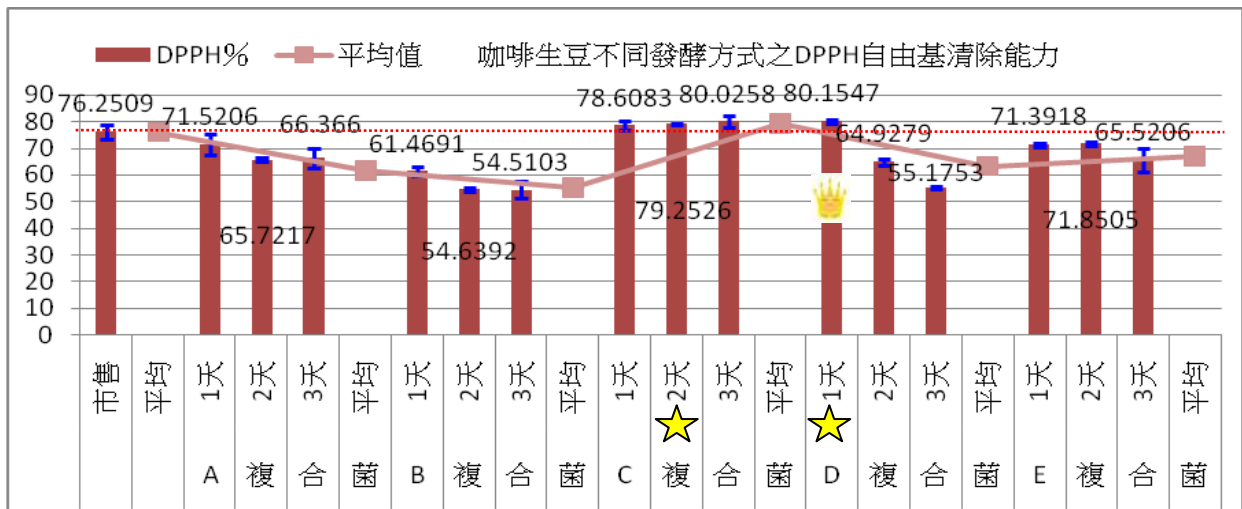
到實驗室學習如何測量 DPPH 清除力、碘還原力以及操作 HPLC 系統



〔研究二〕探討「咖啡生豆」、「咖啡鮮果」經不同複合菌常溫發酵後，其 DPPH 自由基清除能力、碘還原力、綠原酸與咖啡因含量之影響

一、咖啡生豆

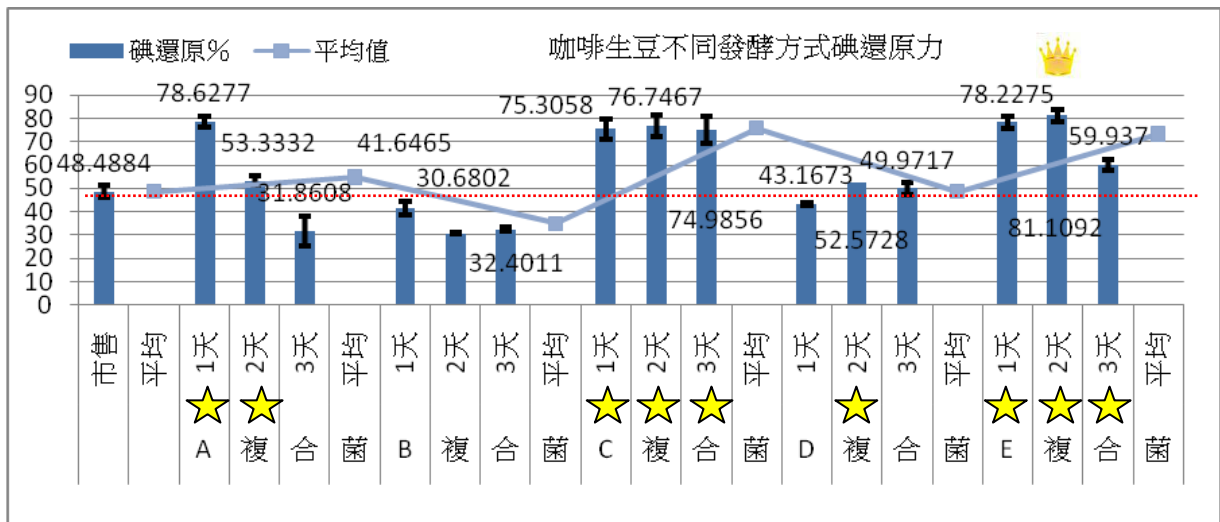
(一)不同複合菌對咖啡生豆發酵1、2、3天的DPPH自由基清除力實驗結果



★代表數據達顯著差異

1. 浸泡C複合菌2天和D複合菌1天這二組咖啡豆，其DPPH清除力高於市售生豆。
2. 浸泡5種複合菌的時間愈久，DPPH清除力愈低，自由基清除能力愈差。
3. 五種複合菌對咖啡清除DPPH能力影響為：C複合菌 > E複合菌 > D複合菌 > A複合菌 > B複合菌。
4. 其中，咖啡生豆以D複合菌發酵1天效果最佳，其值為市售生豆的1.05倍。

(二)不同複合菌對咖啡生豆發酵1、2、3天的碘還原力實驗結果

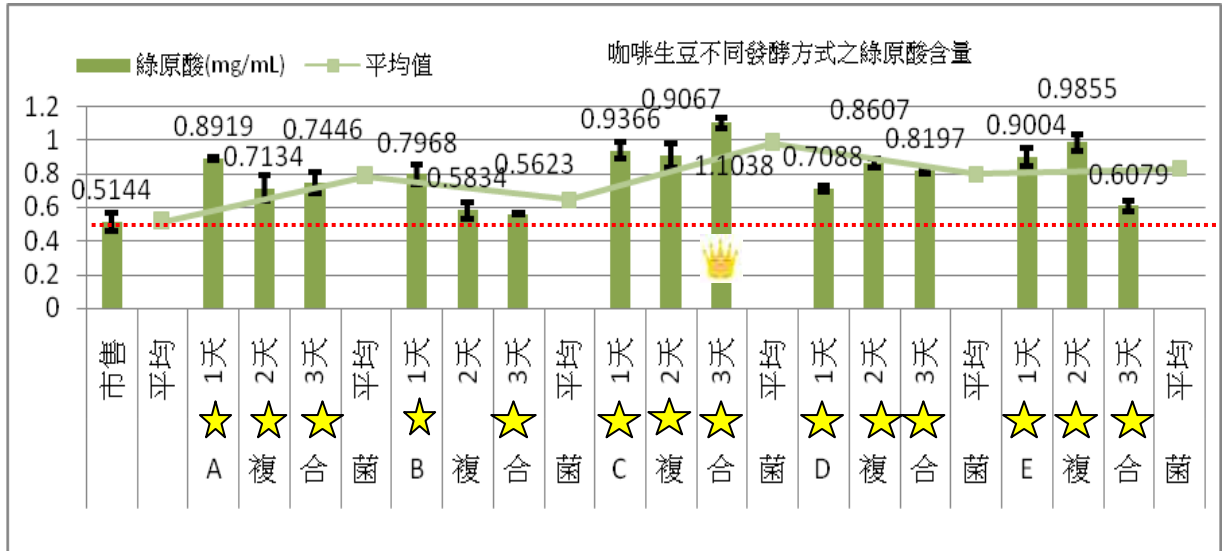


★代表數據達顯著差異

1. A複合菌發酵1、2天的二組、C複合菌三組、D複合菌發酵2天一組、E複合菌的三組，共九組咖啡豆，其碘還原力高於市售生豆。
2. 浸泡A、B複合菌的時間愈久，碘還原力愈差；C、D、E複合菌則以發酵2天碘還原力最佳。
3. 五種複合菌對咖啡碘還原能力影響為：C複合菌 > E複合菌 > A複合菌 > D複合菌 > B複合菌

4.可增進碘還原力的九組實驗中，以咖啡生豆以E複合菌浸泡2天，增加的碘還原能力最高，其值為市售生豆的**1.67**倍。

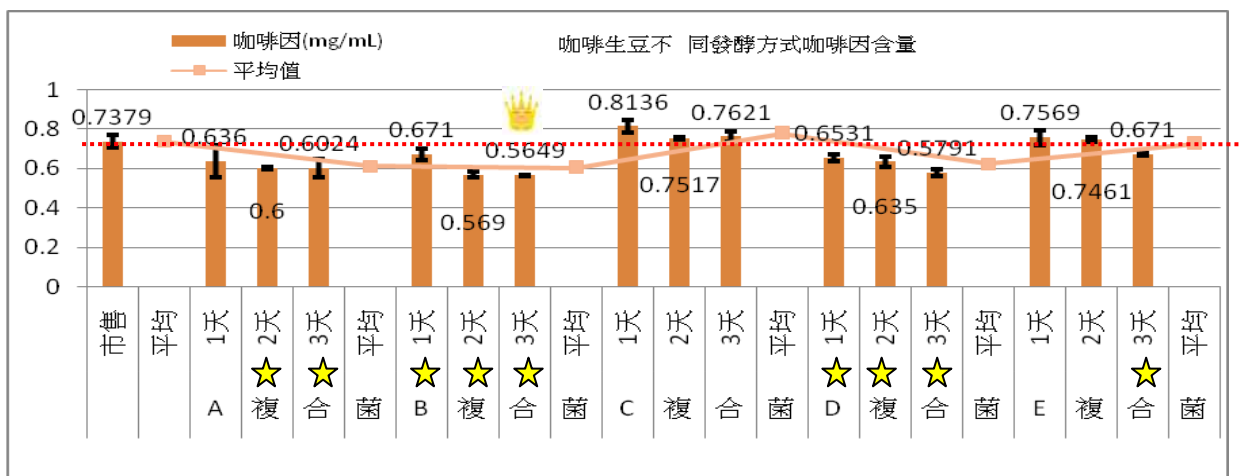
(三)不同複合菌對咖啡生豆發酵1、2、3天的「綠原酸」含量實驗結果



★ 代表數據達顯著差異

- 1.除浸泡B複合菌2天的咖啡豆外，餘浸泡五種不同複合菌所得綠原酸含量皆高於市售生豆。
- 2.五種複合菌對增加綠原酸含量影響為：C複合菌 > E複合菌 > D複合菌 > A複合菌 > B複合菌
- 3.綠原酸含量受複合菌種類及浸泡時間所影響，A複合菌和B複合菌以浸泡1天效果最佳，超過1天綠原酸含量明顯降低；C複合菌浸泡3天效果最好；D複合菌和E複合菌都是浸泡2天綠原酸含量達到最高。超過2天，浸泡D複合菌綠原酸含量緩慢下降，E複合菌下降快速。
- 4.其中以C複合菌浸泡咖啡生豆3天綠原酸含量最高，是市售生豆的**2.15**倍，效果顯著。

(四)不同複合菌浸泡咖啡生豆1、2、3天的「咖啡因」含量實驗結果



★ 代表數據達顯著差異

- 1.除浸泡A複合菌1天、C複合菌1~3天和浸泡E複合菌1、2天之外，其餘所測得之咖啡因含量皆低於市售生豆。
- 2.能有效降低咖啡因含量的複合菌有A、B、D三種。
- 3.實驗採用的五種不同複合菌，浸泡的時間愈長，咖啡因的含量愈低。
- 4.其中以B複合菌浸泡咖啡生豆3天咖啡因含量最低，和市售生豆相比降低了**23.44%**。

討論：

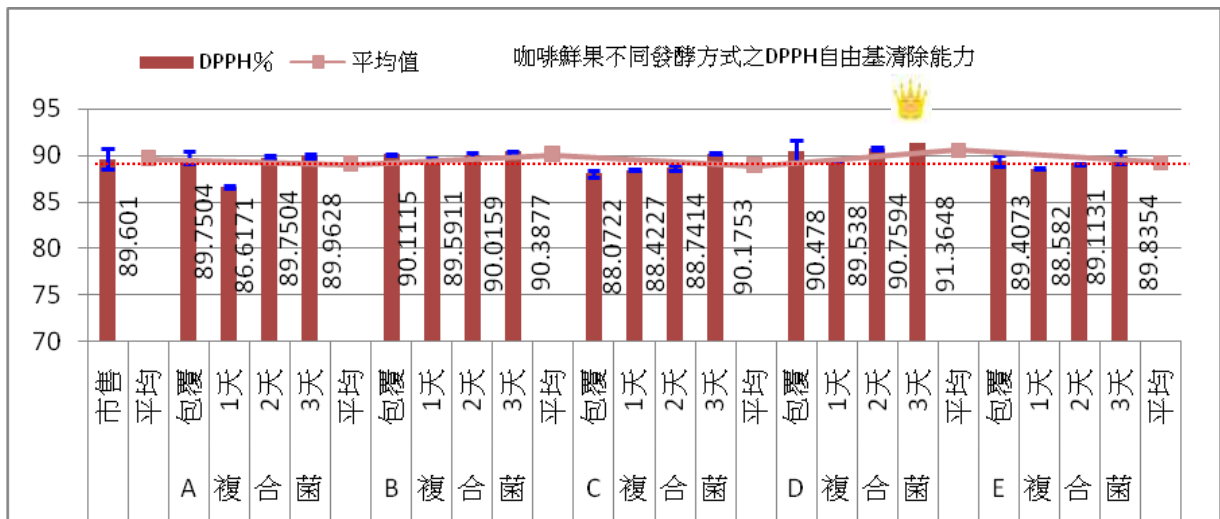
- (一)咖啡萃取液顏色可能會干擾機器對於吸光值的判讀，使得實驗的DPPH清除自由基數值增加不明顯。
- (二)碘還原力有較多組高出市售生豆，與 DPPH 清除力實驗結果不同，是因抗氧化能力是一個統稱，尚可細分成預防型（自由基生成抑制）、自由基清除型（起始反應或連鎖反應被抑制）及修復再生機能等，二者測量項目不同。
- (三)C 複合菌對 DPPH 清除力、增加碘還原力和綠原酸含量效果最佳，降低咖啡因效果卻最差，除了因菌種不同所導致，亦可能為 C 複合菌黏稠性較高，導致對降低咖啡因效果不佳。
- (四)浸泡時間愈長，對降低咖啡因效果愈明顯，但 DPPH 清除力、碘還原力卻愈差，唯綠原酸含量與浸泡時間長短無一定關係。詳見下表

浸泡液 最佳天數	A 複合菌	B 複合菌	C 複合菌	D 複合菌	E 複合菌
DPPH 清除力	第 1 天	第 1 天	第 1~3 天	第 1 天	第 1~2 天
碘還原力	第 1 天	第 1 天	第 1~3 天	第 2~3 天	第 1~2 天
綠原酸含量高	第 1 天	第 1 天	第 3 天	第 2~3 天	第 1~2 天
咖啡因含量低	第 2~3 天	第 2~3 天	第 2~3 天	第 3 天	第 3 天

- (五)本實驗選用台南東山阿拉比卡水洗式處理的生豆，水洗過程中，咖啡本身的酵素即會產生微量發酵作用，加上生豆含水量低，又已去除外層的果膠與內果殼和大部份的銀皮，因此複合菌浸泡液可以快速滲入豆子內部產生化學效應，發酵天數不需太長，即可明顯改善咖啡品質；也比較不易因浸泡天數過長產生腐敗或汙染。

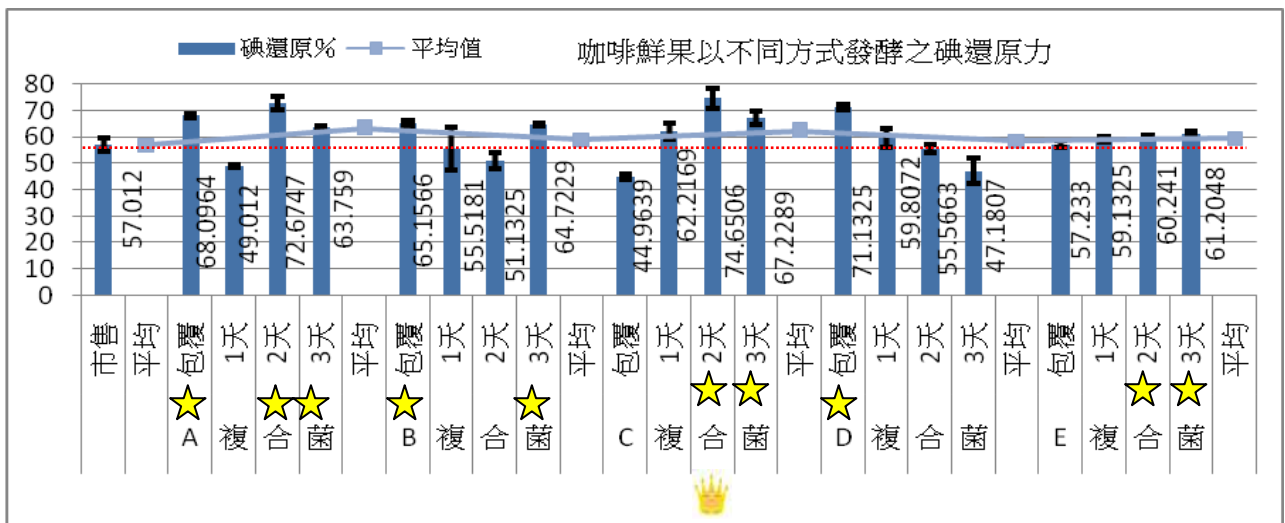
二、咖啡鮮果

- (一)不同複合菌對咖啡鮮果發酵 1、2、3 天及包覆的 DPPH 自由基清除力實驗結果



1. 浸泡五種複合菌共二十組咖啡豆，其DPPH清除力皆未顯著高於市售生豆。
2. 浸泡五種複合菌3天內，浸泡時間愈長，DPPH清除力愈高；直接包覆複合菌效果並沒有顯著優於浸泡方式。
3. 五種複合菌對咖啡的DPPH自由基清除能力影響差異雖然不大，但仍可判別出：D複合菌 > B複合菌 > A複合菌 > E複合菌 > C複合菌。
4. 由二十組複合菌發酵實驗中，以D複合菌3天其DPPH清除力最大值，為市售生豆的1.01倍。

(二)不同複合菌對咖啡鮮果發酵1、2、3天及包覆的碘還原力實驗結果

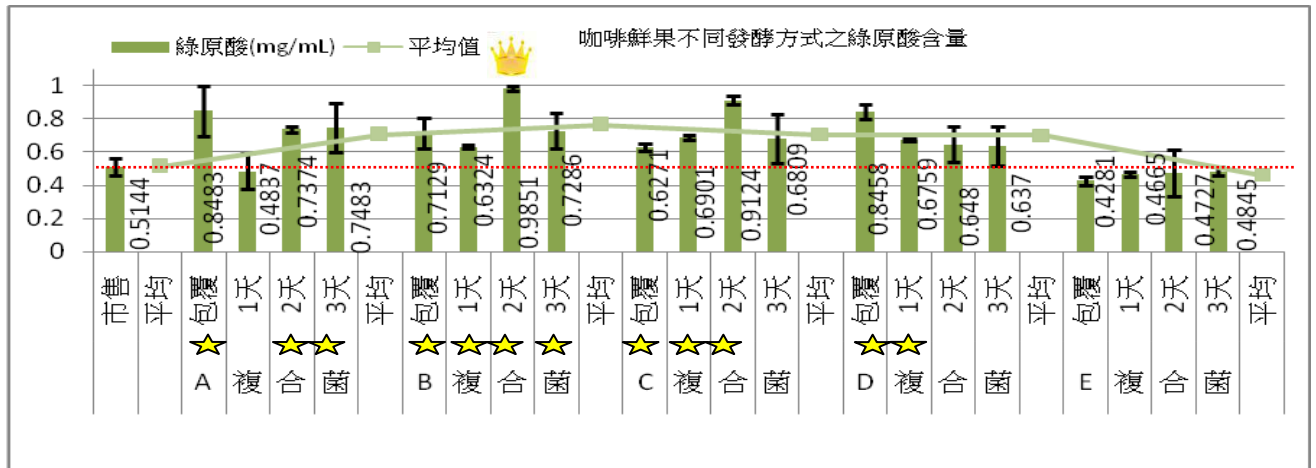


★ 代表數據達顯著差異

1. 和市售生豆比較：A複合菌三組；B複合菌二組；C複合菌二組；D複合菌一組和E複合菌二組，共十組其碘還原力較高。
2. 發酵時間對碘還原力的影響：以A複合菌和C複合菌發酵2天碘還原力最高；以B複合菌發酵3天或包覆碘還原力亦佳；D複合菌則以直接包裹效果最佳；E複合菌則無顯著差異。

- 3.五種複合菌對咖啡碘還原能力影響為：A複合菌>C複合菌>E複合菌>B複合菌>D複合菌
- 4.可增加碘還原力的十組實驗中，咖啡鮮果以C複合菌發酵2天，增加的碘還原能力最高，其值為市售生豆的1.31倍。

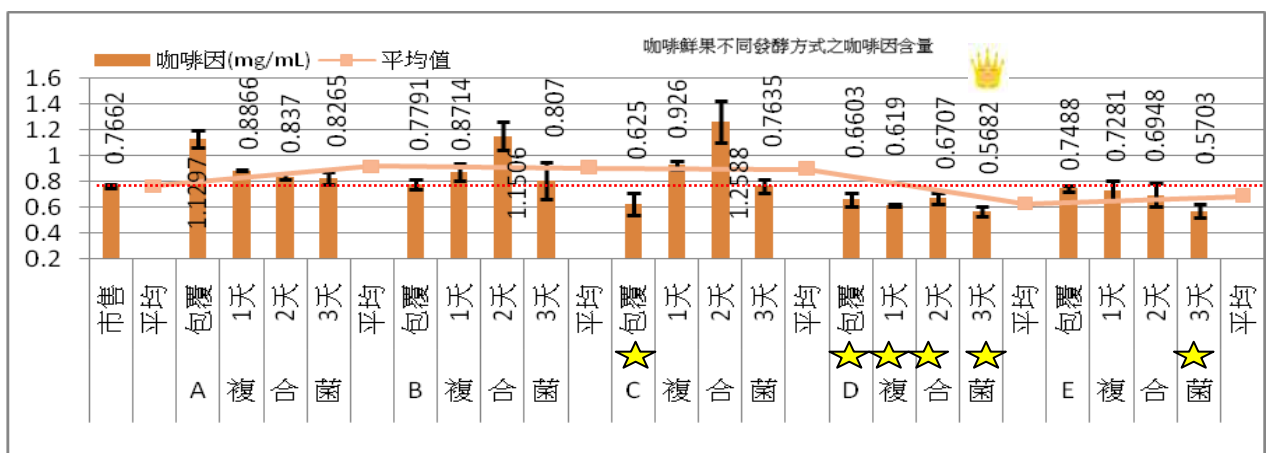
(三)不同複合菌對咖啡鮮果發酵1、2、3天及包覆的「綠原酸」含量實驗結果



★代表數據達顯著差異

- 1.二十組實驗中有十二組綠原酸高於市售生豆，分別是：A複合菌包覆、2、3天；B複合菌四組、C複合菌包覆、1、2天和D複合菌包覆、1天。
- 2.五種複合菌對綠原酸含量影響為：B複合菌>C複合菌>A複合菌>D複合菌>E複合菌。
- 3.鮮果以不同複合菌發酵，其時間長短對增加綠原酸含量的影響不同，A複合菌和D複合菌以直接包覆最佳；B複合菌、C複合菌以發酵2天效果最好。
- 4.可增加綠原酸含量的十二組實驗中，以B複合菌浸泡2天綠原酸含量最高，是市售生豆的1.92倍，效果顯著。

(四)不同複合菌對咖啡鮮果發酵1、2、3天及包覆的「咖啡因」含量實驗結果



★代表數據達顯著差異

- 1.和市售生豆相較，C複合菌包**覆**；D複合菌1~3天和包**覆**；E複合菌3天共六組，測得咖啡因含量低於市售生豆。
- 2.五種複合菌對降低咖啡因含量影響：D複合菌>E複合菌>C複合菌>B複合菌>A複合菌。
- 3.不同發酵時間與咖啡因的含量多寡：C複合菌以直接包**覆**最低，其餘四種複合菌都以發酵3天咖啡因含量最低。
- 4.可降低咖啡因的6組實驗中，以D複合菌浸泡咖啡鮮果3天咖啡因含量最低，和市售生豆相比降低**26%**。

討論：

- (一)DPPH清除力增加不明顯可能原因之一是咖啡萃取液顏色干擾吸光度；或者複合菌發酵對DPPH自由基清除能力沒有顯著影響。
- (二)碘還原力有較多組高出市售生豆，與 DPPH 清除力實驗結果不同，其原因在生豆實驗中已討論過。
- (三)鮮果浸泡時間長短對 DPPH 清除力、碘還原力、增加綠原酸含量與降低咖啡因含量，選用不同複合菌浸泡最佳天數各不相同。詳見下表

浸泡液 最佳天數	A 複合菌	B 複合菌	C 複合菌	D 複合菌	E 複合菌
DPPH 清除力	第 2~3 天或包 覆	第 2~3 天或包 覆	第 3 天	第 3 天或包 覆	第 3 天或包 覆
碘還原力	第 2 天	第 3 天或包 覆	第 2 天	包 覆	第 1~3 天
綠原酸含量	包 覆	第 2 天	第 2 天	包 覆	第 1~3 天
咖啡因含量	第 1~3 天	第 1,3 天或包 覆	包 覆	第 3 天	第 3 天

- (四)和生豆比較，鮮果需要較長的發酵時間才能改善咖啡品質，原因為鮮果去外果皮後，尚有果膠與內果殼和銀皮，因此複合菌浸泡液無法快速滲入豆子內部產生化學效應，浸泡天數需要較長，如能克服因發酵天數過長所產生的腐敗或汙染，也許適度增加發酵時間能獲得品質更好的咖啡。

〔研究三〕挑選出「咖啡生豆」和「咖啡鮮果」經各複合菌發酵後，所製成品質最佳的咖啡，以杯測法找出最健康美味的咖啡製程

為讓咖啡杯測結果更為準確，徵求具有咖啡相關背景的師長親友八位為主要杯測人員，

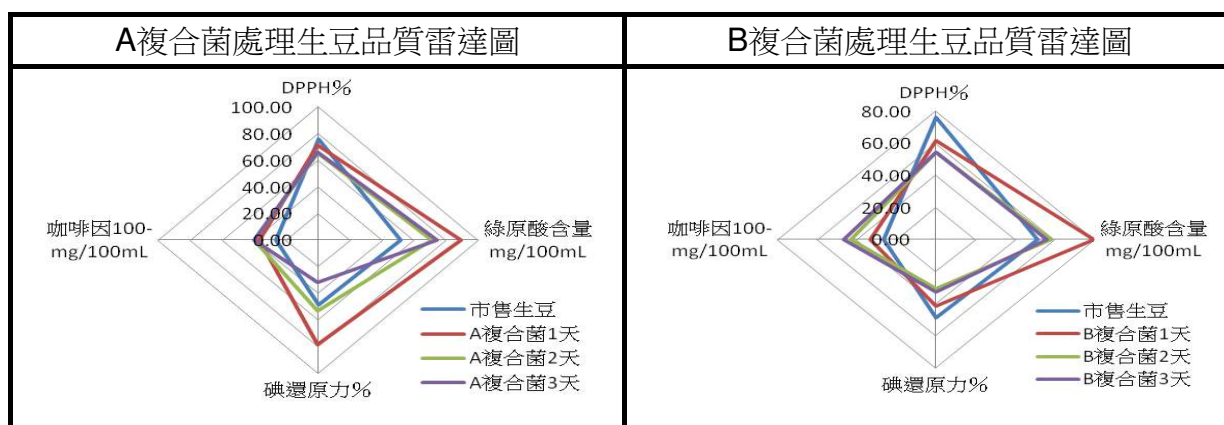
採用的品評方式為CoE(Cup of Excellence)國際咖啡杯測賽的方法，分8大評分項目，每項最高是8分最低是0分，加權36分，總分100分。總分在70~79分，為一般較優商業豆；總分在80~83.5分，屬於精品咖啡；總分84分以上，屬於CoE競賽級（田口護，1999）。同時在問卷上詳細說明給分標準（詳見問卷）結果證實八位杯測員給分標準相當一致。

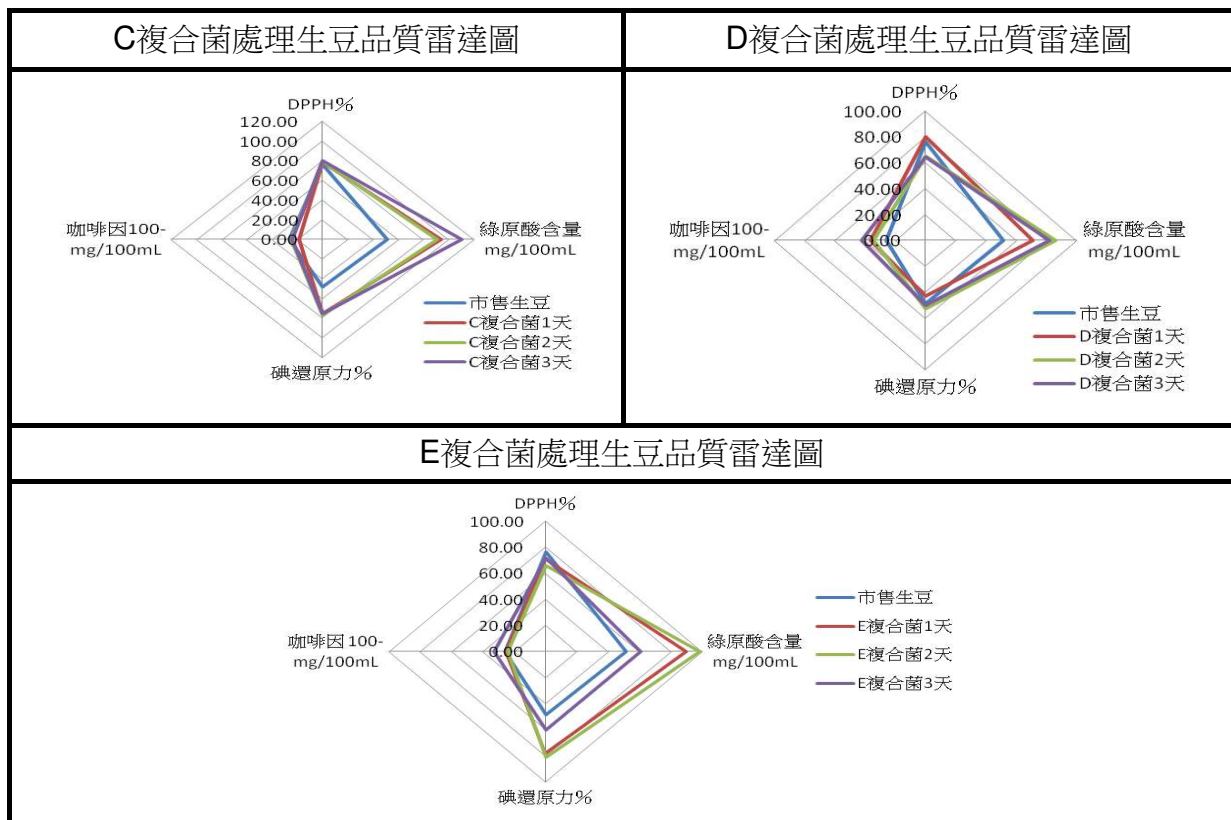
一、咖啡生豆

（一）選出參加杯測的複合菌發酵咖啡

由下列六張雷達圖，二十組實驗數據和市售生豆比較得知（以雷達圖所圍四邊形面積為總得分，面積愈大得分愈高），共十三組得分高於市售生豆，如下表。接著從五種複合菌，各選出一組總得分最高的咖啡豆（紅色註記），與市售生豆共六組進行品評。

咖啡生豆處理方式	DPPH 清除力 %	碘還原力 %	綠原酸含量 mg/100mL	100-咖啡因含量 mg/100mL	總分
市售生豆	76.2509	48.4884	51.44	26.21	4842.95
1.A 複合菌 1天	71.5206	78.6277	89.19	36.40	9428.56
2.A 複合菌 2天	65.7217	53.3332	71.34	40.00	6627.51
3.A 複合菌 3天	66.3660	31.8608	74.46	39.76	5609.73
4.B 複合菌 1天	61.4691	41.6465	79.68	32.90	5804.38
5.C 複合菌 1天	78.6083	75.3058	93.66	18.64	8642.28
6.C 複合菌 2天	79.2526	76.7467	90.67	24.83	9008.96
7.C 複合菌 3天	80.0258	74.9856	110.38	23.79	10398.94
8.D 複合菌 1天	80.1547	43.1673	70.88	36.69	6632.87
9.D 複合菌 2天	55.9279	52.5728	86.07	34.50	6540.96
10.D 複合菌 3天	64.1753	49.9717	81.79	42.09	6512.81
11.E 複合菌 1天	71.3918	78.2275	90.04	25.31	8629.29
12.E 複合菌 2天	65.8505	81.1092	98.55	24.39	9402.41
13.E 複合菌 3天	71.5206	59.9370	60.79	32.90	5877.06





(二) 官能品評結果

複合菌種類	市售(生豆)	A複合菌	B複合菌	C複合菌	D複合菌	E複合菌
發酵時間	未知	1天	1天	3天	1天	2天
1..香氣	5.50	4.13	5.31	4.25	5.50	5.13
2.乾淨度	5.63	4.50	5.25	4.63	5.25	5.13
3.甜度	5.13	5.38	5.38	4.00	5.25	4.75
4.酸質	4.88	5.50	4.75	4.38	5.88	4.75
5.濃稠度	4.57	5.13	4.25	4.63	5.25	4.75
6.結尾/尾韻	5.13	5.63	5.25	4.25	5.88	5.25
7.均衡度	5.13	4.88	5.25	4.25	5.88	4.88
8.整體評價	5.38	4.88	5.25	4.13	5.88	5.13
加權36總分	77.25	76.00	76.69	70.50	80.75	75.75

結果：

(一)五組生豆以複合菌發酵所得加權平均分數都在70分以上，均達到一般較優商業豆的等級；D複合菌發酵1天的咖啡豆加權平均分數80.75已達精品咖啡等級。

(二)香氣：只有D複合菌發酵1天的香氣和市售生豆得分一樣，其餘四組皆低於市售生豆。

(三)乾淨度：全部低於市售生豆。

(四)甜度：A複合菌、B複合菌、D複合菌得分高於市售生豆；E複合菌和C複合菌得分低於市售生豆。

(五)酸質：A複合菌、D複合菌得分高於市售生豆；B複合菌、C複合菌、E複合菌得分低於市售生豆。

(六)濃稠度：A複合菌、C複合菌、D複合菌、E複合菌得分高於市售生豆；只有B複合菌得分低於市售生豆。

(七)結尾/尾韻：A複合菌、B複合菌、D複合菌、E複合菌得分高於市售生豆；只有C複合菌得分低於市售生豆。

(八)均衡度：B複合菌和D複合菌發酵高於市售生豆，其餘四組得分皆低於市售生豆。

(九)整體評價：只有D複合菌發酵高於市售生豆，其餘四組得分皆低於市售生豆。

討論：

(一)複合菌發酵的咖啡豆帶有些許發酵乳的味道氣味較為複雜，因而香氣和乾淨度兩個項度分數皆低於市售生豆。

(二)甜度方面有三組經複合菌發酵1天的得分明顯高於市售生豆，其餘二組發酵2和3天得分較低，可能因為發酵時間較長導致甜味消失。

(三)酸質方面C複合菌得分最低，對照研究一結果其綠原酸含量最高，因為酸味過於明顯，而參與杯測人員對酸味明顯的咖啡接受度不高所致。

(四)濃稠度除B複合菌外，其餘四組均高於市售生豆，原因可能來自於咖啡中的蛋白質醣類等被分解成更為小的分子所致。

(五)結尾/尾韻方面，有四組高於市售生豆，顯示發酵咖啡的好風味能在口腔中停留更久。

(六)均衡度是指咖啡各個評項是否均衡，在此一評項得分最高的D複合菌，其餘評項得分差距均小。如有某些評項得分差距較大，也會導致均衡度得分偏低。

(七)整體評價方面，發酵咖啡有多組在尾韻、濃稠度、甜度等項目高於市售咖啡生豆，整體評價卻只有一組得分高於市售生豆，其可能原因為大眾更重視咖啡的香味，因發酵咖啡香味特殊導致整體評價給分較低。

(八)C複合菌的雷達圖所圍面積是市售生豆的**2.15**倍，杯測得分也達較高品質商業豆，因此

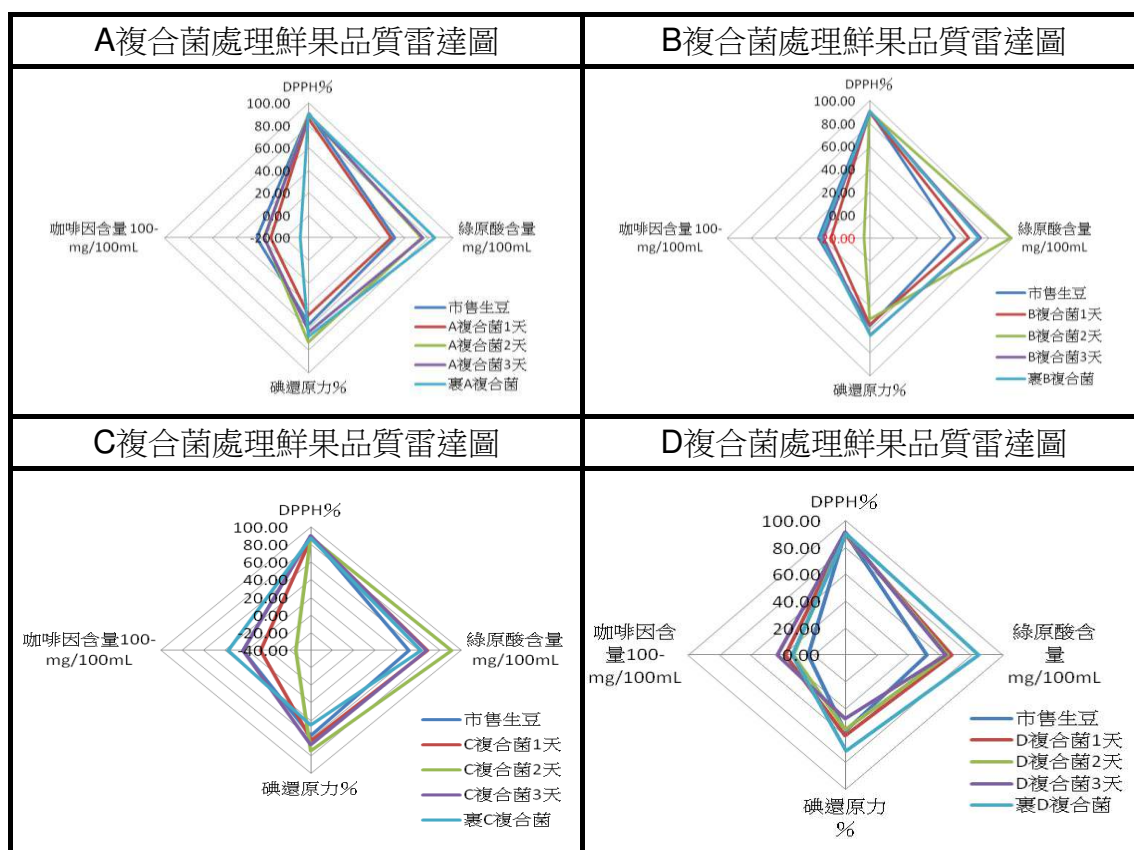
「**生豆以C複合菌發酵3天所得之咖啡**」是有益成分最高也兼具美味的咖啡。

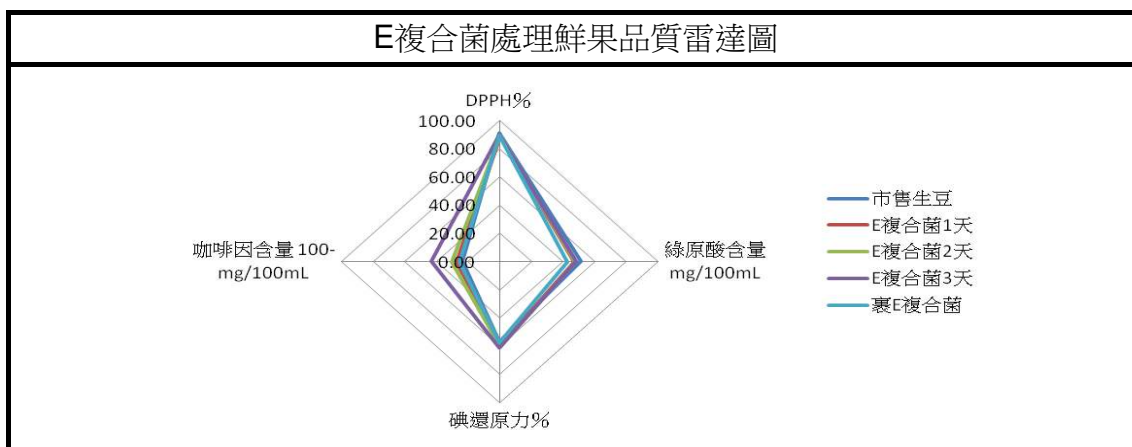
二、咖啡鮮果

(一) 選出參加杯測的複合菌發酵咖啡：

方法同咖啡生豆，共選出紅色註記的五組發酵咖啡豆進行官能品評。

咖啡鮮果處理方式	DPPH %	碘還原力 %	綠原酸含量 mg/100mL	100-咖啡因含量 mg/100mL	總分
市售生豆	90.7010	57.0121	51.44	23.38	5525.95
1.A 複合菌 2 天	89.7504	72.6747	73.74	16.30	7312.38
2. A 複合菌 3 天	89.9628	63.7590	74.83	17.35	7085.04
3. 覆 A 複合菌	89.7504	68.0964	84.83	(12.97)	5671.44
4. B 複合菌 3 天	90.3877	64.7229	72.86	19.30	7612.83
5. 覆 B 複合菌	90.1115	65.1566	71.29	22.09	7249.47
6. C 複合菌 1 天	88.4227	62.2169	69.01	7.40	5755.19
7. C 複合菌 2 天	88.7414	74.6506	91.24	(25.88)	5339.65
8. C 複合菌 3 天	90.1753	67.2289	68.09	23.65	7140.55
9. 覆 C 複合菌	88.0722	44.9639	62.71	37.50	6631.97
10. D 複合菌 1 天	89.5380	59.8072	67.59	38.10	8024.05
11. D 複合菌 2 天	90.7594	55.3663	64.80	32.93	7197.30
12. D 複合菌 3 天	91.3648	47.1807	63.70	43.18	7228.74
13. 覆 D 複合菌	90.4780	71.1325	84.58	33.97	9285.23
14. E 複合菌 3 天	89.8354	61.2048	48.45	42.95	6902.54





(二) 官能品評結果

本次品評特別找出與本研究同品種之台灣咖啡生豆，且發酵過程、烘焙程度、養豆時間皆與我們相近的高價「山○觀麝香蜜咖啡豆」，其聲稱與印尼麝香貓咖啡口感有85%相似度（湯子嘉，2014），和我們自製的發酵咖啡一起杯測，結果如下：

複合菌種類	市售東山生豆	山○觀麝香蜜咖啡	A複合菌	B複合菌	C複合菌	D複合菌	E複合菌
發酵時間	未知	14天	2天	3天	3天	包覆	3天
香氣	5.25	4.75	5.63	6.13	5.13	5.88	5.88
乾淨度	4.75	4.25	6.13	5.63	5.50	6.13	6.06
甜度	4.50	4.00	5.00	5.38	4.75	5.50	5.75
酸質	4.38	4.00	4.88	4.88	4.75	5.13	4.75
濃稠度	4.75	4.63	4.50	4.64	4.88	5.13	4.88
結尾/尾韻	4.63	5.00	5.75	6.25	5.63	5.88	5.88
均衡度	5.00	4.38	5.50	5.75	5.38	5.88	5.63
整體評價	4.75	4.75	5.75	5.88	5.63	6.25	5.94
加權總分	74.00	71.75	79.13	80.50	77.63	81.75	77.85

結果：以CoE杯測標準為判斷依據

(一)五組生豆以複合菌發酵平均加權總分都在70分以上，均達到一般較優商業豆的等級；尤以B複合菌發酵3天和D複合菌包覆發酵的咖啡豆加權平均分數達精品咖啡等級，其中又以D複合菌包覆發酵的咖啡豆分數最高。

(二)香氣：有A複合菌、B複合菌、D複合菌、E複合菌共四組的香氣高於市售生豆。

(三)濃稠度：有A複合菌、C複合菌、D複合菌、E複合菌共四組的濃稠度高於市售生豆。

(四)乾淨度、甜度、酸質、結尾/尾韻、均衡度、整體評價六個評分細項，5組發酵咖啡皆高於市售生豆。

(五)聲稱與印尼麝香貓咖啡香味口感達85%的山○觀麝香蜜咖啡所有得分，杯測結果低於我們自製的複合菌發酵咖啡。

(六)D複合菌包裹發酵的雷達圖所圍面積是市售生豆雷達圖所圍面積的**1.68**倍，杯測得分也最高，因此「**鮮果以D複合菌包覆發酵所得之咖啡**」是有益成分最高也最美味的咖啡。

討論：

從咖啡鮮果摘採經過繁複手續自行製成發酵咖啡，杯測總得分高於市售咖啡，細究其可能原因來自於：

(一)複合菌能將咖啡豆內的蛋白質或醣類，分解成更細微的分子，讓咖啡烘焙時產生更多香氣。乾淨度得分領先原因，可能是我們所摘採咖啡豆都經過仔細挑選，果實絕對成熟飽滿沒有病蟲害，更沒有過熟的發酵豆或其它雜質混入，因此喝起來純淨無雜味。

(二)咖啡鮮果經過不同複合菌發酵，歷經複雜反應，因此增加咖啡的濃稠度，也讓甘甜香等味道留於口頰之中，久久不散，相對尾韻和濃稠度得分也高於市售咖啡。

(三)當一組咖啡豆杯測香氣、乾淨度、甜度等幾個向度都得到較高的得分時，其均衡度與整體評價也會得到好的評價，加權總分也會比市售咖啡豆高。

陸、結論

本研究經過多次前導實驗建立實驗標準流程後，採用本土台南東山咖啡豆，分別以市面容易取得的五種複合菌，進行不同時間的發酵，了解咖啡豆DPPH自由基清除能力、碘還原力和綠原酸、咖啡因含量多寡的變化，有了以下幾點發現：

一、一般民眾可採用以日常隨處可見物品組裝之第三代簡易烘豆機，可以喝多少烘焙多少，隨時飲用最美味、營養價值最高的咖啡，同時解決咖啡不易保存的問題。專業研究則採用可控溫及控速之第四代自製烘焙機。

二、經前導實驗確立咖啡豆以複合菌發酵後乾燥淺焙、養豆五天後，採用細研磨咖啡粉20g加水200mL以高壓蒸氣式萃取咖啡液，和大學實驗室合作進行後續檢測或進行杯測。

- 三、咖啡生豆或鮮果以複合菌發酵，的實驗結果顯示其對DPPH自由基清除能力不升反降，有可能是咖啡萃取液的顏色影響實驗結果所致。
- 四、咖啡生豆或鮮果以複合菌發酵，其碘還原力顯著優於市售生豆，達全部實驗半數以上。
- 五、複合菌對咖啡生豆或鮮果進行發酵，共有二十六組綠原酸含量均顯著高於市售生豆。
- 六、複合菌對咖啡生豆或咖啡鮮果進行發酵，共有十五組咖啡因顯著低於市售生豆。
- 七、咖啡生豆以C複合菌發酵3天，咖啡鮮果以D複合菌直接包覆發酵，能得到最健康美味的發酵咖啡。
- 八、實驗過程中，嘗試以恒溫槽(37°C)進行複合菌發酵實驗，結果顯示和常溫發酵的效果相同，因此，我們建議以複合菌進行常溫發酵即可。
- 九、咖啡鮮果保存不易，製作費工且不易取得；經此次研究發現，咖啡生豆經過發酵處理，其所提升的DPPH自由基清除能力、碘還原力、增加綠原酸含量、降低咖啡因的效果不比咖啡鮮果差，可直接購買生豆以更輕鬆便利的方式製作優質咖啡。
- 十、經專業人士杯測結果，發酵咖啡品質皆達優質商業豆，其中三組豆子更達精品咖啡等級。希望此次研究結果，能推廣至近年蓬勃發展的台灣咖啡產業，使台灣咖啡揚名海外，改善台灣咖啡小農的生活，讓國人以更衛生且經濟實惠的價格品嚐最優質的咖啡。

柒、參考資料







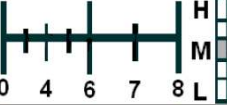
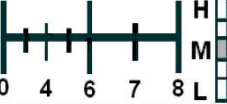

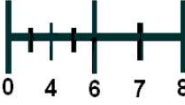

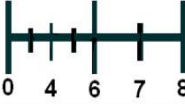
- 一、湯子嘉(2014)。探討複合菌發酵咖啡豆利用不同沖泡方式之抗氧化力（未出版的碩士論文）。雲林：環球科技大學生物技術研究所。
- 二、金曉嵐(2003)。沖泡咖啡之製備及咖啡豆炒焙程度對抗氧化能力之影響（未出版的碩士論文）。台北：輔仁大學食品營養學系。
- 三、方靜文(2005)。金銀花活性成分綠原酸之定量研究（未出版的碩士論文）。台中：中國醫藥大學中國藥學研究所。
- 四、田口護（1999）。田口護的精品咖啡大全。台北市：積木出版社。
- 五、國中自然與生活科技二下課本。第二章 氧化還原反應（25-54頁）。康軒文教事業。
- 六、國中自然與生活科技一上生物課本。第四章 生物體的運輸作用（70-91頁）。康軒文教事業。

- 七、中華民國第50屆中小學科學展覽會高中組生物（生命科學）作品---蔬果與飲料總抗氧化性活性之研究
- 八、中華民國第47屆中小學科學展覽會高職組農業及生物科技作品---抗氧化能力測定與應用。
- 九、高雄市第54屆國中小科學展覽會國中組生活應用科學作品---啡常健康—探討咖啡的抗氧化力。
- 十、Shimada, K.; Fujikawa, K.; Yahara, K.; Nakamura, T. (1992) . Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 40(6): 945-948.
- 十一、Trugo, L.C., Macrae, R. (1984) . A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. *Food Chemistry*. 1984, 15(3): 219-227.
- 十二、Joe Hsu (2009年6月14日) 。 CoE杯測表歐舍中文版。取自
<http://www.baristaguildoftaiwan.org/index.php/topic,400.0.html>

歐舍咖啡 CoE 杯測表

代號：_____日期：年_月_日

杯測者：_____

項目	紀錄	描述	
烘焙色 Roast Color Deviation			缺點 Defect (四杯) 各杯缺點：__、__、__、__ (0~3，取最嚴重 i) 缺點杯數：__ (#) 缺點分： $i \times \# \times 4 \times (-1) =$ _____ <div style="border: 1px solid black; width: 50px; height: 40px; margin: 10px auto; text-align: center;">扣分</div>
香氣 Aroma (-3~+3) 本項分數供參考,不列入總分	乾香氣 DRY		
	破渣前 CRUST		
	破渣後 BREAK		
1. 乾淨度 Clean cup			評分
2. 甜味 Sweetness			評分
3. 酸質 Acidity			評分
4. 口腔觸感 Mouthfeel			評分
5. 啜吸風味 Flavour			評分
6. 餘味 Aftertaste			評分
7. 平衡度 Balance			評分
8. 整體 Overall			評分
總分 Final points	各評項分數 + 36 分 = _____		加 36 分

【評語】 030803

研究咖啡發酵、烘培製程，比較不同複合菌對於咖啡之DPPH、
碘還原力、綠原酸咖啡因含量之變化與主觀品評分析，具客觀與主
觀評量分析具生活應用價值與經濟利益。研究具生物與製程知識，
主觀客觀評量完備。