

# 中華民國第 58 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 生物科

030313

令人心動不已的飲料-咖啡對蟑螂心搏的影響

學校名稱：桃園市立大成國民中學

作者：  國三 賴俊穎  國三 周昀達	指導老師：  劉彥民  蔡任圃
---------------------------------	-----------------------------

關鍵詞：美洲蟑螂、咖啡、心跳率

## 壹、摘要

本研究觀察美洲蟑螂 (*Periplaneta americana*) 在透過口器攝食或是藉由體腔注射將咖啡攝入體內後，在一定時間內對於心跳率變化的影響。結果我們發現蟑螂經由口器攝食咖啡或是經由體腔注射咖啡後，都會快速地增加心跳率，並在短時間內恢復，與前人研究蟑螂攝食葡萄糖後對心跳率影響的結果相似，說明透過口器攝食咖啡因對心跳率的影響可能包含神經性的訊息傳遞。本研究亦透過影像分析軟體 tracker 探討餵食及體腔注射咖啡因對心搏量的影響，結果發現咖啡因都會使心搏量增加。透過本實驗可延伸國中生物「心搏觀察實驗」的探究活動，亦可幫助藉由蟑螂了解咖啡因對生物心臟活動可能造成的影響，協助有關咖啡因的味覺反射與體內作用等相關研究。

## 貳、研究動機

台灣近幾年來咖啡文化當道，甚至變成一種重要的經濟產業。台灣早期的咖啡館，在藝文界也扮演重要角色。從文人咖啡館、專業咖啡館一路走來，台灣咖啡文化經過幾多年來的發展，已從精英文化，轉變為平民大眾的庶民文化，根據2017年的統計，台灣人每年平均喝掉28.5億杯咖啡，可以說咖啡已經變成國人日常生活當中相當重要的一環了。

咖啡除了本身具有特殊的迷人香氣及口味之外，對人體也具有許多影響，根據許多最新的研究報告顯示，咖啡因可以讓我們保持清醒，並稍稍促進我們的生理表現，不過攝取太多咖啡因會使人心跳加速，或是導致心律異常。巨量的咖啡因對人體甚至是有毒的，嚴重時甚至會造成死亡，不過成年人一天大概得喝一百杯咖啡才會達到這危險程度。

但是目前咖啡因對人體實驗的研究，會因為每個人對於咖啡因攝取的習慣與量的多寡，以及每個人對咖啡因的反應不同而有個別的差異，所以我們想要藉由其他沒有接觸過咖啡因的生物來測試其對咖啡因的反應。而我們在本學期初有機會到台北市某蟑螂實驗室，學習到如何進行計算蟑螂心搏的方法。剛好可以用來監測蟑螂對咖啡因的生理反應，所以我們跟老師討論後，決定利用蟑螂來了解咖啡因對生物可能造成的影響。

## 參、研究設備及器材

### 一、研究器材

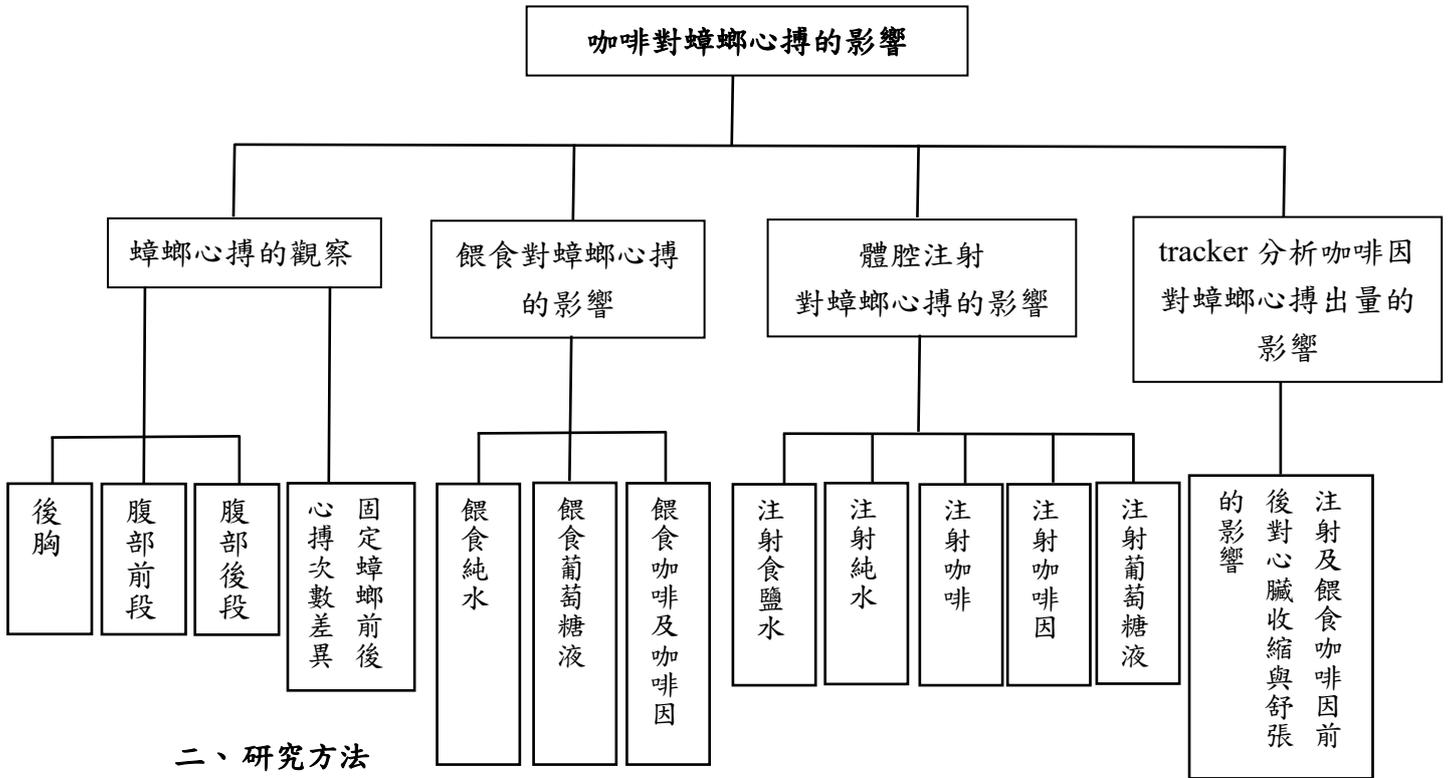
編號	名稱	型號或規格	備註
1	三目解剖顯微鏡	iScope SZ-5T	Microtech
2	顯微鏡光度分析儀	iCam Plus HDMI	Microtech
3	筆記型電腦	BX-310U	ASUS
4	電子秤	i2000	
5	燒杯	100mL	
6	量筒	10mL	
7	塑膠滴管		
8	漏斗	直徑 7cm	
9	紗布	4 吋*4 吋*3 片	佑合
10	皮下注射針筒	50units	Tae Chang Industrial
11	黏蟑板	除蟑專家捕蟑屋	奧運實業
12	碼表	C-518	EVERY DAY
13	三腳架		
14	酒精燈		
15	蟑螂養殖箱		一般整理箱
16	膠帶		
17	鑷子		
18	石棉網		
19	glucose		島久藥品株式會社
20	sodium chloride		台鹽
21	coffee powder	哥倫比亞：巴西：黃金曼特寧=3：4：3	
22	Caffeine		凱元

### 二、活體材料

美洲蟑螂(*Periplaneta americana*)飼養於室內蟑螂飼養箱內，來源為台北市某蟑螂實驗室。飼養環境溫度約 25~28°C，定期換水、提供乾粉飼料。實驗的進行皆以色澤明亮、身體外表無破損之雄性成蟲作為實驗動物，避免母蟲生殖週期或攜夾卵鞘的干擾。

## 肆、研究過程或方法

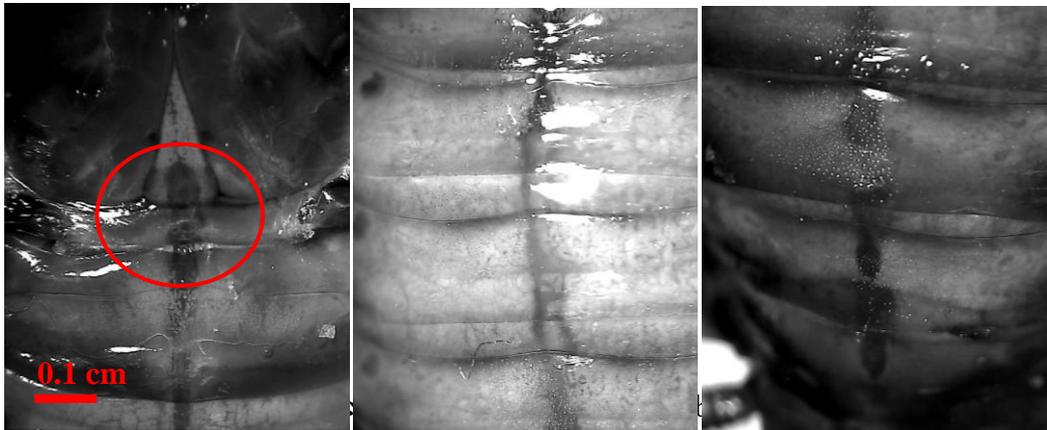
### 一、研究架構



### 二、研究方法

#### (一) 蟑螂心搏的觀察

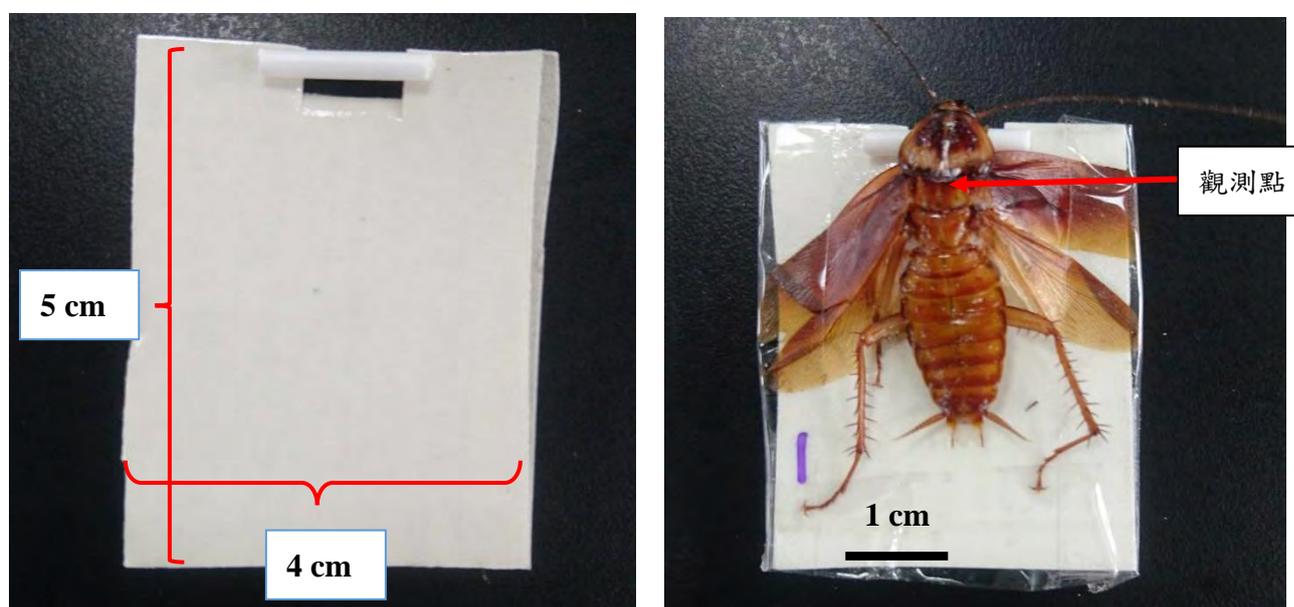
利用三目解剖顯微鏡以放大 15 倍的倍率進行蟑螂心臟血管的觀察。蟑螂的心臟位於身體的背側中央，從胸部的背側一直延伸至腹部背側。美洲蟑螂的胸部有三節心臟，腹部有九節心臟，一共十二節。當蟑螂心臟搏動時，血淋巴會在心臟中由腹部向前推進至胸部再至頭部，最後由頭部流向胸部、腹部等處。蟑螂的循環系統僅靠一條位於背側的背血管，在外觀以肉眼觀察時，為一條黑色的粗線。若以解剖顯微鏡觀察則可以看到其中膨大且具規律性收縮能力的構造即為心臟。其中以後胸位置的心臟作為本研究進行觀察紀錄的目標。



## (二)探討蟑螂固定在黏蟑板後心搏的變化趨勢

首先將黏蟑板剪成固定 4\*5 cm 的大小，並在短邊中間剪下 0.5\*1 cm 的缺口，並以剪短的棉花棒做為枕架，將蟑螂的頭部固定在此處。之後利用鑷子將蟑螂的前翅以及後翅展開黏在兩側，並以透明膠帶固定。蟑螂軀幹背部露出的粗黑線，從胸部延伸至腹部即為要觀測的心血管。

由於我們無法直接觀測蟑螂在一般活動下的心搏，必須先以此方式固定後才能進行心搏的計算，但是經過捕捉以及固定之後的蟑螂，其心搏速率會因此上升。所以我們先比較剛黏完時的蟑螂心搏及 5 分鐘後和 10 分鐘後的心搏次數，藉此了解經過固定完的蟑螂需要多少時間才能恢復到固定前的心搏次數。作為後續實驗進行的參考。



圖二、左圖為一般蟑螂固定板的示意圖，右圖為蟑螂固定完成的示意圖，並將蟑螂的實驗編號紀錄於蟑螂板左下角。將蟑螂的頭部及口器稍微露出於黏蟑板外，方便進行餵食實驗。露出的腹節則進行腹腔注射實驗。

### (三)、探討以水、葡萄糖水、咖啡溶液、咖啡因進行餵食後對蟑螂心搏的影響

本實驗欲探討咖啡對蟑螂心搏的影響，根據前人研究葡萄糖的攝取會刺激蟑螂上唇神經的反應，引發心跳速率的改變(蔡，2001)。因此我們想要將餵食葡萄糖對蟑螂心搏的影響與咖啡因的影響拿來做比較，確認攝食咖啡對蟑螂心搏會有明顯的改變。而在此實驗中，我們以餵食純水對蟑螂心搏影響作為對照組。

餵食 10 秒鐘後，記錄蟑螂心搏次數：

- a. 餵食後：測量 1 分鐘
- b. 餵食後 3 分鐘：測量 1 分鐘
- c. 餵食後 10 分鐘：測量 1 分鐘



圖三、以滴管吸取水、葡萄糖液(1 M)、咖啡(咖啡粉末 5 g 和水 15 ml 混和後，從室溫開始加熱至沸騰，維持沸騰 1 分鐘後再以紗布過濾出咖啡濾液)、咖啡因( $10^{-3}$  M)，將滴管放置在蟑螂口器前端進行餵食，固定每隻餵食時間為 10 秒鐘。

#### (四)、探討以食鹽水、純水、葡萄糖液、稀釋咖啡溶液、咖啡因進行腹腔注射對蟑螂心搏的影響

蟑螂的心孔可分成流入式與流出式兩型，流入型的心孔讓血淋巴進入心臟，十二節心臟皆具有一對，亦即胸部三對，腹部有九對。蟑螂的流入式心孔位於胸部第一節心臟，與腹部第一、二及第七、八、九節心臟，共有六對(胸部一對，腹部五對)(黃、蔡，2007)。因此我們從蟑螂腹部背側第五與第六片骨片之間注射，以觀察食鹽水(V%：0.8%)、純水、葡萄糖液(1 M)、咖啡溶液、咖啡因( $10^{-3}$  M)對蟑螂心臟是否會產生不同的影響。此實驗為了配合蟑螂體液的滲透壓，對照組改以重量百分濃度 0.8% 的食鹽水替代純水。

注射 0.05 ml 溶液後，記錄蟑螂心搏次數：

a. 注射後：測量 1 分鐘

b. 注射後 3 分鐘：測量 1 分鐘

c. 注射後 10 分鐘：測量 1 分鐘



圖四、以皮下注射針筒吸取 0.05 ml 的溶液後，由蟑螂腹部背側第五與第六片骨片之間注射。注射時須注意速度，避免溶液從注射針孔處外漏。

### (五)、利用 tracker 計算蟑螂在餵食、注射咖啡因後，心臟收縮與舒張的變化量

除了對蟑螂的心搏次數的影響之外，我們也希望了解咖啡因是否會影響蟑螂的心搏出量，但是我們無法直接測量血淋巴液的搏出量。因此我們將心臟活動影像以 Tracker 影像軟體逐格撥放，記錄與計算其收縮與舒張時的內徑，並以此作為心搏量的指標(蔡等，2001)。藉此來了解餵食及注射咖啡因後對蟑螂心搏出量變化的影響。



圖五、左邊為三目解剖顯微鏡，中間為觀測 LCD，將觀測過程的影像輸入到最右邊的筆電，之後再以圖像分析軟體 tracker 進行心臟收縮與舒張時的內徑變化計算。



圖六、利用影像分析軟體Tracker進行心臟收縮與舒張時內徑差異的測量，以逐格播放模式進行測量。心臟收縮內徑：心臟於最大收縮時的心臟內徑，以百分比表示，對照組的心臟收縮內徑平均值訂為100%。心臟舒張內徑：心臟由最大舒張時的心臟內徑，以百分比表示，對照組的心臟收縮內徑平均值訂為100%。

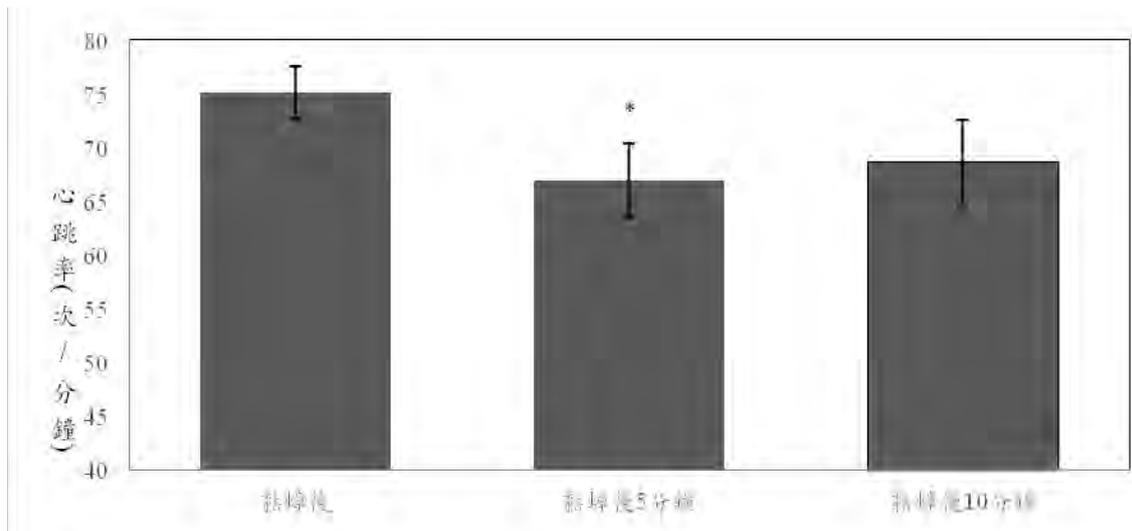
## 伍、研究結果

### (一)探討蟑螂固定在黏蟑板後心跳率的變化趨勢

比較將美洲蟑螂固定於黏蟑板後的不同時間其心跳變化的情形，固定蟑螂 5 分鐘後與剛固定完蟑螂的心跳率相差 11%，而固定蟑螂 10 分鐘後的心跳率與 5 分鐘後的心跳率差異並不顯著。後續實驗進行時，利用黏蟑板固定固定蟑螂後，將會靜置 10 分鐘以上再進行相關實驗，以確保蟑螂心搏不受固定過程影響。

表一：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後觀察 10 分鐘內的心跳率變化，並比較 5 分鐘後與立即固定後及 10 分鐘後與 5 分鐘後的心搏次數是否有顯著差異。

	黏蟑後	黏蟑後 5 分鐘	黏蟑後 10 分鐘
平均	75.1	66.9	68.6
取樣數	10	10	10
標準誤	2.46	3.46	3.91
配對 t 檢定		0.005	0.25



圖七、將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後立即測量心跳率，並於 5 分鐘及 10 分鐘後各測量一次，測量美洲蟑螂的心跳率變化(平均 ± 標準誤，n=10= 取樣數)。黏蟑 5 分鐘後與立即黏蟑後相比，黏蟑後 10 分鐘與黏蟑後 5 分鐘相比(單尾 t 檢定)：\*：p < 0.05。

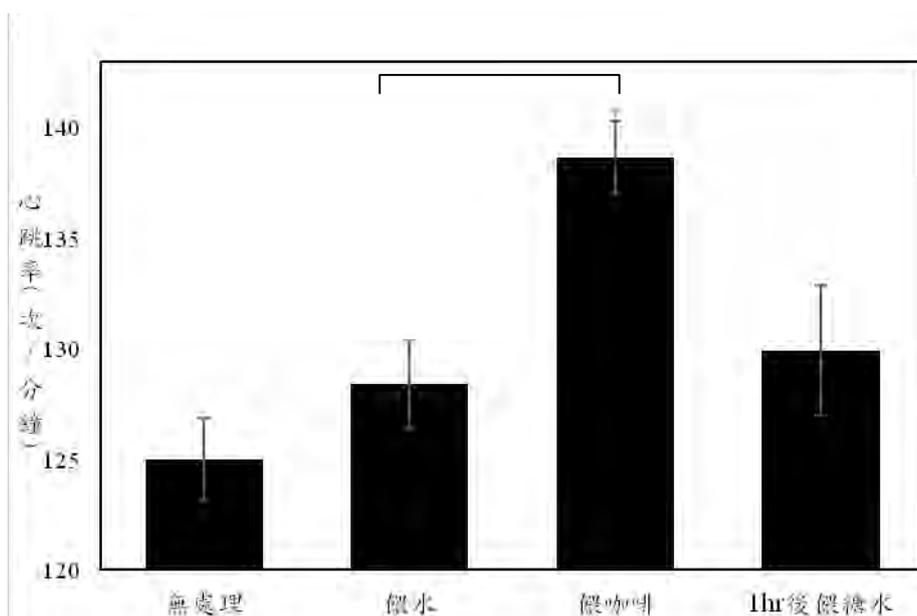
## (二)、探討以水、葡萄糖水、咖啡溶液、咖啡因進行餵食後對蟑螂心搏的影響

### 1.以不同的溶液餵食蟑螂後對蟑螂心跳率的變化：

將美洲蟑螂固定後，分別餵食水及咖啡，比較尚未餵食前與餵食清水及餵食咖啡後的變化。餵食清水後美洲蟑螂心跳率平均上升 3%，餵食咖啡後，美洲蟑螂心跳率平均上升 11%。而餵食咖啡 10 秒鐘後的心跳率變化與餵食清水相比有明顯的差異。

表二：以清水、咖啡、葡萄糖水餵食美洲蟑螂 10 秒鐘後，紀錄蟑螂心跳率的變化情形，並比較餵水與無處理及餵食清水與餵食咖啡及餵食清水與餵食葡萄糖水兩兩之間是否有顯著差異。

	無處理	餵食		
		水	咖啡	葡萄糖
平均	125	128.4	138.6	129.9
與餵水前比較	-	-	108%	101%
取樣數	15	15	15	15
標準誤	1.85	2.00	1.68	2.95
配對 t 檢定	control	0.006	0.00001	0.303



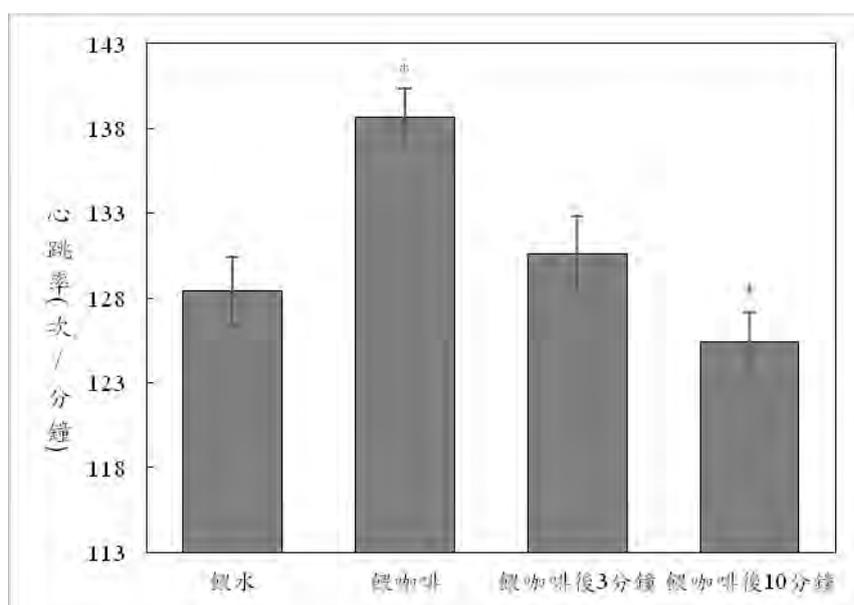
圖八：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，之後以滴管餵食蟑螂清水10秒鐘，並立即測量心跳率的變化。之後將蟑螂靜置一小時後，以滴管餵食咖啡10秒鐘，並立即測量美洲蟑螂的心跳率變化。再將蟑螂靜置一小時後以滴管餵食葡萄糖水10秒鐘，並立即測量美洲蟑螂的心跳率變化(平均 ± 標準誤，n=15=取樣數)。餵食清水後與無處理相比，餵食咖啡和餵食葡萄糖水與餵食清水相比(單尾t 檢定)：\*：p < 0.05。

## 2.以咖啡溶液餵食蟑螂後對蟑螂心跳率的變化：

以咖啡餵食後觀察對蟑螂的心跳率影響可以看出與餵食清水相比有顯著的差異，餵食咖啡後的心跳率相較餵食清水平均提升 8%。經過 3 分鐘之後相較餵食清水心跳率仍平均提升 2%。但經過餵食咖啡 10 分鐘後，蟑螂的心跳率相較餵食清水後平均下降 2%。

表三：以清水、咖啡餵食美洲蟑螂 10 秒鐘後，紀錄蟑螂在立即餵食完後、3 分鐘後及 10 分鐘後心跳率的變化情形，並比較餵食咖啡之後的心跳率與餵食清水是否有顯著差異。

	餵水	餵咖啡		
		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘
平均	128.4	138.6	130.6	125.4
與餵水前比較	-	108%	102%	98%
取樣數	15	15	15	15
標準誤	2.00	1.68	2.20	1.80
配對 t 檢定	-	0.00001	0.139	0.037



圖九：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，之後以滴管餵食蟑螂清水10秒鐘，並立即測量心跳率的變化。之後將蟑螂再靜置半小時後，以滴管餵食蟑螂咖啡10秒鐘後，分別測量美洲蟑螂餵食完後、3分鐘後、10分鐘後的心跳率變化(平均 ± 標準誤, n=15=取樣數)。餵食咖啡後與餵食清水相比 (單尾t 檢定):\*:  $p < 0.05$ 。

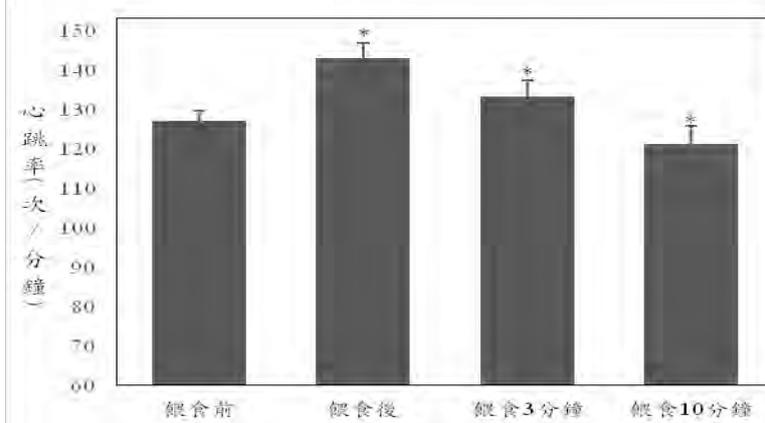
### 3.以 $10^{-3}M$ 咖啡因餵食蟑螂後對蟑螂心跳率的變化：

以  $10^{-3}M$  咖啡因餵食後觀察對蟑螂的心跳率影響可以看出與餵食前相比有顯著的差異，餵食咖啡因後的心跳率相較餵食前平均提升 13%。經過 3 分鐘之後相較餵食清水心跳率仍平均提升 5%。但經過餵食咖啡 10 分鐘後，蟑螂的心跳率相較餵食清水後平均下降 5%。

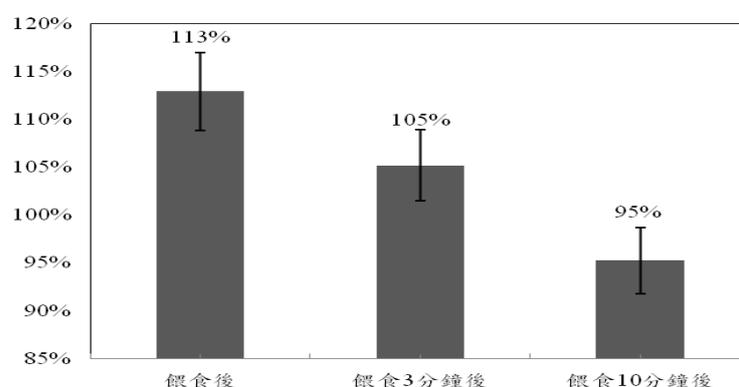
表四：以  $10^{-3}M$  咖啡因餵食美洲蟑螂 10 秒鐘後，紀錄蟑螂在立即餵食完後、3 分鐘後及 10 分鐘後心跳率的變化情形，並比較餵食咖啡因之後的心跳率與餵食前相比是否有顯著差異。

	餵食前	餵食後		
		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘
平均	127	142.8	133.2	121
與餵食前比較	-	113%	105%	95%
取樣數	9	9	9	9
標準誤	2.46	3.91	3.94	4.80
配對 t 檢定	-	0.006	0.037	0.039

(a)



(b)



圖十：(a)將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以 $10^{-3}M$ 咖啡因對蟑螂進行餵食10秒鐘，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均 ± 標準誤， $n=9$ =取樣數)。注射前與注射後相比(單尾t 檢定)：\*： $p < 0.05$ 。(b)注射後對注射前的心跳率變化比例。

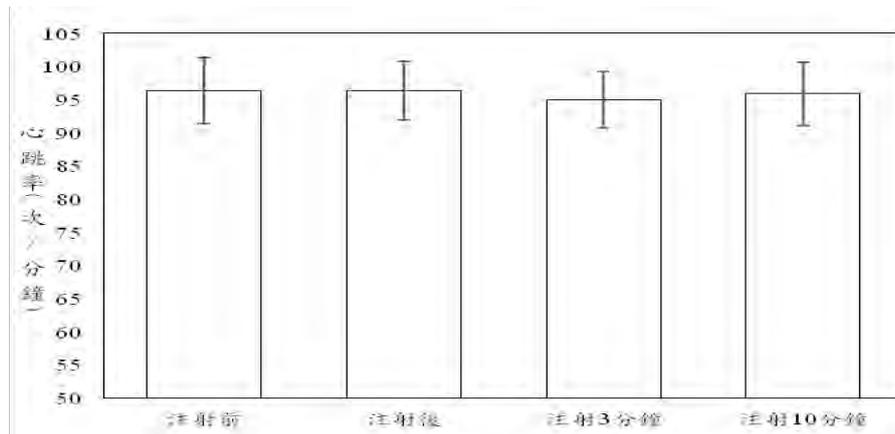
(三)、探討以食鹽水、純水、葡萄糖液、稀釋咖啡溶液、咖啡因進行腹腔注射對蟑螂心跳的影響

1.以 0.8%食鹽水對美洲蟑螂進行腹腔注射 0.05 ml，觀察 10 分鐘內的心跳率變化，發現注射食鹽水至蟑螂腹部前後並無顯著差異。

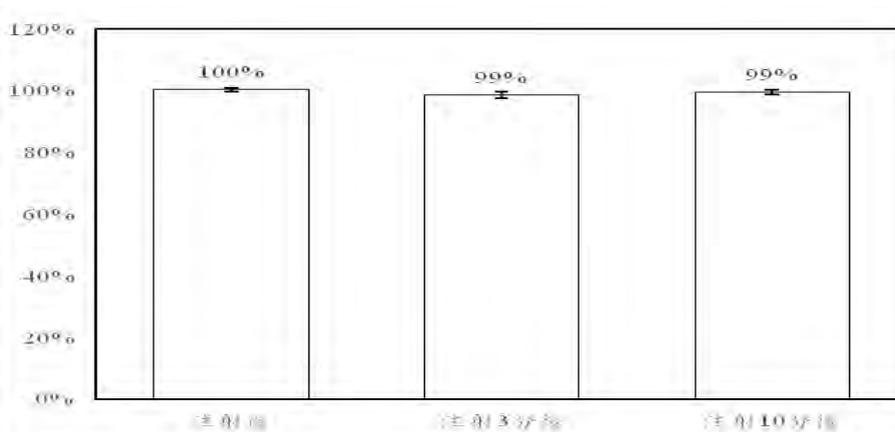
表五：以 0.8%食鹽水對美洲蟑螂進行腹腔注射後，紀錄蟑螂在 10 分鐘內心跳率的變化情形，並比較注射前與注射後是否有顯著差異。

注射 0.8%生理食鹽水 0.05 ml 對蟑螂心跳率影響				
	注射前	注射後		
		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘
平均	96.4	96.4	95	95.9
與注射前比較	-	100%	99%	99%
取樣數	10	10	10	10
標準誤	4.95	4.42	4.27	4.76
配對 t 檢定	-	0.5	0.11	0.25

(a)



(b)

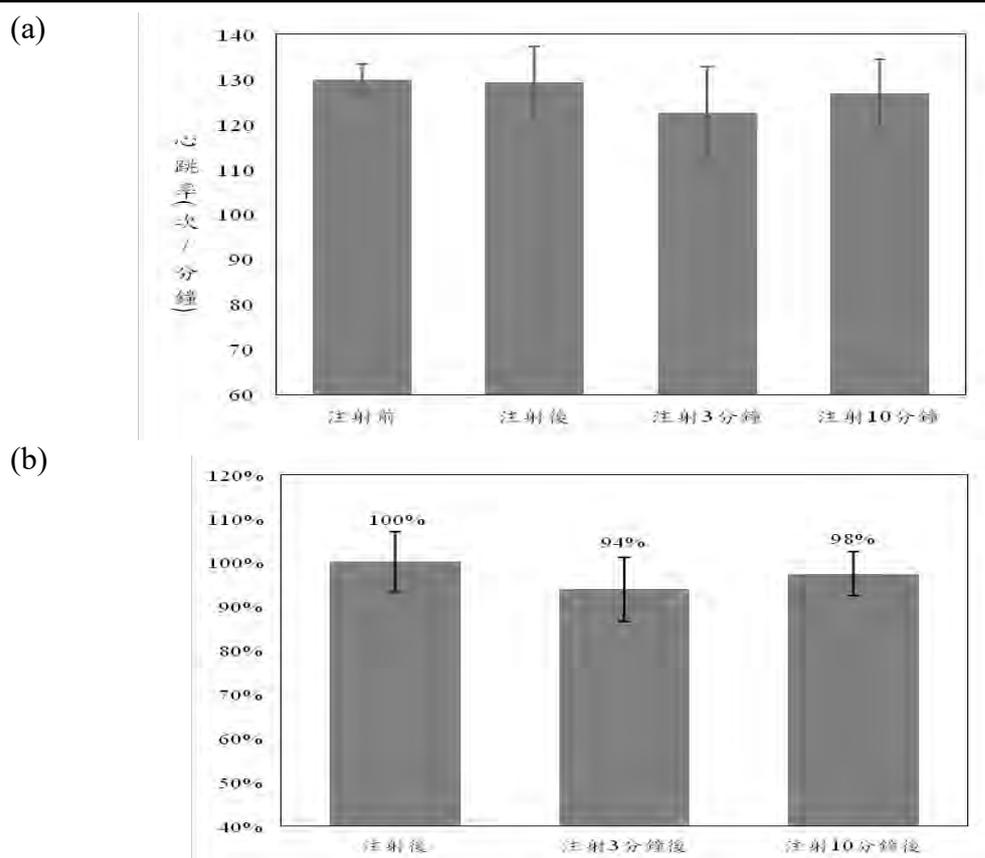


圖十一：(a)將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以0.8%食鹽水對蟑螂進行腹部腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均 ± 標準誤，n=10=取樣數)。注射前與注射後相比(單尾t 檢定)：\*：p < 0.05。(b)注射後對注射前的心跳率變化比例。

2. 以純水對美洲蟑螂進行腹腔注射 0.05ml，觀察 10 分鐘內的心跳率變化，發現注射純水至蟑螂腹部前後在統計上並無顯著差異，但在注射純水 3 分鐘之後，會觀察到蟑螂心搏次數平均下降 6%，代表直接注射 0.05ml 純水可能對蟑螂心搏會產生些微影響，但影響不大。

表六：以純水對美洲蟑螂進行腹腔注射後，紀錄蟑螂在 10 分鐘內心跳率的變化情形，並比較注射前與注射後是否有顯著差異。

注射純水 0.05 ml 對蟑螂心跳率影響				
	注射前	注射後		
		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘
平均	129.9	129.4	122.6	126.9
與注射前比較	-	100%	94%	98%
取樣數	10	10	10	10
標準誤	3.53	8.02	10.22	7.53
配對 t 檢定		0.47	0.26	0.21

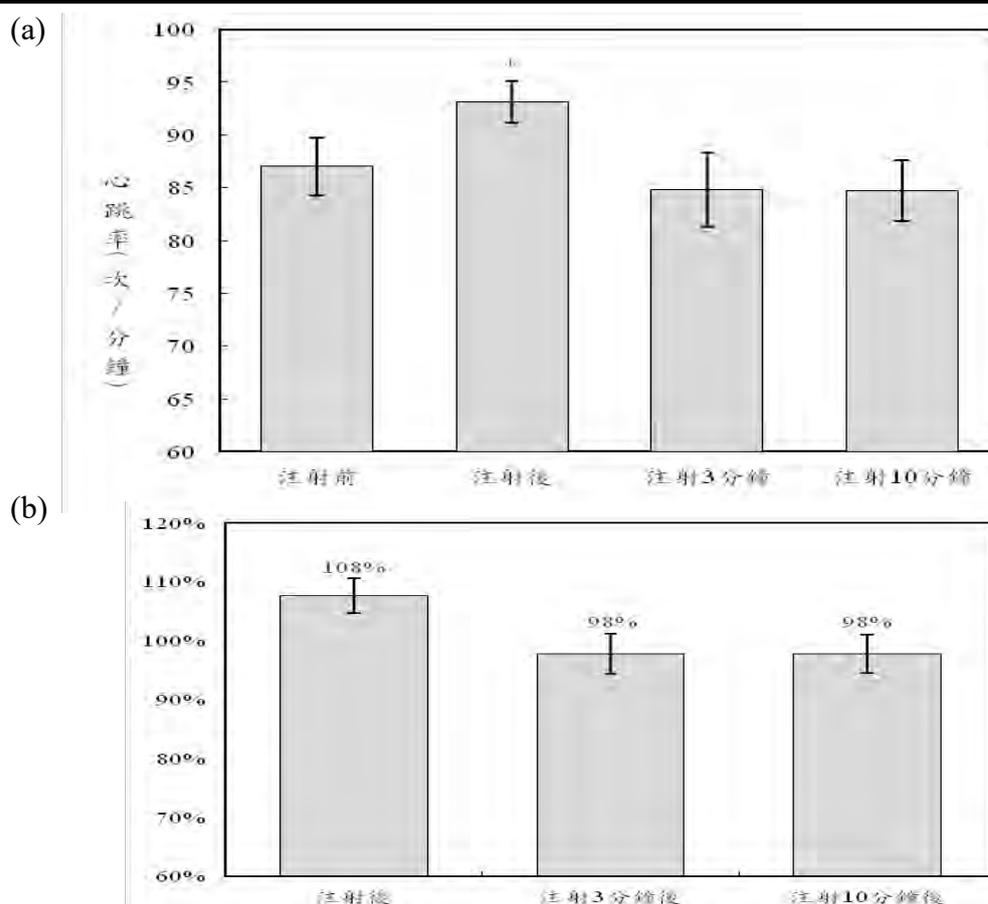


圖十二：(a)將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以純水對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均 ± 標準誤，n=10=取樣數)。注射前與注射後相比(單尾t 檢定)：\*： $p < 0.05$ 。(b)注射後對注射前的心跳率變化比例。

3.以水對咖啡溶液配成 50 倍稀釋液後對美洲蟑螂進行腹腔注射後，相較於注射前心跳率平均提升 8%，有顯著的增加。而進行注射 3 分鐘後，心跳率恢復到接近注射前，但是平均下降 2%。注射 10 分鐘後，心跳率依然維持較注射前平均下降 2%，但統計上注射 3 分鐘後開始的心跳率與注射前並無顯著差異。

表七：以 50 倍咖啡稀釋溶液對美洲蟑螂進行腹腔注射後，紀錄蟑螂在 10 分鐘內心跳率的變化情形，並比較注射前與注射後是否有顯著差異。

注射 50 倍咖啡稀釋溶液 0.05 ml 對蟑螂心跳率影響				
	注射前	注射後		
		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘
平均	87	93.1	84.8	84.7
與注射前比較	-	108%	98%	98%
取樣數	10	10	10	10
標準誤	2.69	2.00	3.46	2.84
配對 t 檢定		0.01	0.24	0.20

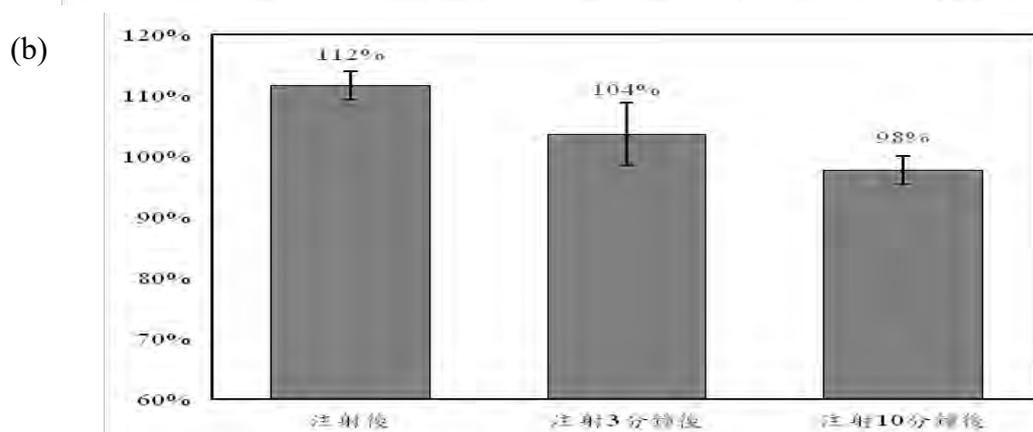
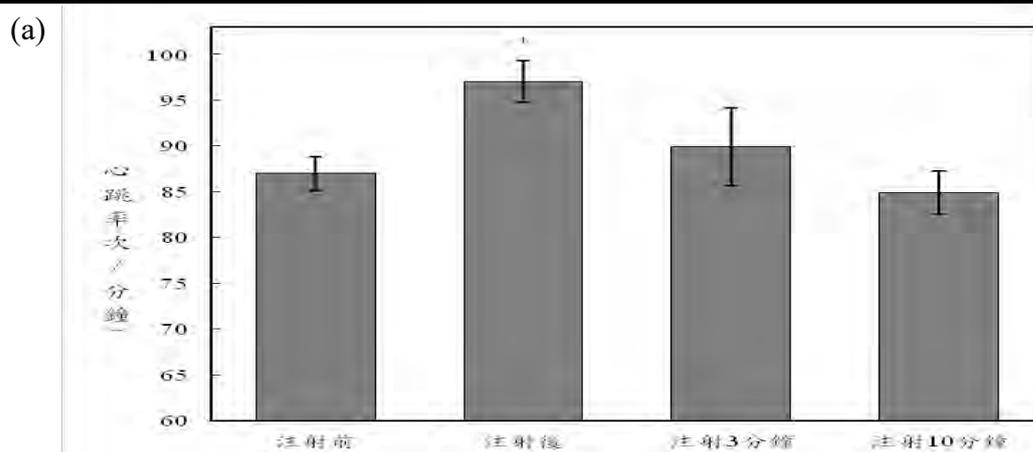


圖十三：(a)將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以50倍咖啡稀釋溶液對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均 ± 標準誤，n = 10 = 取樣數)。注射前與注射後相比(單尾t 檢定)：\*：p < 0.05。(b)注射後對注射前的心跳率變化比例。

4.以水對咖啡溶液配成 100 倍稀釋液後對美洲蟑螂進行腹腔注射後，相較於注射前心跳率平均提升 12%，有顯著的增加。而進行注射 3 分鐘後，心跳率恢復到接近注射前，平均提升 4%。注射 10 分鐘後，心跳率較注射前平均下降 2%，但統計上與注射前並無顯著差異。

表八：以 100 倍咖啡稀釋溶液對美洲蟑螂進行腹腔注射後，紀錄蟑螂在 10 分鐘內心跳率的變化情形，並比較注射前與注射後是否有顯著差異。

注射 100 倍咖啡稀釋溶液 0.05 ml 對蟑螂心跳率影響				
	注射前	注射後		
		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘
平均	87	97	89.9	84.9
與注射前比較	-	112%	104%	98%
取樣數	10	10	10	10
標準誤	1.83	2.29	4.25	2.40
配對 t 檢定	-	0.0002	0.26	0.16



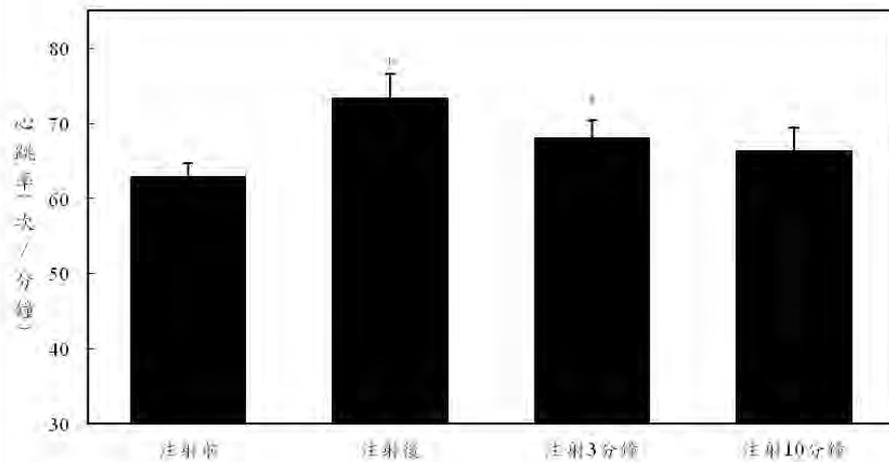
圖十四：(a)將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以100倍咖啡稀釋溶液對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均 ± 標準誤，n = 10 = 取樣數)。注射前與注射後相比(單尾t 檢定)：\*：p < 0.05。(b)注射後對注射前的心跳率變化比例。

5.以  $10^{-3}$  M 咖啡因對美洲蟑螂進行腹腔注射後，相較於注射前心跳率平均顯著的提升 17%。而進行注射 3 分鐘後，心跳率平均顯著提升 9%。注射 10 分鐘後，心跳率較注射前平均提升 6%。

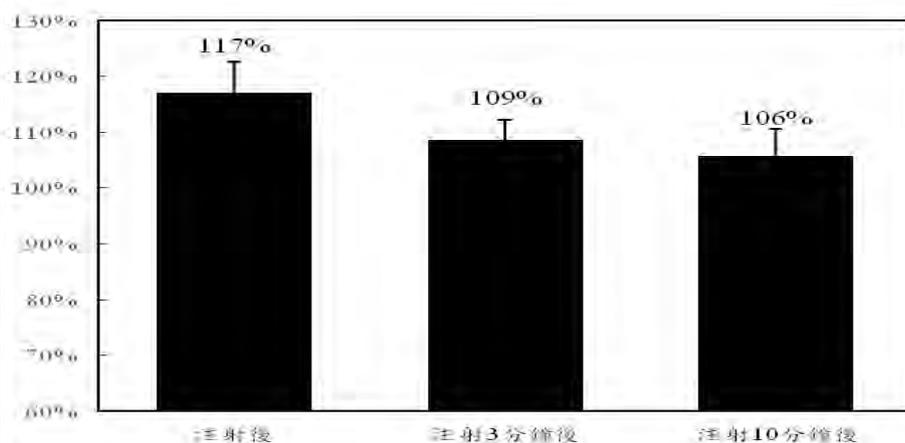
表九：以  $10^{-3}$  M 咖啡因對美洲蟑螂進行腹腔注射後，紀錄蟑螂在 10 分鐘內心跳率的變化情形，並比較注射前與注射後是否有顯著差異。

注射 $10^{-3}$ M 咖啡因 0.05 ml 對蟑螂心跳率影響				
	注射前	注射後		
		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘
平均	62.8	73.3	68.1	66.3
與注射前比較	-	117%	109%	106%
取樣數	9	9	9	9
標準誤	1.86	3.32	2.35	3.09
配對 t 檢定	-	0.006	0.01	0.13

(a)



(b)

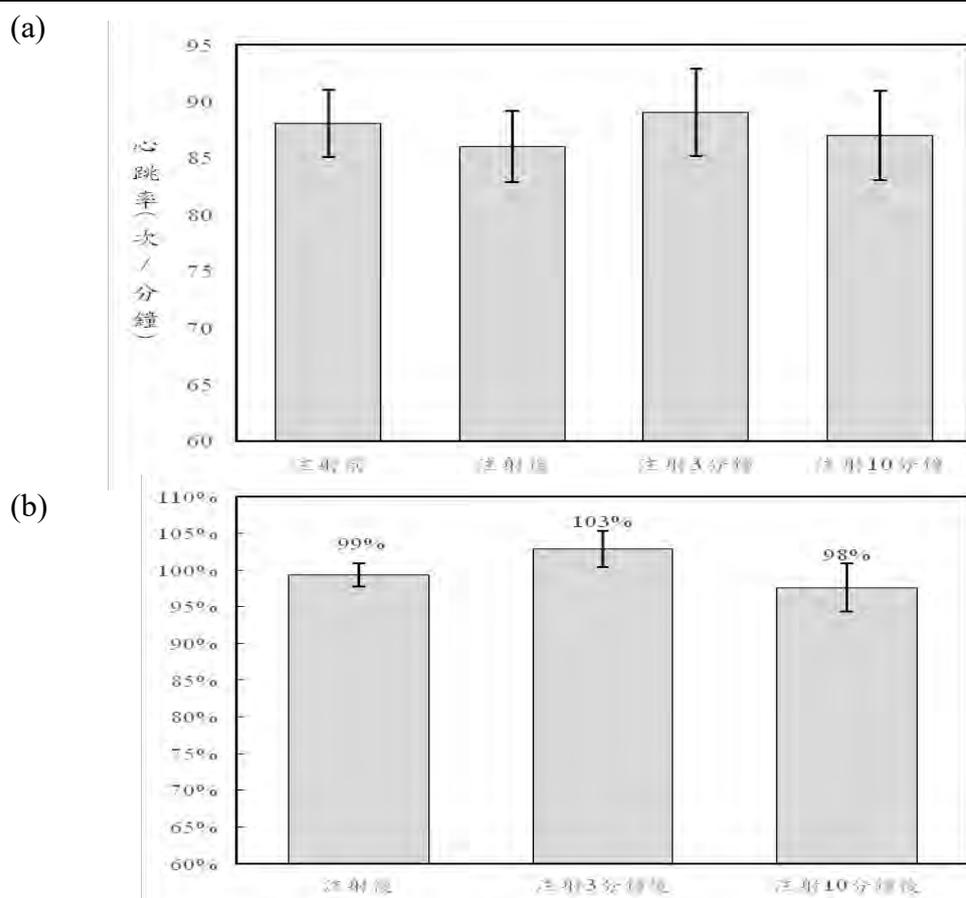


圖十五：(a)將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以 $10^{-3}$  M 咖啡因對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均 ± 標準誤，n=9=取樣數)。注射前與注射後相比(單尾t 檢定)：\*： $p < 0.05$ 。(b)注射後對注射前的心跳率變化比例。

6.以 1 M 葡萄糖溶液對美洲蟑螂進行腹腔注射後，注射後並無觀察到蟑螂的心跳率並無明顯變化。注射 3 分鐘後，蟑螂的平均心跳率提升 3%，但統計上與注射前並無顯著差異。注射 10 分鐘後較注射前平均心跳率下降 2%，但仍無顯著差異。

表十：以 1 M 葡萄糖溶液對美洲蟑螂進行腹腔注射後，紀錄蟑螂在 10 分鐘內心跳率的變化情形，並比較注射前與注射後是否有顯著差異。

注射 1 M 葡萄糖溶液 0.05 ml 對蟑螂心跳率影響				
	注射前	注射後		
		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘
平均	76.2	75.7	78.6	74.5
與注射前比較	-	99%	103%	98%
取樣數	10	10	10	10
標準誤	2.97	3.14	3.85	3.93
配對 t 檢定	-	0.33	0.09	0.23



圖十六：(a)將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以1 M葡萄糖溶液對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均 ± 標準誤，n=10=取樣數)。注射前與注射後相比(單尾t 檢定)：\*： $p < 0.05$ 。(b)注射後對注射前的心跳率變化比例。

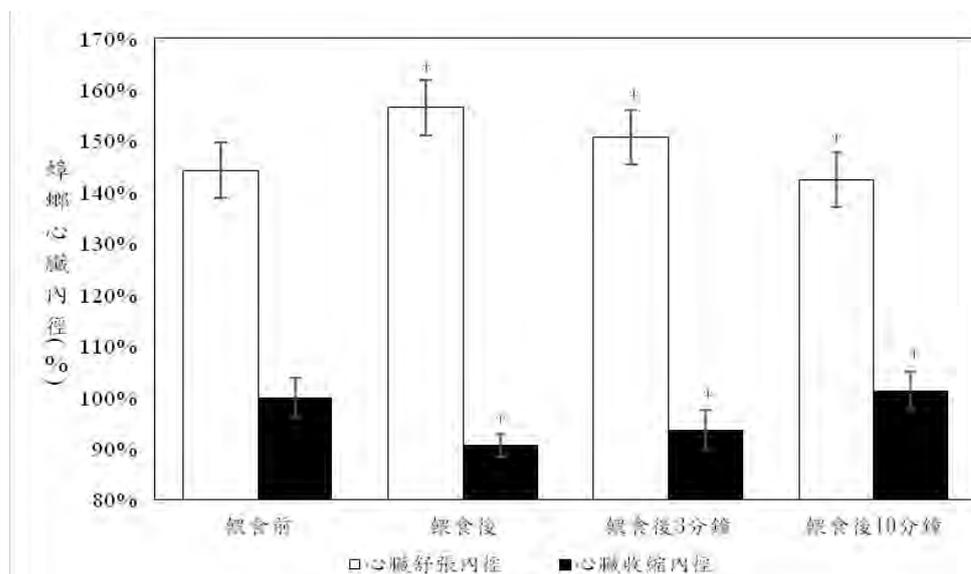
(四)、利用 tracker 計算蟑螂分別進行餵食及注射  $10^{-3}M$  咖啡因之後，心臟收縮與舒張的變化量

1.根據圖十七，餵食  $10^{-3}M$  咖啡因之後，蟑螂的心臟舒張內徑平均增加 13%，3 分鐘之後舒張內徑平均增加 7%，10 分鐘之後與餵食前比較則舒張內徑稍微降低 2%。而蟑螂的收縮內徑在餵食後平均多收縮 9%，3 鐘之後多收縮 6%，10 分鐘之後則稍微增加 1%。

表十一：以  $10^{-3}M$  咖啡因溶液餵食美洲蟑螂後，紀錄蟑螂在 10 分鐘內心臟內徑的變化情形，並比較餵食前與餵食後是否有顯著差異。心臟收縮內徑：心臟於最大收縮時的心臟內徑，以百分比表示，對照組的心臟收縮內徑平均值訂為 100%。心臟舒張內徑：心臟由最大舒張時的心臟內徑，以百分比表示，對照組的心臟收縮內徑平均值訂為 100%。

餵食咖啡因  $10^{-3}M$  對蟑螂心臟收與舒張內徑差異影響

	舒張內徑				收縮內徑			
	餵食前	餵食後			餵食前	餵食後		
		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘
平均	144%	157%	151%	142%	100%	91%	94%	101%
取樣數	9	9	9	9	9	9	9	9
標準誤	5%	5%	5%	5%	4%	2%	4%	4%
配對 t 檢定	-	0.00006	0.001	0.03	-	0.004	0.01	0.02

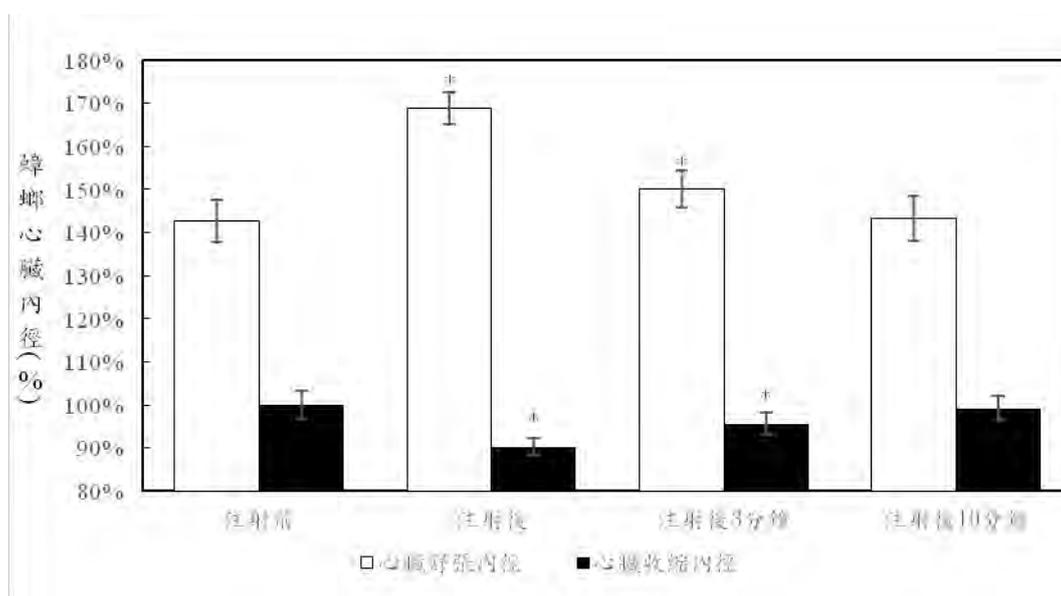


圖十七：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以  $10^{-3}M$  咖啡因對蟑螂進行餵食，觀察10分鐘內蟑螂的心臟內徑變化率(平均  $\pm$  標準誤,  $n=9$ =取樣數)。注射前與注射後相比(單尾t 檢定)：\*：  $p < 0.05$ 。

2.根據圖十八，注射  $10^{-3}$  M 咖啡因之後，蟑螂的心臟舒張內徑平均增加 26%，3 分鐘之後舒張內徑平均增加 7%，10 分鐘之後則恢復到與注射前相同。而蟑螂的收縮內徑在注射後平均多收縮 10%，3 鐘之後多收縮 4%，10 分鐘之後則恢復到與注射前相同。

表十二：以  $10^{-3}$  M 咖啡因溶液對美洲蟑螂進行腹腔注射後，紀錄蟑螂在 10 分鐘內心臟內徑的變化情形，並比較注射前與注射後是否有顯著差異。心臟收縮內徑：心臟於最大收縮時的心臟內徑，以百分比表示，對照組的心臟收縮內徑平均值訂為 100%。心臟舒張內徑：心臟由最大舒張時的心臟內徑，以百分比表示，對照組的心臟收縮內徑平均值訂為 100%。

	注射咖啡因 $10^{-3}$ M 對蟑螂心臟收與舒張內徑差異影響							
	注射前	舒張內徑			注射前	收縮內徑		
		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘		0 分鐘	3 分鐘	10 分鐘
平均	143%	169%	150%	143%	100%	90%	96%	99%
取樣數	9	9	9	9	9	9	9	9
標準誤	5%	4%	4%	5%	3%	2%	3%	3%
配對 t 檢定	-	0.000005	0.0001	0.28	-	0.002	0.001	0.19



圖十八：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以 $10^{-3}$ M咖啡因對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心臟內徑變化率(平均 ± 標準誤，n=9=取樣數)。注射前與注射後相比(單尾t 檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

## 陸、討論

### 一、觀察蟑螂心跳率時可能引起心跳率改變的因素

- 1.動物面臨危險與強烈刺激時，其體內的壓力激素濃度增加，引發打或跑反應應付緊急狀況，章魚涎胺是昆蟲常見的短期逆境激素，可以增加心跳率與減少心搏量(Collins and Miller, 1977；Johnson, *et al.*, 1997；Miller, 1979；Tsai, *et al.*, 2004)。所以在黏蟑過程中可能會因為抓蟑螂造成心跳率增加。因此我們想測試蟑螂在固定於黏蟑板後，需要花多少時間恢復。根據(圖七)的結果，我們發現剛固定完的蟑螂平均心跳率大約在 75 次，但是在 5 分鐘之後，蟑螂的心跳率會明顯降低至每分鐘 66 次；10 分鐘之後仍維持在每分鐘 68 次。由此可知，蟑螂在固定完成至固定完 5 分鐘後有顯著差異，再經過 5 分鐘後便沒有顯著的變化。所以我們認為固定蟑螂大約經過 5 分鐘，蟑螂的心跳率即可恢復至平穩的狀態。
- 2.在圖七的實驗結果中，我們觀察點只取 5 分鐘及 10 分鐘，並未延長觀察時間，若要確保蟑螂後續心跳率不再有明顯變化，應可在 15 分鐘或 20 分鐘時額外進行觀察。可以確保結果的準確性。
- 3.在我們實驗過程中，對照組的蟑螂平均心跳率差異很大，從 62~125 次/分鐘。主要的原因是我們在不同的季節進行實驗，根據前人研究蟑螂心跳率與環境溫度的關係，假設  $x$  為溫度， $y$  為心跳率，則其關係(趨勢線)可以  $y = 2.92x + 14.05$  表示，迴歸係數( $r^2$ )為 0.99，可見環境溫度對於蟑螂的心跳率，具有重要的影響(蔡，2003)。在我們的實驗設計中，每組不同變因的實驗皆在同天完成，可減少心跳率受環境溫度的影響。但在不同變因的實驗組進行互相比較時，就需額外考慮氣溫對實驗結果的影響。

### 二、透過餵食不同溶液對蟑螂心跳率的影響

- 1.根據(圖八)的實驗結果，我們以清水餵食 15 隻蟑螂，結果發現餵食清水後的心跳率與餵食前並無顯著差異。因此在後續實驗中，我們以餵食清水作為餵食其他不同溶液的對照組。
- 2.在(圖八)的結果中，我們發現餵食咖啡後平均心跳率會增加 8%，10 分鐘後再餵食葡萄糖，平均心跳率較餵食清水增加 1%。可見透過口器攝食咖啡，會增加蟑螂的心跳率。根據先前的研究，以濃度 5% 以上的葡萄糖溶液餵食蟑螂，確實可引起心跳率顯著性上升(蔡等，2001)。因此我們想藉此比較餵食咖啡與葡萄糖的差異。但我們的實驗結果並沒有觀察到餵食葡萄糖水會使心跳率有顯著增加，主要的原因可能是我們在餵食咖啡的實驗後，重複使用同樣的蟑螂進行實驗，才導致葡萄糖溶液並未使蟑螂心跳率增加。

3.食物中的化合物會對多數的小型節肢動物具有味覺性的刺激，稱反射性的心臟反應(Ashby and Larimer, 1965)。在(圖九)中我們觀察到餵食完咖啡後，會使蟑螂的心跳率立刻增加 8%，但在經過 3 到 10 分鐘後，蟑螂的心跳率會逐漸下降至與對照組相同。而在(圖十)中我們觀察到餵食咖啡因對於蟑螂心跳率變化更明顯，餵食後會使蟑螂心跳率平均提升 13%，經過 3 分鐘後，仍能提升平均心跳率 5%，但在 10 分鐘後平均心跳率較餵食前下降 5%。由咖啡刺激口器後 10 秒內造成心跳率增加的結果，可知味覺刺激對心臟活動影響速度很快，這種影響應該是神經性的訊息傳遞，而非激素的影響。而在 10 分鐘內，餵食咖啡心跳率恢復至與對照組相同，可能的原因是餵食咖啡的量較少，所以影響心跳的持續效果較不明顯；但若是餵食咖啡因則會導致平均心跳率下降 5%，此一情形可能是因為咖啡因導致心跳出現不規律的結果。因此，由這兩個結果便可得知，咖啡溶液內，主要引起蟑螂心跳增快的主要原因是咖啡因，在只有餵食咖啡因的狀況下，會使蟑螂心跳出現明顯變化，但是後續也有可能引起心臟變緩慢的結果。由於已知蟑螂的上唇具有對糖刺激產生反應的受器，並在接觸糖溶液後引發心跳率增加的結果(Davey, 1962)，因此我們推測蟑螂的口器可能也具有對咖啡因刺激產生反應的受器。但是仍須藉由破壞口器，再觀察咖啡因對蟑螂心跳率是否會有影響才能進一步證實此推測。

4.咖啡內主要的化學物質，包括咖啡因、2-乙苯酚(2-Ethylphenol)、奎寧酸、3,5-二咖啡醯奎寧酸(3,5 Dicafeoylquinic Acid)、二硫化二甲烷(Dimethyl Disulfide)、乙醯乙醇(Acetylmethylcarbinol)、葫蘆巴鹼(Trigonelline)、菸鹼酸(Niacin)、茶鹼(Theophylline)(Patrick, 2015)，根據(圖九)、(圖十)的實驗結果，我們可以推測主要造成蟑螂心跳率增加的原因，就是咖啡因。因為在只有咖啡因的影響下，比有其他化學物質存在時對蟑螂心跳的增加來得更加明顯。而參考資料中顯示咖啡中的其他化學物質，主要與咖啡的風味相關，但是不是也會對蟑螂心跳產生影響，則需要進一步利用這些化學物質的純物質進行測試才能得知。

### 三、透過注射不同溶液對蟑螂心跳率的影響

- 1.由於直接注射純水進入蟑螂體內，可能會因為滲透壓的關係對蟑螂心跳率產生影響，因此在本研究中配製了重量百分濃度 0.8%生理食鹽水的蟑螂體液等張溶液(Cohen, et al., 2002)。而根據(圖十一)的結果，可以發現蟑螂的心跳率在注射食鹽水之後的 10 分鐘之內並沒有明顯變化，由此也可知道藉由腹腔注射針筒對蟑螂進行注射的過程並不會使蟑螂的心跳率產生明顯的變化。
- 2.在後續進行注射溶液實驗時，由於我們直接使用純水進行咖啡溶液稀釋以及  $10^{-3}$  M 咖啡因的配製，因此我們同樣也以 0.05 ml 的純水對蟑螂進行腹腔注

射，觀察是否會對蟑螂心搏產生明顯變化。而根據(圖十二)的結果，剛注射完純水後，對蟑螂心跳並無明顯影響，而在注射 3 分鐘之後，雖然較注射前下降 6%，在統計上與注射前並無顯著差異，注射純水 10 分鐘後平均心跳率雖然也降低 2%，但同樣也沒有統計上的顯著差異。由此一結果可說明，後續的注射實驗以純水進行溶液的配製對注射蟑螂腹腔的實驗並不會造成太大的影響。

2.在科學人(龐，2009)中曾提到許多植物會製造咖啡因，作為一種天然的殺蟲劑，通常在缺乏保護構造的新芽與新葉中，咖啡因的含量會特別高。某些昆蟲吃了含有大量咖啡因的植物，會麻痺或是死亡。在我們進行注射咖啡溶液的研究時，最開始使用與餵食咖啡實驗相同濃度度的咖啡溶液。但大部分的蟑螂在注射後，會出現活動力下降、心跳率減緩降甚至心搏直接停止的現象。因此我們嘗試以水將咖啡溶液進行不同濃度的稀釋，實驗分別以 2 倍、5 倍、10 倍、20 倍的咖啡稀釋液進行注射實驗。直到以 50 倍稀釋液進行注射時，我們才能順利進行心跳率的觀察。前面的實驗我們已經知道，當以餵食的方式，讓相同濃度的咖啡透過消化系統進入的蟑螂的體內，並不會造成蟑螂立即的死亡，而且能夠平均提升蟑螂 8%的心跳率(圖八)。但由於蟑螂是屬於開放式循環的動物，因此在進行腹腔注射時，咖啡可能會藉由流入式心孔快速進入到心臟內產生作用，進而使心跳率下降甚至停止。

3.在(圖十三)、(圖十四)中，我們發現以 50 倍、100 倍的咖啡稀釋液對蟑螂進行腹部注射後，能使蟑螂的平均心跳率分別上升 8%、12%。這代表注射適量的咖啡到蟑螂的腹部中，會立即使心跳率上升，但注射過量的咖啡卻會導致蟑螂心搏停止。不過，我們也觀察到不論是注射 50 倍或是 100 倍的咖啡時，咖啡對心跳率的影響在 3~10 分內會下降至與對照組無異。在人體內，咖啡因的代謝時間會因年紀、性別不同大約在 5~10 小時左右，嬰兒則需 30 小時(龐，2009)。因此雖然我們不知道咖啡因在蟑螂體內需要多少時間才能代謝完，但我們推測咖啡進入腹部時與口器接觸咖啡時相同，會對心臟的活動產生神經性的訊息傳遞而非激素影響。不過腹部一旦注射過量的咖啡，就會對心臟活動產生負面的影響。但咖啡是藉由何種機制影響心跳率的變化，值得後續設計實驗以進行探討。

4.注射咖啡溶液時，其中除了咖啡因之外，也包含其他化學物質。為釐清咖啡因對心跳率的影響，本實驗配製  $10^{-3}$  M 咖啡因溶液對蟑螂進行腹部注射，以觀察只有咖啡因時對蟑螂心跳率的影響。在(圖十五)中，注射蟑螂腹部後，心跳率平均提升 17%，相較注射 100 倍咖啡稀釋液的影響來得更明顯。而且在注射咖啡因之後的 10 分鐘之內，仍可觀察到心跳率高於注射前的情形。代表在沒有其他物質，只有咖啡因的情形下，對心跳率的影響會更顯著。與

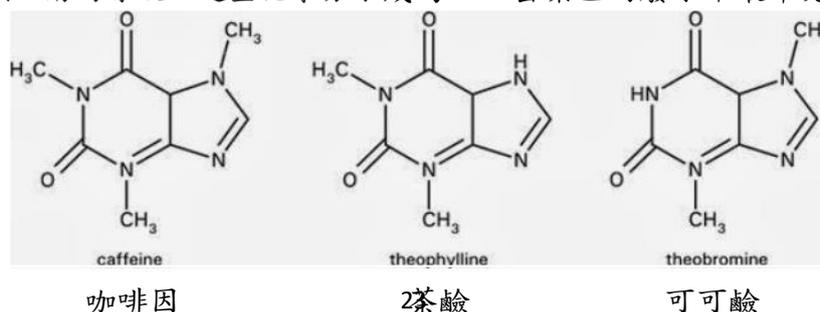
先前餵食  $10^{-3}$  M 咖啡因的實驗相比較(圖十)，同時也可發現直接注射咖啡因相較餵食咖啡因對心跳率的影響會更大，也可知道蟑螂與人類相同，在有咖啡因的情況下會產生使心跳率上升的相似生理反應。

5.根據前人的研究以濃度 5% 以上的葡萄糖溶液餵食蟑螂，可引起心跳率顯著性上升(蔡等，2001)，雖然在我們的實驗中因為實驗設計的緣故，並無觀察到此現象，但是我們仍想透過實驗觀察將葡萄糖注射到腹部時，是否會引起與注射咖啡因時相同的結果。在(圖十六)中，我們並沒有觀察到蟑螂的心跳率在注射葡萄糖後有明顯的上升或下降。代表在腹部進行注射時，葡萄糖並沒有引起如同咖啡因一樣的神經系訊息傳遞反應，但是如果拉長觀察時間，蟑螂有可能因為體內注射高濃度葡萄糖而產生其他的生理變化。

#### 四、腹部注射 $10^{-3}$ M 咖啡因溶液時對心搏量的影響

1.心臟是動物在體內運輸各種物質的重要器官，透過收縮與舒張的快慢以及大小也就是心跳率及心搏量，皆會影響個體生理表現(黃、蔡，2001)。在我們前述的實驗中主要都是觀測心跳率結果。故本實驗便想觀察心搏出量是否也會受到咖啡因的影響。由(圖十七)、(圖十八)的結果得知，在分別餵食以及注射  $10^{-3}$  M 咖啡因溶液後，蟑螂的平均心臟舒張內徑分別增加 13%、26%，而平均收縮內徑減少 9%、10%。此結果說明不論是透過餵食或是注射咖啡因，除了都會增加蟑螂的心跳率之外，也同時會增加蟑螂的心搏出量。而咖啡因對心搏量增加的影響與對心跳率的影響相同，都會隨著時間增加而逐漸降低，在 10 分鐘後心搏出量即會恢復至與餵食及注射前相同。同時我們也觀察到注射咖啡因對蟑螂心跳率及心搏出量的影響較餵食咖啡因更明顯。先前研究指出當以葡萄糖餵食蟑螂時引發心跳率增加的主要原因可能是透過味覺輸入、大腦整合和心側體對心臟上圍心細胞的作用，才會在餵食後有快速的反應(蔡等，2001)。而由(圖十五)、(圖十八)的結果來看，同樣也觀察到在注射咖啡因後有快速且明顯的心跳率及心搏量的增加。推測在蟑螂的腹部或是心臟周圍具有咖啡因受器，可將偵測到的咖啡因刺激傳遞到腦部，以引發後續的反應。

五、咖啡因屬於甲基黃嘌呤的衍生物，與其相似的化合物包含茶鹼、可可鹼，甲基黃嘌呤是一種普遍存在於人體及其他生物體的器官中的一種嘌呤鹼。但由於人類活動的緣故，這些化學分子成為人口密集區的廢水中最常見的汙染物



質，一般在都市附近的水域表層很常見。雖然咖啡因在汙水處理廠中的去除率可高達 90%(Bendz *et al.*2005)。但因為來源龐大，在自然河流中的檢出濃度一般還是可以到達數千 ng/L，而且是檢出率非常高的有機物(Baker *et al.*, 2011)。因此，咖啡因可以當作環境衝擊的指標分子。而咖啡因在進入水域環境之後，亦會對多種水生動植物的生長發育產生抑制作用(Moore *et al.*, 2008)，進而對整個生態系產生巨大影響(余等，2018)。在此次實驗中，便可觀察到過高的咖啡因攝取會使蟑螂心跳變得不穩定甚至直接造成蟑螂的死亡。本實驗未來可更進一步針對咖啡因對其他環境中生物可能產生的負面影響進行探討。

## 柒、結論

- 一、蟑螂透過口器攝食咖啡或是經由腹腔注射咖啡後，都會快速使心跳率上升，代表咖啡因可透過味覺刺激的神經性訊息傳遞，或直接作用於心臟，使心臟產生後續的生理效應，包括使心跳率及心搏量增加。
- 二、咖啡因經由腹腔注射進入蟑螂體內，對心跳率的影響較透過攝食口器更敏感。且注射濃度過高的咖啡因會導致蟑螂心跳減緩或停止。
- 三、咖啡中雖然包含許多不同的化學物質，但主要引起心跳率以及心搏出量增加的主要因素是咖啡因。
- 四、本實驗可作為國中生物實驗觀察心搏的延伸課程，並且讓學生了解咖啡因對生物心跳率變化可能的影響。

## 捌、參考文獻

- Ashby, E. A., and J. L. Larimer. 1965. Modification of cardiac and respiratory rhythms in crayfish following carbohydrate chemoreception. *J. Cell. Comp. Physiol.* 65: 373-379.
- Baker D R , Kasprzyk-Hordern B.2011. Multi-residue analysis of drugs of abuse in waste water and surface water by solid phase extraction and liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem massspectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(12):1620-1631.
- Bendz D, Paxeus N A, Ginn T R, *et al.*, 2005. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study:Hoje river in Sweden. *Journal of Hazardous Materials*, 122(3):195-204
- Cohen, R. W., Mahoney, D. A. and Can, H. D. 2002. Possible Regulation of Feeding Behavior in Cockroach Nymphs by the Neurotransmitter Octopamine. *J. Insect Behavior.* 15(1): 37-50
- Davey, K. G. 1962b. The nervous pathway involved in the release by feeding of a pharmacologically active factor from the corpus cardiacum of *Periplaneta*. *J. Insect Physiol.* 8: 579-583.
- Johnson, F., Ringo, J. and Dowse, H. 1997. Modulation of *Drosophila* heartbeat by neurotransmitters. *J. Com. Physiol. B.* 167(2): 89-97.
- Moore M T, Greenway S L, Farris J L, *et al.*,2008. Assessing caffeine as a emerging environmental concern using conventional approaches. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(1):31-35
- Tsai, J. P., Tung, L. J., Lee, M. C. and Lin, J. T. 2004. The effect of octopamine on the Cardiac Output of Cockroach by Using Computer-based Video Analysis On Measuring Stroke Volume. *Taiwania* 49(1): 7-15.
- Patrick Di Justo。2015。解密日常產品成分-50種產品的組成與成分解析以及採訪內幕大公開。
- 黃常宇、蔡任圃。2007。認識身旁的小傢伙(四)－美洲蟑螂循環系統的觀察方法。科學教育月刊。304：38-48。
- 蔡任圃、黃壁祈、童麗珠、林金盾。2001。影像分析探討餵食葡萄糖液對蟑螂心輸出量的效應。台灣昆蟲。21:133-145。
- 蔡任圃。2003。蟑螂心臟活動的觀察方法。科學教育月刊。257：31-38
- 龐中培。2009。喝咖啡，聊咖啡因的是非。科學人雜誌。93。
- 余綿梓、袁嘯、李適宇等。2018。咖啡因在河流沉積物中吸附的影響因素及模擬研究。環境科學學報。38(2)：560-569

## 【評語】 030313

1. 本研究的主旨在於探討美洲蟑螂攝食咖啡後，對於心跳率變化的影響。
2. 表二與圖八是先後重複使用同樣的蟑螂進行餵食咖啡，10分鐘後再餵食葡萄糖，因此兩項處理變因有可能相互干擾實驗結果。
3. 咖啡對動物心搏影響已有許多研究，也有咖啡因對昆蟲影響的研究，是有些新穎性，但對相關科學領域的貢獻不高。
4. 可考慮不同的咖啡沖泡方式及烘焙程度，如手沖濾泡、摩卡壺、虹吸式等，對蟑螂心搏的影響，會較有吸引力。
5. 實驗設計可包含不同的咖啡萃取液或咖啡因濃度。
6. 餵食及注射咖啡因的反應，似乎都是立即性，除非味覺的反應太強烈，否則經由消化系統消化及吸收後的反應，應該會延遲反應才對。

## 壹、摘要

本研究觀察美洲蟑螂 (*Periplaneta americana*) 在透過口器攝食或是藉由體腔注射將咖啡攝入體內後，在一定時間內對於心跳率變化的影響。結果我們發現蟑螂經由口器攝食咖啡或是經由體腔注射咖啡後，都會快速地增加心跳率，並在短時間內恢復，與前人研究蟑螂攝食葡萄糖後對心跳率影響的結果相似，說明透過口器攝食咖啡因對心跳率的影響可能包含神經性的訊息傳遞。本研究亦透過影像分析軟體 tracker 探討體腔注射咖啡因對心跳量的影響，結果發現咖啡因會使心跳量增加。透過本實驗可延伸國中生物「心搏觀察實驗」的探究活動，亦可幫助藉由蟑螂了解咖啡因對生物心臟活動可能造成的影響，協助有關咖啡因的味覺反射與體內作用等相關研究。

## 貳、研究動機

台灣近幾年來咖啡文化當道，甚至變成一種重要的經濟產業。台灣早期的咖啡館，在藝文界也扮演重要角色。從文人咖啡館、專業咖啡館一路走來，台灣咖啡文化經過幾多年來的發展，已從精英文化，轉變為平民大眾的庶民文化，根據2017年的統計，台灣人每年平均喝掉28.5億杯咖啡，可以說咖啡已經變成國人日常生活當中相當重要的一環了。

咖啡除了本身具有特殊的迷人香氣及口味之外，對人體也具有許多影響，根據許多最新的研究報告顯示，咖啡因可以讓我們保持清醒，並稍稍促進我們的生理表現，不過攝取太多咖啡因會使人心跳加速，或是導致心律異常。巨量的咖啡因對人體甚至是有毒的，嚴重時甚至會造成死亡，不過成年人一天大概得喝一百杯咖啡才會達到這危險程度。

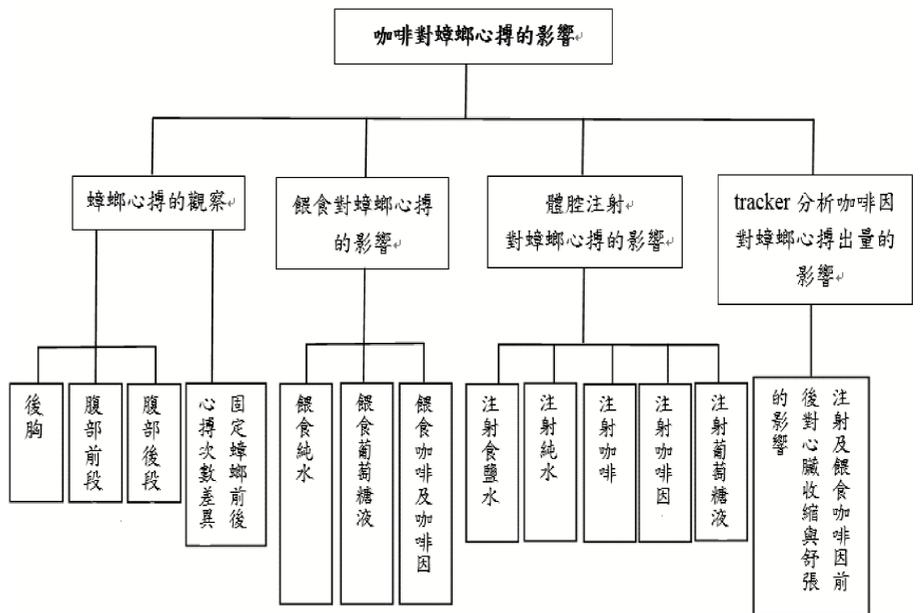
但是目前咖啡因對人體實驗的研究，會因為每個人對於咖啡因攝取的習慣與量的多寡，以及每個人對咖啡因的反應不同而有個別的差異，所以我們想要藉由其他沒有接觸過咖啡因的生物來測試其對咖啡因的反應。而我們在本學期初有機會到台北市某蟑螂實驗室，學習到如何進行計算蟑螂心跳的方法。剛好可以用來監測蟑螂對咖啡因的生理反應，所以我們跟老師討論後，決定利用蟑螂來了解咖啡因對生物可能造成的影響。

## 參、研究設備及器材

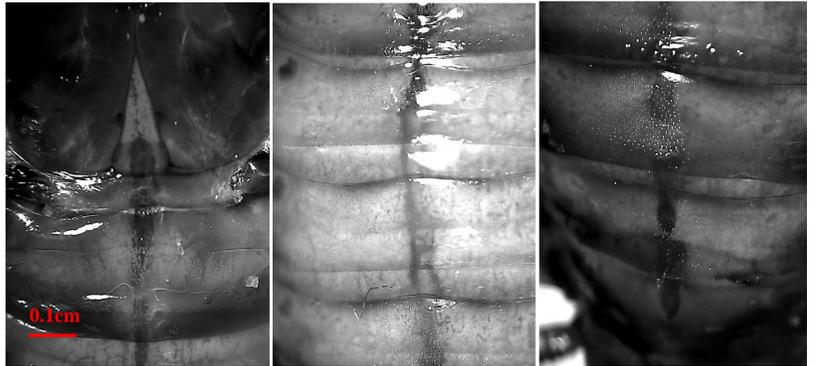
美洲蟑螂(*Periplaneta americana*)飼養於室內蟑螂飼養箱內，來源為台北市某蟑螂實驗室。飼養環境溫度約25~28°C，定期換水、提供乾粉飼料。實驗的進行皆以色澤明亮、身體外表無破損之雄性成蟲作為實驗動物，避免母蟲生殖週期或攜夾卵鞘的干擾。

1. 三目顯微鏡
2. 顯微鏡光度分析儀
3. 筆記型電腦
4. 電子秤
5. 燒杯
6. 量筒
7. 塑膠滴管
8. 漏斗
9. 紗布
10. 皮下注射針筒
11. 黏蟑板
12. 碼表
13. 三腳架
14. 酒精燈
15. 蟑螂養殖箱
16. 膠帶
17. 鑷子
18. 石綿網
19. glucose
20. sodium chloride
21. coffee powder
22. caffeine

## 肆、研究過程或方法

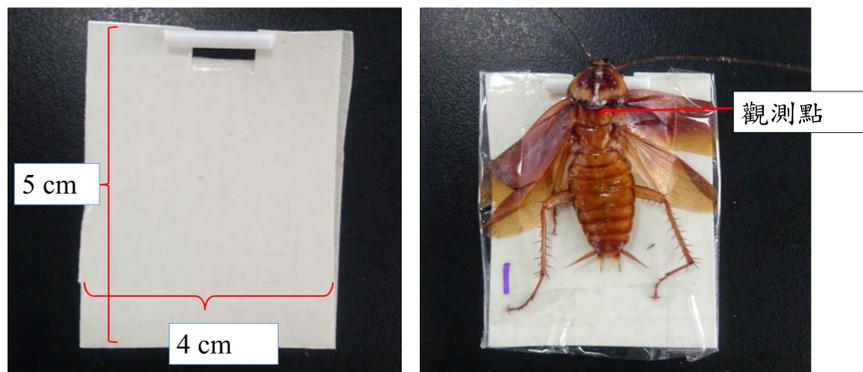


### (一) 蟑螂心跳的觀察



圖一、解剖顯微鏡觀察心臟構造。(a)後胸位置。(b)腹部前段。(c)腹部後段。

### (二) 探討蟑螂固定在黏蟑板後心跳的變化趨勢



圖二、左圖為一般蟑螂固定板的示意圖，右圖為蟑螂固定完成的示意圖，並將蟑螂的實驗編號紀錄於蟑螂板左下角。將蟑螂的頭部及口器稍微露出於黏蟑板外，方便進行餵食實驗。露出的腹節則進行腹腔注射實驗。

### (三)、探討以水、葡萄糖水、咖啡、咖啡因進行餵食後對蟑螂心跳的影響



餵食10秒鐘後，記錄蟑螂心跳次數：

- a. 餵食後：測量1分鐘
- b. 餵食後3分鐘：測量1分鐘
- c. 餵食後10分鐘：測量1分鐘

圖三、以滴管吸取水、葡萄糖液(1 M)、咖啡(咖啡比水1:3浸泡煮開後以紗布過濾)，將滴管放置在蟑螂口器前端進行餵食，固定每隻餵食時間為10秒鐘。

### (四)、探討食鹽水、葡萄糖液、咖啡、咖啡因進行腹腔注射對蟑螂心跳的影響



注射10秒鐘後，記錄蟑螂心跳次數：

- a. 注射後：測量1分鐘
- b. 注射後3分鐘：測量1分鐘
- c. 注射後10分鐘：測量1分鐘

圖四、以腹腔注射針筒吸取0.05 ml的溶液後，由蟑螂腹部背側第五與第六片骨片之間注射。注射時需注意速度，避免溶液從注射針孔處外漏。

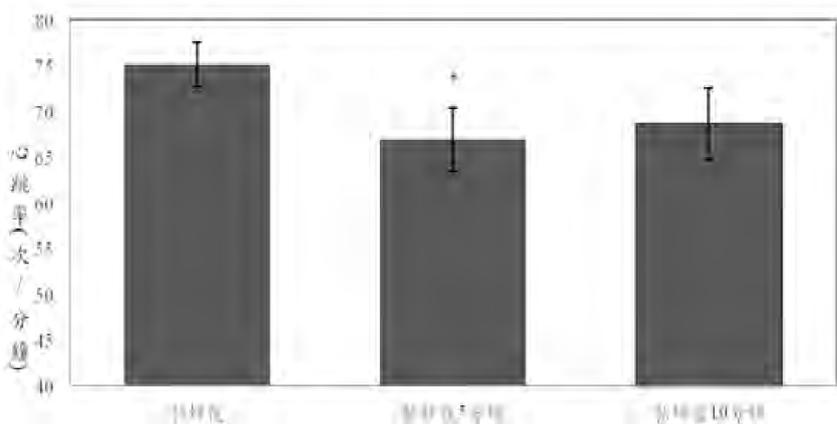
**(五)、利用tracker計算蟑螂在餵食及注射咖啡因之後，心臟收縮與舒張的變化量**



圖六、利用影像分析軟體Tracker進行心臟收縮與舒張時內徑差異的測量，以逐格播放模式進行測量。心臟收縮內徑：心臟於最大收縮時的心臟內徑，以百分比表示，對照組的心臟收縮內徑平均值訂為100%。心臟舒張內徑：心臟由最大舒張時的心臟內徑，以百分比表示，對照組的心臟收縮內徑平均值訂為100%。

**伍、研究結果**

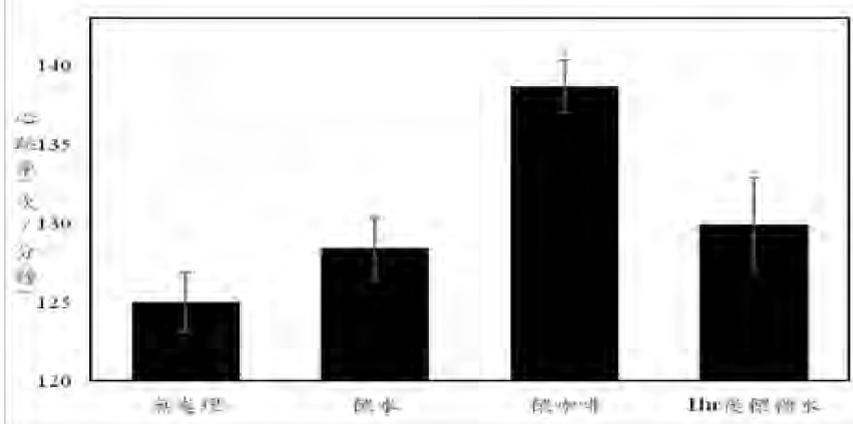
**(一)探討蟑螂固定在黏蟑板後心跳率的變化趨勢**



圖七、將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後立即測量心跳率，並於5分鐘及10分鐘後各測量一次，測量美洲蟑螂的心跳率變化(平均±標準誤，n=10)。黏蟑5分鐘後與立即黏蟑後相比，黏蟑後10分鐘與黏蟑後5分鐘相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

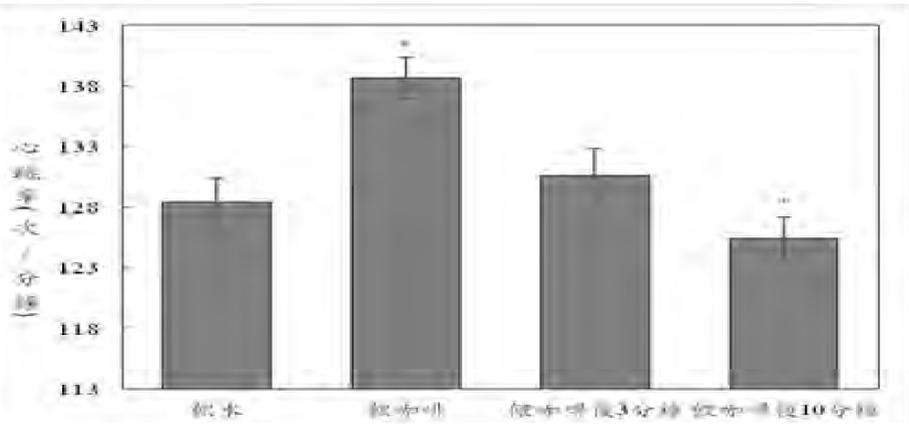
**(二)、探討以水、咖啡、葡萄糖水進行餵食後對蟑螂心跳率的影響**

**1.以不同的溶液餵食蟑螂後對蟑螂心跳率的變化**



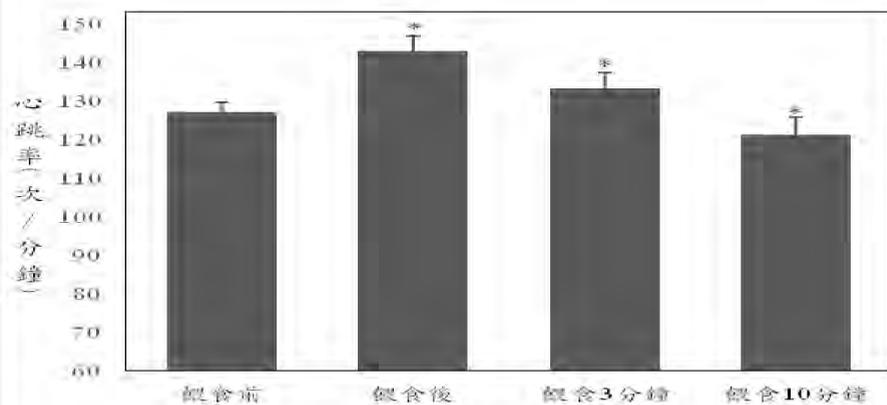
圖八：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘以上，之後以滴管餵食蟑螂清水10秒鐘，並立即測量心跳率的變化。之後將蟑螂靜置一小時後，以滴管餵食咖啡10秒鐘，並立即測量美洲蟑螂的心跳率變化。再將蟑螂靜置一小時後餵食葡萄糖水10秒鐘，並立即測量美洲蟑螂的心跳率變化(平均±標準誤，n=15)。餵食清水後與無處理相比，餵食咖啡和餵食葡萄糖水與餵食清水相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

**2.以咖啡餵食蟑螂後對蟑螂心跳率的變化**



圖九：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，之後以滴管餵食蟑螂清水10秒鐘，並立即測量心跳率的變化。之後將蟑螂再靜置半小時後，以滴管餵食蟑螂咖啡10秒鐘後，分別測量美洲蟑螂餵食完後、3分鐘後、10分鐘後的心跳率變化(平均±標準誤，n=15)。餵食咖啡後與餵食清水相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

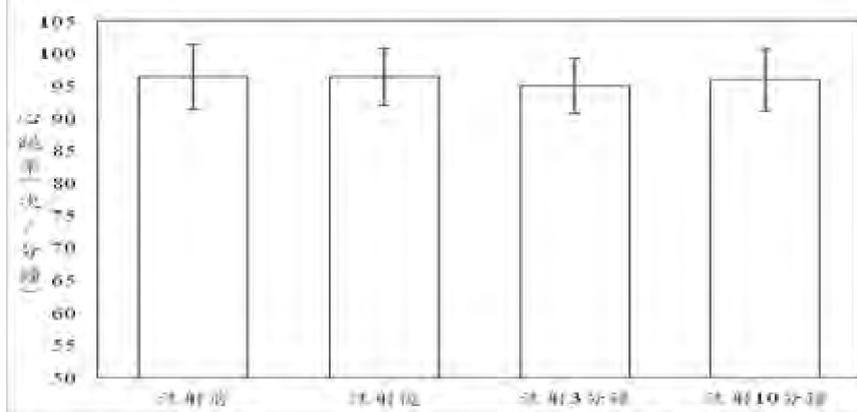
**3.以 $10^{-3}$ M咖啡因餵食蟑螂後對蟑螂心跳率的變化**



圖十：(a)將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以 $10^{-3}$ M咖啡因餵食蟑螂10秒鐘，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均±標準誤，n=9)。餵食前與餵食後相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

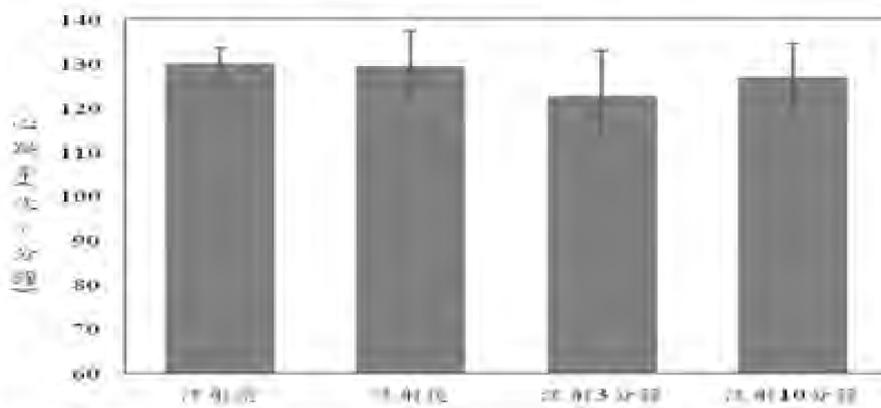
**(三)、探討食鹽水、純水、葡萄糖液、咖啡、咖啡因進行腹腔注射對蟑螂心搏的影響**

**1.以0.8%食鹽水對美洲蟑螂進行腹腔注射0.05 ml，觀察10分鐘內的心跳率變化。**



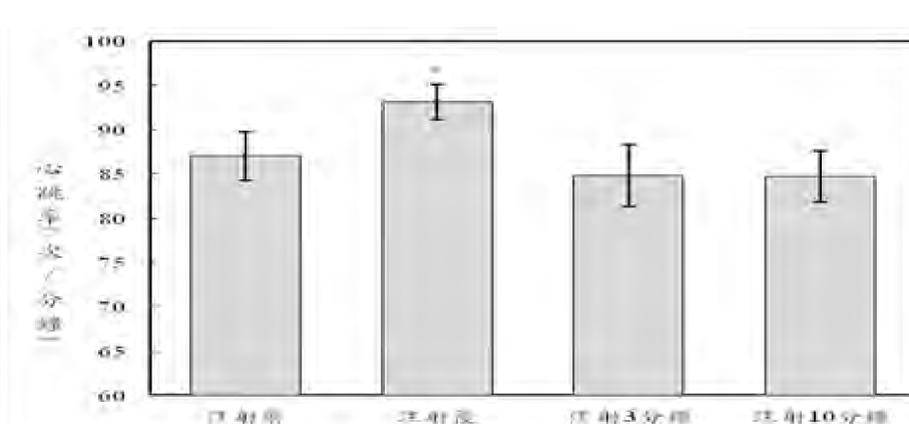
圖十一：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以0.8%食鹽水對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均±標準誤，n=10)。注射前與注射後相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

**2.以純水對美洲蟑螂進行腹腔注射**



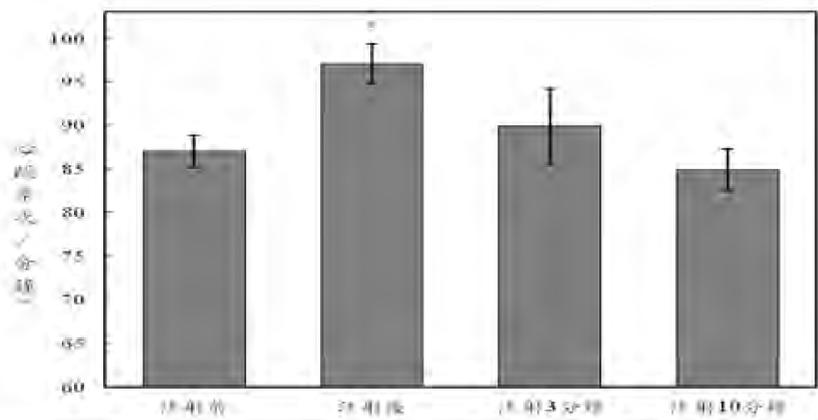
圖十二：(a)將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以純水對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均±標準誤，n=10)。注射前與注射後相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

**3.以50倍咖啡稀釋液對美洲蟑螂進行腹腔注射**



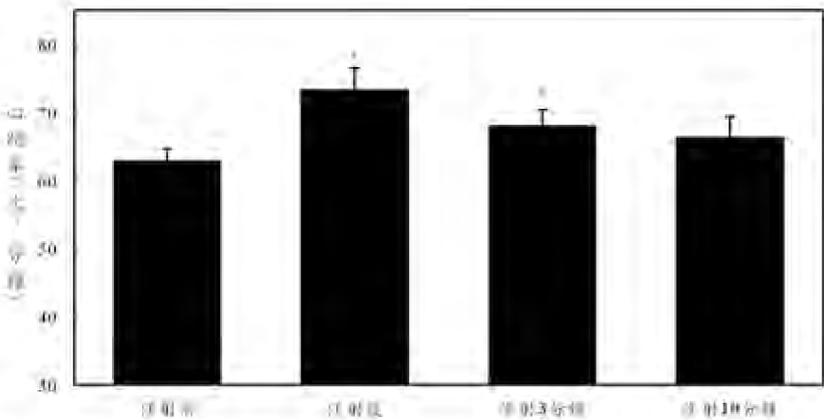
圖十三：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以50倍咖啡稀釋液對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均±標準誤，n=10)。注射前與注射後相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

#### 4.以100倍咖啡稀釋液對美洲蟑螂進行腹腔注射



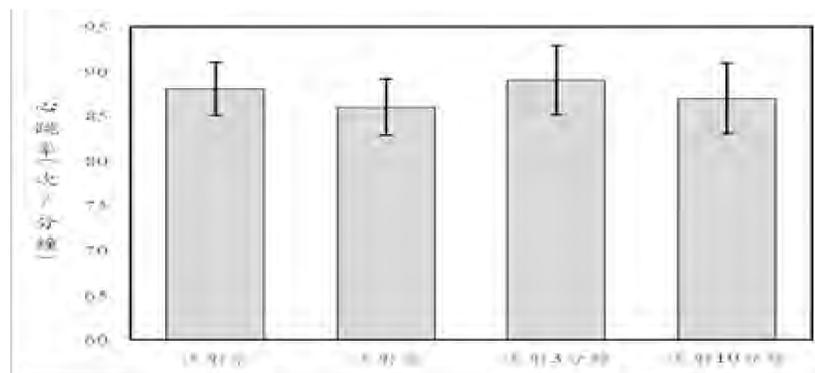
圖十四：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以100倍咖啡稀釋液對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均±標準誤，n=10)。注射前與注射後相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

#### 5.以 $10^{-3}$ M咖啡因對美洲蟑螂進行腹腔注射



圖十五：(a)將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘， $10^{-3}$ M咖啡因對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均±標準誤，n=9)。注射前與注射後相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。(b)注射後對注射前的心跳率變化比例。

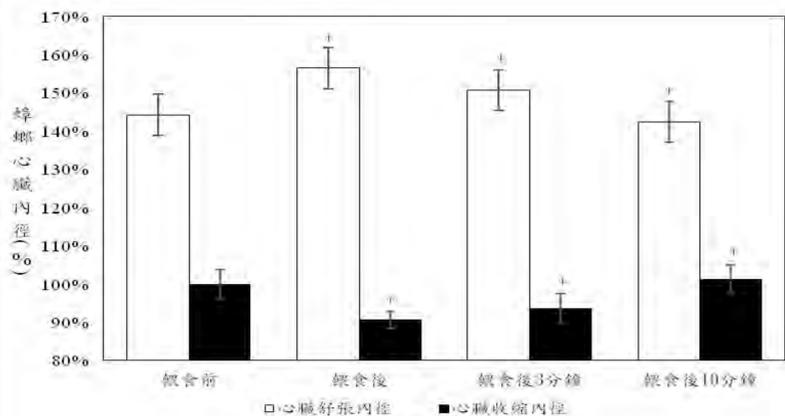
#### 6.以1 M葡萄糖溶液對美洲蟑螂進行腹腔注射



圖十六：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以1 M葡萄糖溶液對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心跳率變化(平均±標準誤，n=10)。注射前與注射後相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

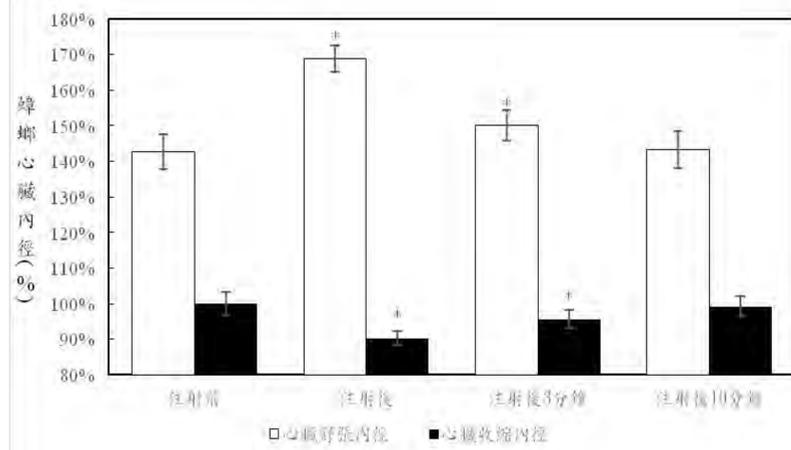
#### (四)、利用tracker計算蟑螂分別進行餵食及注射 $10^{-3}$ M咖啡因之後，心臟收縮與舒張的變化量

##### 1.餵食咖啡因 $10^{-3}$ M對蟑螂心臟收與舒張內徑差異影響



圖十七：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以 $10^{-3}$  M咖啡因對蟑螂進行餵食，觀察10分鐘內蟑螂的心臟內徑變化率(平均±標準誤，n=9)。餵食前與餵食後相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

##### 2.注射咖啡因 $10^{-3}$ M對蟑螂心臟收縮與舒張內徑差異影響



圖十八：將美洲蟑螂固定在黏蟑板上後靜置10分鐘，以 $10^{-3}$  M咖啡因對蟑螂進行腹腔注射，觀察10分鐘內蟑螂的心臟內徑變化率(平均±標準誤，n=9)。注射前與注射後相比(單尾t檢定)：\*： $p < 0.05$ 。

#### 陸、討論

##### 一、觀察蟑螂心跳率時可能引起心跳率改變的因素

固定蟑螂的過程可能會引起蟑螂心跳率發生變化，故須在固定後靜置10分鐘左右後再進行實驗。同時在不同的季節中進行實驗也會因為溫度不同導致心跳率有所變化，應盡量避免此因素的影響。

##### 二、透過餵食不同溶液對蟑螂心跳率的影響

我們在餵食的實驗中發現，餵食咖啡溶液相對於純水以及葡萄糖對蟑螂心跳率明顯提升較多，而此一變化會在短時間內出現也會很快恢復，代表咖啡對心跳率的影響可能是神經性的傳導，而非激素的影響。透過餵食咖啡因的結果，我們也發現咖啡溶液中影響心跳變化的主要物質是咖啡因。

##### 三、透過注射不同溶液對蟑螂心跳率的影響

在注射實驗的結果中，我們觀察到與餵食實驗的相似的结果，但注射對於心跳率變化影響更大，可見在蟑螂心臟附近同樣也具有感受咖啡因的受器，並且也會透過神經性的傳導影響心跳率的變化。

##### 四、腹部注射及餵食 $10^{-3}$ M咖啡因溶液時對心搏量的影響

透過餵食或注射咖啡因都會使蟑螂的心搏量增加，可知咖啡因除了影響心跳率的變化之外，同時也會增加心搏量，使整體蟑螂的心輸出量提高。我們也了解到餵食與注射咖啡因雖然都會出現以神經性傳導訊息的方式影響心跳變化，但透過注射的方式，不論是心跳率以及心搏出量都會比餵食來得更加明顯。

##### 五、高濃度咖啡因對環境生物可能的負面影響

雖然我們實驗觀察到咖啡因會提升蟑螂的心跳。但過高的咖啡因攝取也會使蟑螂心跳變得不穩定甚至直接造成蟑螂的死亡。本實驗未來可更進一步針對咖啡因對其他環境中生物可能產生的負面影響進行探討。

#### 柒、結論

一、蟑螂透過口器攝食咖啡或是經由腹腔注射咖啡後，都會快速使心跳率上升，代表咖啡因可透過味覺刺激的神經性訊息傳遞，或直接作用於心臟，使心臟產生後續的生理效應，包括使心跳率及心搏量增加。

二、咖啡因經由腹腔注射進入蟑螂體內，對心跳率的影響較透過攝食口器更敏感。且注射濃度過高的咖啡因會導致蟑螂心跳減緩或停止。

三、咖啡中雖然包含許多不同的化學物質，但主要引起心跳率以及心搏出量增加的主要因素是咖啡因。

四、本實驗可作為國中生物實驗觀察心搏的延伸課程，並且讓學生了解咖啡因對生物心跳率變化可能的影響。

#### 捌、參考文獻

- Patrick Di Justo。2015。解密日常產品成分-50種產品的組成與成分解析以及採訪內幕大公開。
- 黃常宇、蔡任圃。2007。認識身旁的小傢伙(四)-美洲蟑螂循環系統的觀察方法。科學教育月刊。304：38-48。
- 蔡任圃、黃璧祈、童麗珠、林金盾。2001。影像分析探討餵食葡萄糖液對蟑螂心輸出量的效應。台灣昆蟲。21:133-145。
- 蔡任圃。2003。蟑螂心臟活動的觀察方法。科學教育月刊。257：31-38
- 龐中培。2009。喝咖啡，聊咖啡因的是非。科學人雜誌。93。
- 余綿梓、袁嘯、李適宇等。2018。咖啡因在河流沉積物中吸附的影響因素及模擬研究。環境科學學報。38(2)：560-569