

中華民國第 63 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(二)

第三名

032907

降脂「原」「因」~咖啡豆或葉中綠原酸及咖啡
因對脂肪分解之探究

學校名稱：高雄市立五福國民中學

作者： 國二 郭秉翰 國二 周立珣	指導老師： 何姿穎 余尚芸
---------------------------------	-----------------------------

關鍵詞：胰脂酶、綠原酸、咖啡因

摘要

本研究探討咖啡豆及葉的萃取液抑制胰脂酶分解三酸甘油酯，實驗操縱變因分別為綠原酸與咖啡因濃度、咖啡豆烘焙程度、咖啡葉萃取液浸泡時間及製葉方式。實驗中將胰脂酶水溶液分別置入一系列樣本中，並加入三酸甘油酯，探討胰脂酶於不同作用環境中之活性大小，並進一步探討不同變因在其中的影響程度。實驗結果顯示，咖啡因、綠原酸皆會抑制胰脂酶活性，其中以咖啡因的抑制效果較明顯，綠原酸的抑制效果只在較高濃度時才會展現。咖啡豆的烘焙時間以 6 分鐘綠咖啡及 18~25 分鐘淺中深焙，對胰脂酶活性抑制效果明顯，推測與咖啡因濃度有關。另外以微生物發酵製得的咖啡葉萃取液對胰脂酶有顯著促進效果，但以揉捻方式製得的咖啡葉能有效抑制胰脂酶分解。

壹、前言

一、研究動機

在國一生物課本中，提到各種消化腺所分泌的酵素，引發我們對人體各式腺體及其功能的好奇，而且在日常生活中，時常會接觸到高油脂的食品，人們享受美食的過程中也經常思考是否有能夠幫助自己減肥的方法？為了因應市場需求，市面上時常會看到許多號稱可以減脂的飲品，不論是標榜「只要服用就能夠減少體重、輕易甩掉肥油」，或告訴消費者可以「盡情享受美食，無需顧慮體重」，都吸引許多渴望能以較簡單的方式減肥的消費者大量採購，這也讓我們對於飲品是否真的可以達到減脂和如廣告宣傳的效果感到好奇！市面上號稱減肥的商家大部分缺乏實驗數據證實，因此我們想要藉由一年級上學期生物所學的人類養分吸收，實際模擬人類消化酵素分解油脂的情形探討真實性。

二、文獻回顧

(一) 歷屆科展作品

回顧過往歷屆科展作品，跟本研究較有相連的有四篇：

1. 中華民國第 62 屆中小學科展國中組作品：知否？「茶」應是綠肥紅瘦 — 探討不同環境條件下三種脂肪酶之活性

本研究分別探討不同市售瓶裝茶、不同濃度咖啡因、不同沖泡方式茶溶液及兒茶素對胰脂肪酶、小麥脂肪酶、念珠菌脂肪酶之影響。研究發現：市售瓶裝茶對於小麥及念珠菌脂肪酶活性抑制效果良好；咖啡因會抑制三種脂肪酶的活性；手沖茶沖泡溫度及時間會影響兒茶素釋放量，進而抑制胰脂肪酶活性，沖泡越久抑制效果越佳，而沖泡溫度 80~90 °C 為宜；冷泡茶 4~8 小時，其兒茶素含量較高，抑制胰脂肪酶活性也較佳，不失為另種泡茶的選擇。

2. 中華民國第 55 屆中小學科展國中組作品：“啡”“寧”不可！— 咖啡產地、烘焙與沖泡的手法對咖啡因與單寧酸的影響

本研究欲找出不同產地、烘焙程度、沖泡溫度、研磨刻度大小、不同產地氣候及咖啡豆水洗與日曬的咖啡豆對咖啡因與單寧酸含量的影響。根據研究結果顯示，除了印尼的曼特寧以外，烘焙程度越深，咖啡因越多；平均溫度較低咖啡因較高；大部分單寧酸是從一爆結束開始變高；研磨越細，咖啡因與單寧酸溶出來的越多；沖泡溫度越高，咖啡因與單寧酸溶解的量也越多；日曬豆的咖啡因較低且變化不大；時間越長，其咖啡因與單寧酸含量會越高。

3. 中華民國第 55 屆中小學科展國中組作品：等一杯想要的咖啡~咖啡發酵，健康美味加分

本研究好奇如何使咖啡更健康美味，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，並以科學儀器加以驗證，以簡單製成烘焙出更優於外國的健康美味咖啡豆。

4. 中華民國第 56 屆中小學科展國小組作品：咖啡大戰，『原』力覺醒 ~ 探討咖啡中的綠原酸

本研究欲瞭解咖啡中綠原酸的特性及萃取、檢測方法。經過實驗得知：輕烘豆咖啡液的抗氧化效果最好；綠原酸萃取時不宜浸置太久；99.5%乙醇萃取的咖啡液可能有最多的綠原酸；生豆及輕焙豆中含有較多的綠原酸。

(二) 其他相關研究

過往文獻指出咖啡在血脂方面具保護作用，如降低低密度脂蛋白膽固醇（LDL）與高密度脂蛋白膽固醇（HDL）之比值，然而亦具傷害作用，如提高總膽固醇、低密度脂蛋白膽固醇及三酸甘油酯之相關數值（張金堅等，2015），故目前學界對咖啡是否具減脂效果沒有明確的結論。根據課本所學到的知識，我們認為抑制胰脂酶分解三酸甘油酯生成脂肪酸，進而減少脂肪酸於消化道中被吸收，就可以達減肥之成效，故若我們擬探討咖啡是否具減脂效果，可從咖啡是否可以抑制胰脂酶活性著手。

咖啡的成分，除了大多被人熟知的咖啡因外，不得不提起綠原酸，根據文獻其含量約佔咖啡豆總重量的 6%~12%，比咖啡因 1~2% 還多（王柏森等，2020）。在岡嶋研二（2015）於《日本生髮權威搶救掉髮危機》一書指出咖啡中綠原酸可提升血管力，降低腦中風之風險，歸因於其有改善消化器官機能的作用，進而能夠減少體脂肪。過往研究雖對綠原酸有降脂減肥作用較咖啡因有明確結論，但多為將實驗小鼠餵食一段時間後，比對實驗前後其體脂率變化，非檢測綠原酸對胰脂酶活性之影響，且同時針對咖啡因及綠原酸組合降脂減肥作用較少見，過往研究曾觀測高脂飲食小鼠同時攝取 0.05% 咖啡鹼及 0.2% 綠原酸餵養 14 週後，實驗證實兩者組合可以明顯降低血糖和總膽固醇濃度，但亦未提及胰脂酶活性，僅推測可能是通過調節肝臟脂質代謝之基因表現（ZHU, 2016），因此我們設計實驗欲探討不同濃度的純咖啡因與純綠原酸濃度對於抑制脂肪酶的效果。

咖啡葉萃取液是 2021 年衛生福利部才核准上市的新興茶品，透過文獻讓我們了解咖啡葉中也具有綠原酸（李穎宏等，2015），因此我們想控制綠原酸濃度進而探討咖啡葉萃取液的抑制胰脂酶分解脂肪效果。

在本實驗中，我們也將探討芒果苷對於抑制胰脂酶脂效果，在咖啡葉中含有芒果苷，故我們想了解芒果苷是否和綠原酸及咖啡因同樣具有抑制效果。根據文獻（Jyotshna et al., 2016），目前在市面上已開發出以芒果苷為主要活性成分的中藥，用於治療多種疾病，包括治療非酒精性脂肪肝、高尿酸血症和糖尿病等疾病。動物實驗研究表明，芒果苷具有改善學習、空間記憶、增強神經肌肉、減輕焦慮和抑鬱等特性（Feng et al., 2019）。它能夠改善胰島素抗性、防止粒線體失活、預防 β -類澱粉蛋白的合成和腦部斑塊的形成，從而增強記憶能力並預防神經細胞死亡，對改善阿茲海默症症狀有益（Walia et al., 2021）。關於芒果苷調節血脂之相關實驗，曾有研究團隊在 2015 年針對高血脂症的超重病患分別給予口服 150 mg 芒果苷及安慰劑，其實驗結果表示連續服藥 12 週後可以明顯降低血清甘油三酯（TG）、升高高密度脂蛋白膽固醇（HDL），但對總膽固醇及低密度脂蛋白膽固醇（LDL）無顯著影響。基於上述芒果苷對脂肪肝及血清甘油三酯之影響，我們想或許其亦有機會影響胰脂酶之活性，故在後續延伸實驗時，我們控制芒果苷濃度，進而探討其抑制胰脂酶分解脂肪的效果。

綜上所述，本研究的目的有三：

- 一、探討純咖啡因、純綠原酸和純芒果苷濃度對胰脂酶活性之影響。
- 二、探討胰脂酶在咖啡因和綠原酸組合下之活性變化。
- 三、探討咖啡豆及葉萃取液環境下分別探討胰脂酶之活性。

據此，擬出相關實驗如下：

- 實驗一、探討純咖啡因濃度對胰脂酶活性之影響。
- 實驗二、探討純綠原酸濃度對胰脂酶活性之影響。
- 實驗三、探討純芒果苷濃度對胰脂酶活性之影響。
- 實驗四、探討不同烘焙程度之咖啡豆萃取液對胰脂酶活性的影響。
- 實驗五、探討不同保存時間之咖啡豆萃取液對胰脂酶活性的影響。
- 實驗六、探討不同浸泡時間之咖啡葉萃取液對胰脂酶活性之影響。
- 實驗七、探討不同比例之純咖啡因與純綠原酸濃度對胰脂酶活性之影響。
- 實驗八、探討不同製葉方式之咖啡葉萃取液對胰脂酶活性之影響。

貳、研究設備及器材

本研究所使用之實驗器材及藥品，如表一：

表一、實驗耗材及分析儀器

耗材與儀器			藥品及藥劑名稱
濾紙	離心管架	振盪器 Vortex-Genie 2	氫氧化鉀
刮勺	微量滴管	15 mL、50 mL 離心管	咖啡葉
量筒	研鉢和杵	微量吸管尖	乙醇 95%
漏斗	Parafilm	加熱攪拌器 MH-1 SK-10541	乙醚
滴管	100 mL 血清瓶	電子天平 JM-203V	蒸餾水
玻棒	水銀溫度計	分光光度計 UV-1200	純咖啡因
試管刷	比色管	水浴槽 Water bath 810	優妙化
洗滌瓶	燒杯	自製咖啡豆烘焙機	純綠原酸
磨豆機	攪拌子	篩網 (60 目)	阿拉比卡咖啡豆
拭鏡紙	pH meter 510		橄欖油 (三酸甘油酯)
酒精溫度計	250 mL 血清瓶		純芒果苷



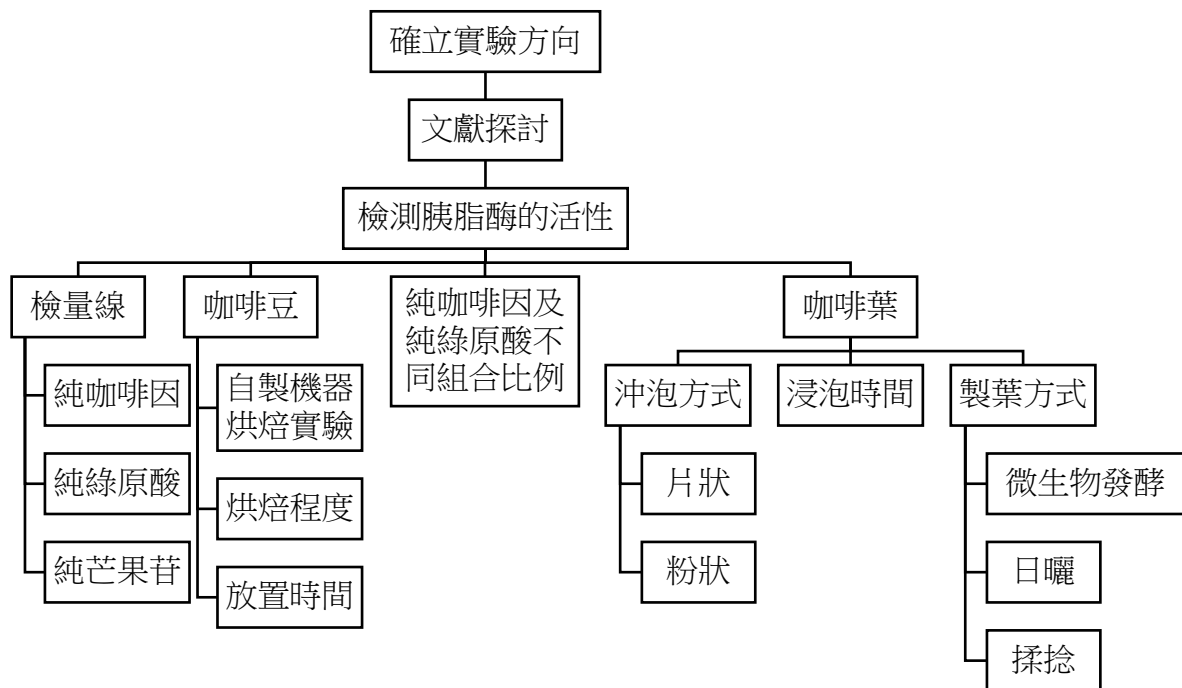
圖一、部分器材圖



圖二、恆溫水浴槽

參、研究過程及方法

一、實驗流程架構圖



二、自製咖啡豆烘焙機

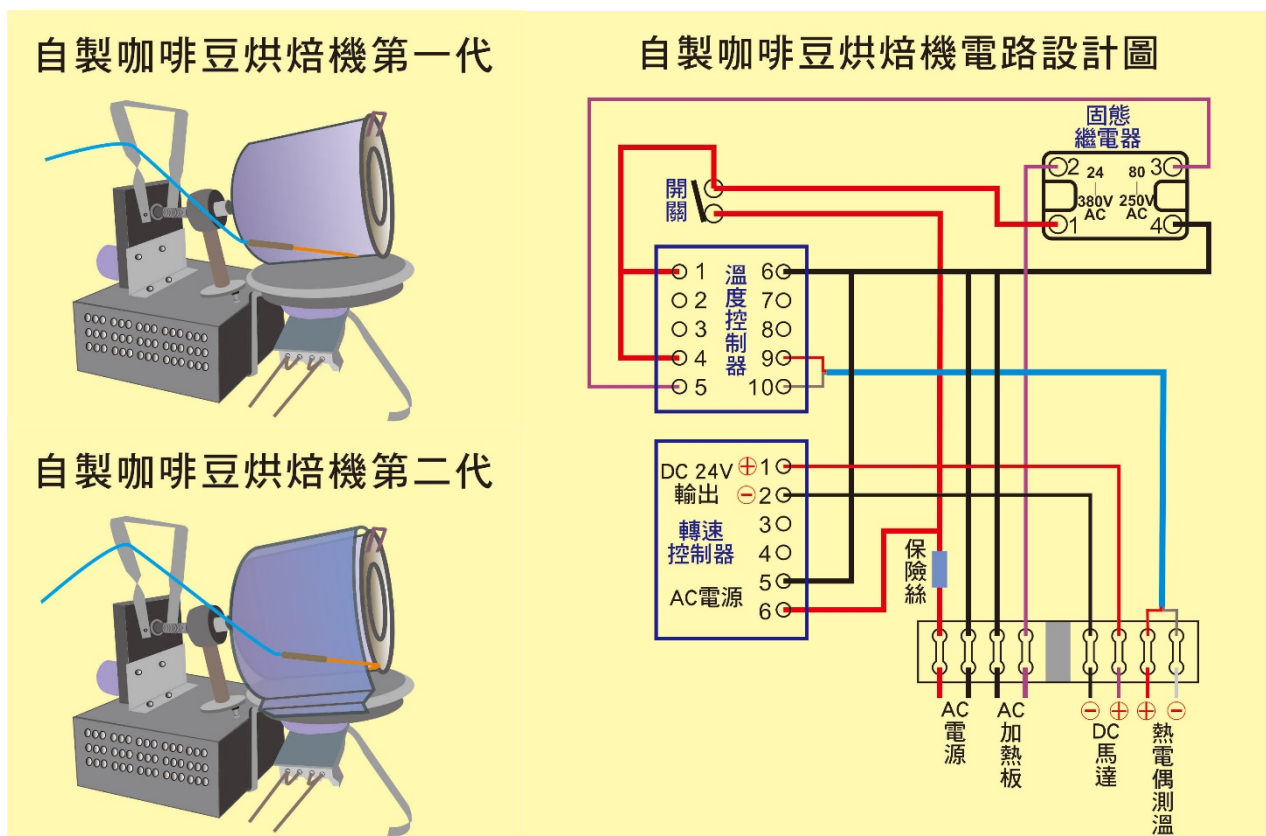
烘焙咖啡豆是本實驗的重要步驟之一，一般私人咖啡烘焙設備，如平底鍋烘焙，由於無法均勻加熱，容易造成烘焙不均勻的情況；此外，烘焙的過程如果以人為控制翻炒時間和火力大小等，無法完全控制實驗的所有變因，因此容易產生實驗結果的不準確性。為了克服這些問題，我們決定自製咖啡豆烘焙機，以確保烘焙過程中火力大小穩定及翻炒均勻。在研究過程中，我們逐次改良我們的自製咖啡豆烘焙機，其歷程如下：

- (一) 烘焙裝置：我們從學校已損壞之恆溫震盪器及加熱攪拌器上分別拆下一組溫度控制器（型號為 FY400）及加熱板。透過學校生生活科技教師的指導，了解自動控制原理及電路之相關背景知識，進而藉由 FY400 溫度控制器、溫度感測棒及固態繼電器來控制加熱板溫度，完成待第一代烘豆機。
- (二) 第一代烘豆機：我們以鋼杯製做烘豆鍋，首先將鋼杯的蓋子挖洞（以便放入生豆）並裝上把手、在鋼杯內裝上四片攪拌片，固定在烘焙裝置上，除此之外，我們加裝轉速控制器，並用彈簧帶動烘焙鍋轉動，如此一來，除了可控制翻炒的速度，也能減少加熱板的高溫傳導至轉速控制器。在實驗過程中，我們發現溫度上升緩慢，推測是熱由鋼杯上方散失原因。
- (三) 第二代烘豆機：為了避免熱能由鋼杯上方散失，我們訂做了不鏽鋼材質的罩子，改

善烘豆鍋熱能散失問題，並重新使用耐熱鐵氟龍膠帶將溫度感測棒固著於鋼罩上，進而使其可盡可能接觸到烘豆鋼杯邊緣（但不可直接碰觸到鋼杯，避免溫度感測棒前端磨損），更準確測量溫度，使我們能夠精準判斷將咖啡豆放入烘豆鍋的時間點。

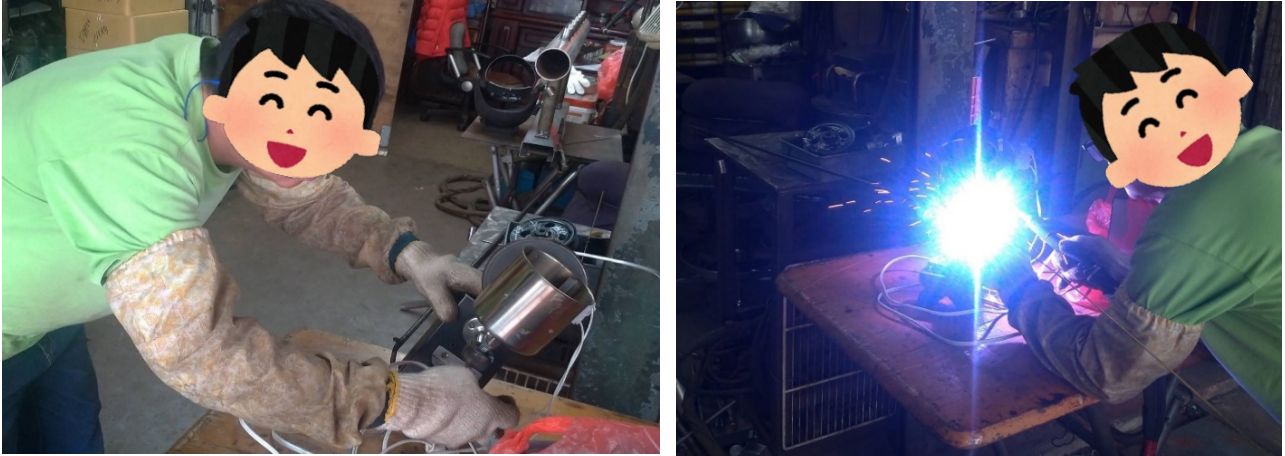
製作期間遭遇之問題：

- (一) 使用一代機器時我們發現溫度上升的速度太慢，導致實驗時間拉長，也讓我們無法判斷烘焙程度之標準「爆音」。於是我們訂製鋼製罩子，改善熱能散失問題，並調整溫度感測棒位置，使機器能準確感知是否到達設定溫度，進而控制繼電器，停止或重新加熱，並能夠自動保溫。
- (二) 在測試第二代時，我們發現升溫速率提升，但即使加熱板已到設定溫度，溫度控制器顯示之鍋內溫度仍低於設定溫度，我們懷疑是否是因為溫度感測棒與機器之距離太遠，於是我們重新調整，然而影響並不大。後來發現，因加熱板傳遞熱能至烘豆鍋時有熱量散失，故內鍋溫度無法達到設定溫度，故我們進行前測實驗，測試將第二代烘豆機設定不同儀器溫度，並發現設定 275°C，鍋內溫度為 210°C時，能清楚聽見爆音，且溫度變化數據與過往文獻相符，故後續實驗三及四皆使用 275°C作為儀器設定溫度值所烘焙之咖啡豆。



圖三、自製咖啡豆烘焙機外觀設計圖，左上圖為第一代溫度感測棒擺放位置。左下圖為第二代增加不鏽鋼外罩及調整溫度感測棒測量位置。右圖為烘焙機電路設計圖。

以下為自製咖啡豆烘焙機的設計圖及製作歷程照片：



圖四、工廠代為焊接



圖五、訂製第二代之不鏽鋼罩子



圖六、第二代自製烘豆機

三、研究材料

(一) 咖啡豆

市售咖啡豆主要來自三種樹種，分為羅布斯塔、賴比瑞亞及阿拉比卡，其中賴比瑞亞產量較少，而羅布斯塔常被大廠壟斷收購製成即溶咖啡，故前兩者在市面上不易取得；一般民眾買回家手沖精品咖啡是以阿拉比卡為主，故基於實驗素材取得難易度，及實驗的未來應用性，我們認為選用阿拉比卡較佳。

(二) 咖啡葉

咖啡葉萃取液為食藥署 2021 年初才核可上市之新興茶品，因此本研究將其納入實驗中。為避免不同咖啡植株有個體間的差異，我們藉由向大學實驗室取得其與小農合作之咖啡葉。根據實驗室所給的相關資訊，該咖啡葉是從未施藥之同一母株上摘採，並經實驗室烘乾及微生物發酵，但其因是實驗室執行農委會計畫，研究未來要上市之咖啡葉，故微生物發酵細節無法取得。

考量咖啡豆及葉實驗素材的一致性，再者因食藥署規定咖啡葉萃取液之選擇樹種為阿拉比卡種及羅布斯塔種，根據上述考量取得方便性及市場口味，無論是咖啡豆或葉之品種選擇均為阿拉比卡種較佳，且均來自同一小農。



圖七、阿拉比卡種咖啡樹



圖八、經烘焙後的阿比皮卡種咖啡豆



圖九、三種不同製葉方式之咖啡葉



圖十、實驗室提供經微生物發酵之咖啡葉

實驗進行之初期，由於飲用咖啡葉尚不普及，故我們透過訪問實驗室人員，得知坊間沖泡咖啡葉之方法為用手將葉子撕為碎片後，依個人口味沖泡 3~5 分鐘，然結果不符合我們初始假設「咖啡葉具有抑制胰脂酶活性之可能」，再考量即使我們儘量控制撕後葉片面積大小一致，但仍不夠嚴謹。

因在進行咖啡葉實驗時，我們已經完成咖啡豆一系列之實驗，根據我們初步實驗結果，延伸出另一個假說「咖啡因需在一定濃度才能展現對胰脂酶具抑制能力」，故考量以上兩因素後，我們想何不將咖啡葉仿日本沖泡抹茶方式，將其打成粉末狀，然後設計一系列用不同浸泡時間之咖啡葉萃取液來進行胰脂酶活性之研究。

雖然我們實驗最終有找出能沖泡實驗室提供之咖啡葉具抑制胰脂酶的方式，但我們不盡滿意，因其似乎不符合一般大眾沖泡習慣。且在因緣際會下，我們無意中發現，未經微生物發酵的咖啡葉日曬乾後，顏色較綠（見圖九），讓我們聯想起「綠原酸」，因此又延伸出向小農取得相同來源之新鮮咖啡葉，我們在學校自行曬乾（未經微生物發酵）。後來我們參考了製茶相關文獻（茶三元，2022），了解到一般茶葉通常會使用揉捻手法來提高茶葉的萃取效果。因此，我們嘗試將新鮮咖啡葉於日曬過程中，同時進行揉捻，後再將上述三種葉子均在於 95 °C 熱水中浸泡 4 分鐘來進行萃取，後檢測胰脂酶置入後之活性。

四、評估胰脂酶活性

本實驗藉由估算三酸甘油酯分解量來評估胰脂酶活性，實驗所選用的三酸甘油酯屬橄欖油，根據自然課本理論，一個三酸甘油酯分子會分解產生三個脂肪酸分子及一個甘油分子，其中產物脂肪酸為弱酸，因此本研究採用強鹼-弱酸滴定法，然脂肪酸會與氫氧化鈉產生皂化反應，故本研究利用 0.001 M 氫氧化鉀滴定脂肪酸使其解離，另因被滴定液具有顏色，會影響酸鹼指示劑判定終點，故改搭配 pH 計作為達當量點之依據。

五、胰脂酶溶液配置

因考量酵素活性最佳化，每次在實驗當天早上才會拆開一獨立包裝的胃藥「優妙化」，用來配置實驗所需之胰脂酶溶液。藥商製造優妙化時，為保護胰脂酶在到達腸道前不被破壞，因此在酵素外包覆晶球。實驗開始，我們將藥粉置於研鉢中將晶球磨碎，避免影響實驗結果，接著將磨碎後的藥粉加水配置成濃度為 560 mg / 100 mL 之胰脂酶水溶液，並使用振盪器將其搖晃均勻後，經由濾紙過濾雜質，以待後續實驗使用。

六、滴定過程

- (一) 每份樣本準備兩支 15 mL 離心管，其一裝有 0.5 mL 三酸甘油酯及 2.5 mL 蒸餾水；另一支則為 1.0 mL 胰脂酶水溶液。
- (二) 將上述離心管放入 37 °C 之恆溫水浴槽內（模擬人體體溫），待離心管內溶液均已達到 37 °C，將兩者混合後，並使用振盪器振盪均勻。
- (三) 再次放回 37 °C 的水浴槽內，期間每間隔 30 分鐘用振盪器混合一次，避免胰脂肪酶僅在液面反應。
- (四) 待 60 分鐘反應時間到，將 1.0 mL 乙醚乙醇終止劑倒入離心管（ $V_{\text{乙醚}} : V_{\text{乙醇}} = 1 : 100$ ），並使用振盪器使其充分混合。
- (五) 為了滴定操作時，避免上清液（未分解油）阻擋氫氧化鉀與樣本反應，影響實驗結果，將離心管靜置於管架五分鐘後，再抽取下層液（未有浮油的液體）4 mL 作為

滴定之樣本。

- (六) 在 5 mL 燒杯中放入樣本，並加入攪拌子置於電磁攪拌器上，定溫於 25 °C 下進行滴定。
- (七) 將 0.05 mL 0.001M KOH 為一單位滴入樣本，並用 pH 計測量每滴 KOH 滴入後的 pH 值並記錄。

七、判定滴定終點

- (一) 透過記錄每滴 KOH 滴入裝有 0.5 mL 三酸甘油酯、2.5 mL 蒸餾水和 1.0 mL 胰脂酶水溶液的溶液中後，所得到的 pH 值，繪製出滴定曲線圖。
- (二) 依據「布—洛酸鹼學說」 $HA \rightleftharpoons H^+ + A^-(aq)$ ，
酸解離常數 $K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = \frac{[H^+]V_{KOH}}{V_{eq}-V_{KOH}} = [H^+] \times \frac{V_{KOH}}{V_{eq}-V_{KOH}}$ ，
可得 $V_{KOH}[H^+] = K_a(V_{eq} - V_{KOH}) = K_a V_{eq} - K_a V_{KOH}$ ，
故藉由 $V_{KOH}[H^+]$ 對 V_{KOH} 進行迴歸分析，可得酸解離常數 K_a 及當量點 V_{eq} ，進而結合
滴定結果，可以協助本研究判定滴定終點。

八、純咖啡因濃度對胰脂酶活性之影響

- (一) 將咖啡因配置成不同濃度咖啡因的水溶液，依不同比例調製成濃度 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、100 mg / 100 mL 之水溶液。
- (二) 加入 0.5 mL 三酸甘油酯及 2.5 mL 不同濃度咖啡因水溶液至 15 mL 離心管中，每種濃度各 6 重複加 1 組空白組。
- (三) 將胰脂酶水溶液 1.0 mL 加入上述離心管中並使用振盪器搖晃混合均勻後，放入 37 °C 恆溫水浴槽內（模擬人體體溫），計時 60 分鐘，期間每隔 30 分鐘使用振盪器將離心管搖晃混合。
- (四) 反應時間到時，將 1.0 mL 乙醚乙醇加入離心管以終止反應，並使用振盪器搖晃混合均勻，確保乙醚乙醇可終止脂肪酶進行分解反應。
- (五) 為易於滴定操作，靜置離心管約五分鐘，待上清液浮出後，用微量滴管越過上清液抽取底部樣本 4 mL。
- (六) 將樣本倒入 5 mL 燒杯後，置入攪拌子，置於電磁攪拌機上方。
- (七) 根據樣本特性，選用 0.01 M 或 0.001 M 氫氧化鉀滴入樣本，1 單位為 0.05 mL，過程中以攪拌器攪拌並加熱，直至 pH 值到達滴定終點即停止滴定，並將 0.001 M 氫氧化鉀體積換算三酸甘油酯之分解量。

九、純綠原酸濃度對脂肪酶活性之影響

- (一) 將綠原酸配置成不同濃度咖啡因的水溶液，依不同比例調製成濃度 10、15、20、25、30、40、50、100、150、200、250 mg / 100 mL 之水溶液。
- (二) 重複上述「純咖啡因濃度對胰脂酶活性」實驗步驟二~七。

十、純芒果苷濃度對脂肪酶活性之影響

- (一) 將芒果苷配置成不同濃度咖啡因的水溶液，依不同比例調製成濃度 10、50、100、250 mg / 100 mL 之水溶液。
- (二) 重複上述「純咖啡因濃度對胰脂酶活性」實驗步驟二~七。

十一、檢測不同烘焙程度（保存時間）之咖啡豆萃取液對胰脂酶活性之影響

- (一) 探討不同烘焙程度之咖啡豆萃取液對胰脂酶活性的影響
 1. 為烘製不同烘焙程度之咖啡豆，我們用自製烘豆機進行烘豆，分別烘出 1~25 分鐘等烘焙程度（每個處理間隔一分鐘），所烘製的咖啡豆於相同環境中先進行存放 5 天。
 2. 實驗當天（第 5 天）取出不同烘焙程度咖啡豆，分別用電動磨豆機磨碎，並以 60 目篩網過篩，以確保粒徑統一。
 3. 每個樣品均準備 2 支 50 mL 離心管，其一放入 2 克咖啡粉，另一放入 30 mL 的水，待統一備製完成後，才將兩者混合均勻立即放入 95 °C 恆溫水浴槽中 4 分鐘，待時間到時用濾紙過濾。
 4. 重複上述「純咖啡因濃度對胰脂酶活性」實驗步驟二~七。



圖十一、操作第二代自製烘豆機，下豆同時計時烘豆時間



圖十二、烘 1~25 分鐘咖啡豆樣本

(二) 探討不同保存時間之咖啡豆萃取液對胰脂酶活性的影響

將胰脂酶置於上述實驗（保存 5 天）及保存一個月（30 天）之咖啡豆萃取液中，比較其活性差異，其餘步驟均同上述。

十二、 檢測咖啡葉萃取液溶液對抑制胰脂酶活性之影響

(一) 探討不同浸泡時間之咖啡葉萃取液對胰脂酶活性之影響

1. 將經微生物發酵之乾燥咖啡葉用破壁機打成粉末，各樣本從中隨機抽取 2 g。
2. 沖泡 2 g 乾燥咖啡葉 / 30 mL 水的咖啡葉萃取液，放入 95 °C 恆溫水浴槽內，分別沖泡 3、4...12 分鐘，待時間到時用濾紙過濾。
3. 重複上述「純咖啡因濃度對胰脂酶活性」實驗步驟二~七。

(二) 探討不同製葉方式之咖啡葉萃取液對胰脂酶活性之影響

1. 將三種不同之乾燥咖啡葉用破壁機打成粉末，各樣本從中隨機抽取 1 g。
2. 沖泡 1 g 乾燥咖啡葉 / 30 mL 水的咖啡葉萃取液，放入 95°C 恆溫水浴槽內，浸置 4 分鐘，待時間到時用濾紙過濾。
3. 重複上述「純咖啡因濃度對胰脂酶活性」實驗步驟二~七。

十三、 探討不同比例之純咖啡因與純綠原酸濃度對胰脂酶活性之影響

(一) 將綠原酸及咖啡因配置成不同濃度咖啡因的水溶液，依不同比例調製成綠原酸濃度 40、200、400 mg / 100 mL；咖啡因濃度 20、40、60、80、100 mg / 100 mL 之水溶液。

(二) 重複上述「純咖啡因濃度對胰脂酶活性」實驗步驟二~七。

十四、 HPLC 檢測綠原酸、芒果苷及咖啡因之濃度

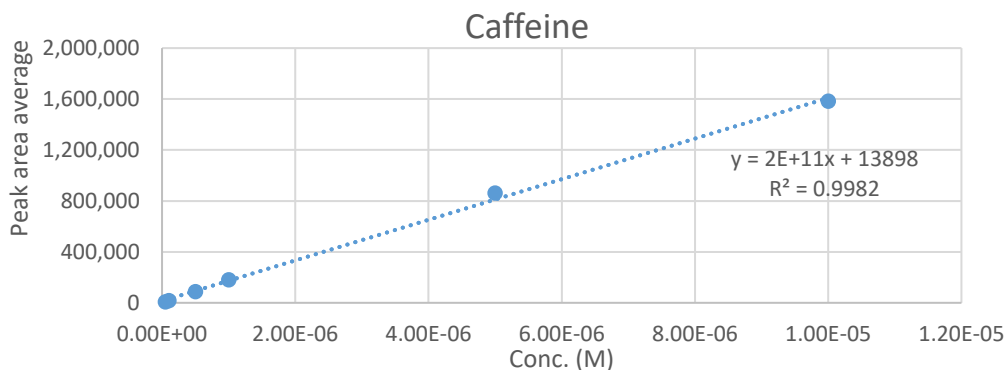
(一) 測定方法：本實驗參考 Trugo 及 Macrae (1984) 之方法並修改。

1. 取咖啡萃取樣品，以 1 mL 針頭吸取樣品，經 Syringe Driven Filters (13 nm, 0.22 μm.

ADVANGENETM) 中過濾後，稀釋至需要濃度於 1.5 mL 離心管中保存備用，標準品同樣進行過濾。

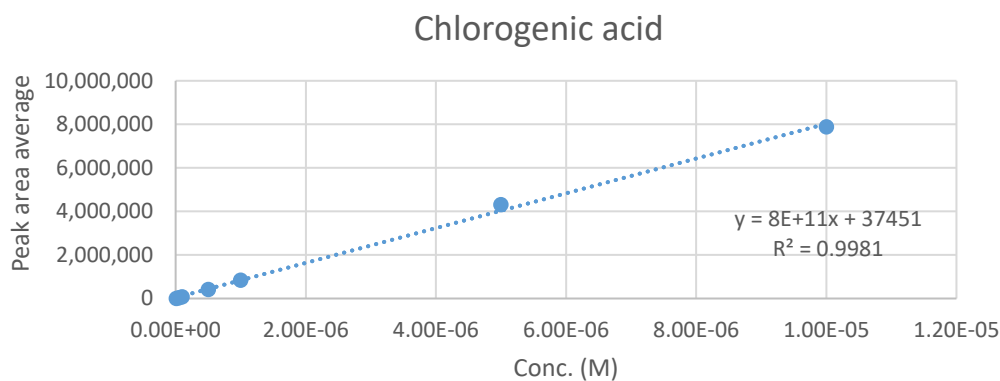
2. 建置檢量線：

(1) 咖啡因：以 10、5、1、0.5、0.1、0.05 μM 濃度製作出檢量線。



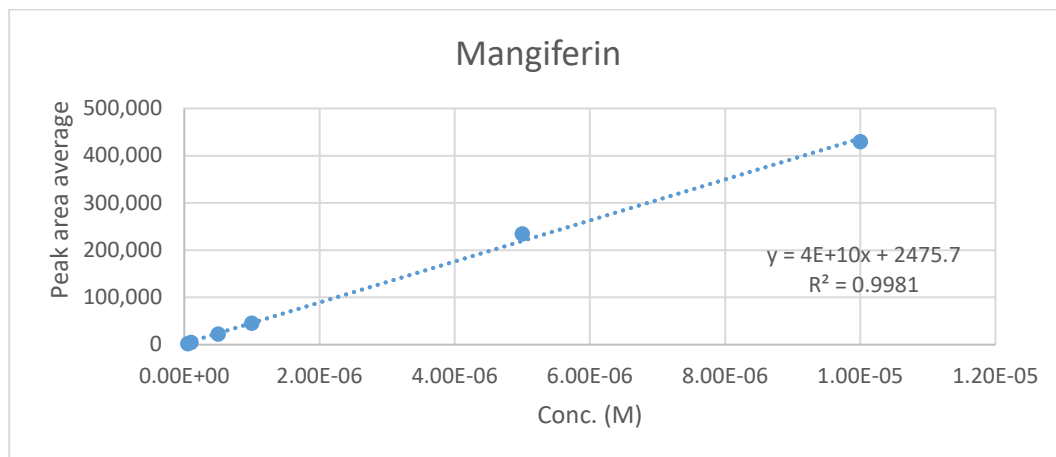
圖十三、咖啡因檢量線

(2) 綠原酸：以 10、5、1、0.5、0.1、0.05、0.01 μM 濃度製作出檢量線。



圖十四、綠原酸檢量線

(3) 芒果苷：以 10、5、1、0.5、0.1、0.05 μM 濃度製作出檢量線。



圖十五、芒果苷檢量線

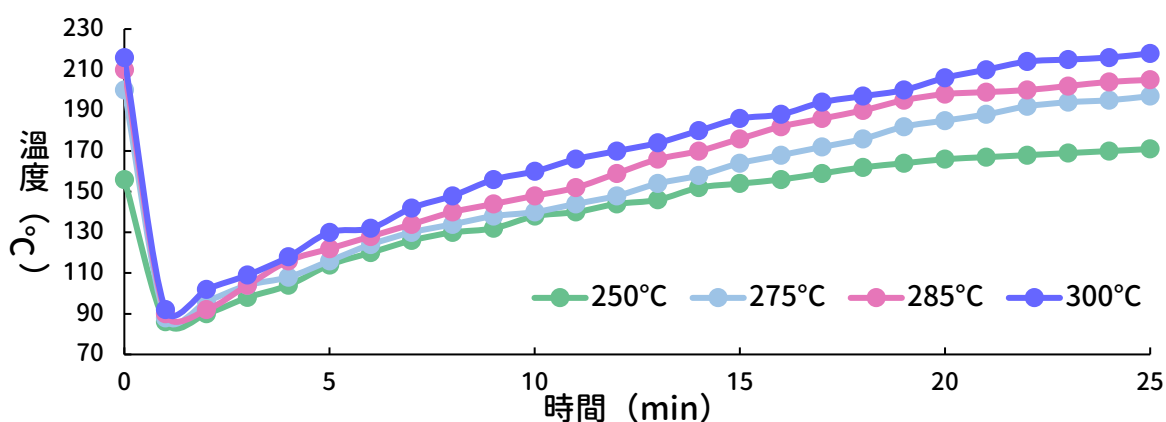
3. 高效能液相層析儀 (HPLC) : SHIMADZU LCMS-8040 Column : Agela Technologies, C18, 2.1x100 mm, 1.9 μm 。
4. 高效能液相層析儀 (HPLC) 條件設定 :
 - (1) Buffer A : DDW+0.1% FA。
 - (2) Buffer B : ACN+0.1%FA。
 - (3) 梯度條件 : 0-3 min 10% MPB ; 3-8min 10%-30% MPB ; 10-12 min 30%-10% MPB ; 12-13 min 10% MPB。
 - (4) 流速 : 0.3 mL/min
 - (5) 注射量 : 2 μL

肆、研究結果

一、前置實驗一：烘豆機溫度設定測試

(一) 探討烘豆機之最佳烘豆溫度測

為了探討不同烘焙程度咖啡豆對胰脂酶活性的影響，在正式實驗之前，我們先對自製咖啡豆烘豆機設定不同溫度時對烘咖啡豆結果的影響，尤其是過程中是否能出現爆音及其對應之時間。實驗結果如下：



圖十六、自製烘豆機設定不同溫度烘豆過程中豆溫變化

表二、自製烘豆機設定不同溫度烘豆過程中出現爆音及其對應之時間

儀器設定溫度 ($^{\circ}\text{C}$)	內鍋溫 ($^{\circ}\text{C}$)	第一爆		第二爆	
		時間 (分)	溫度 ($^{\circ}\text{C}$)	時間 (分)	溫度 ($^{\circ}\text{C}$)
250	156	-	-	-	-
275	200	21	188	-	-
285	210	18	190	22	200
300	216	16	188	19	200

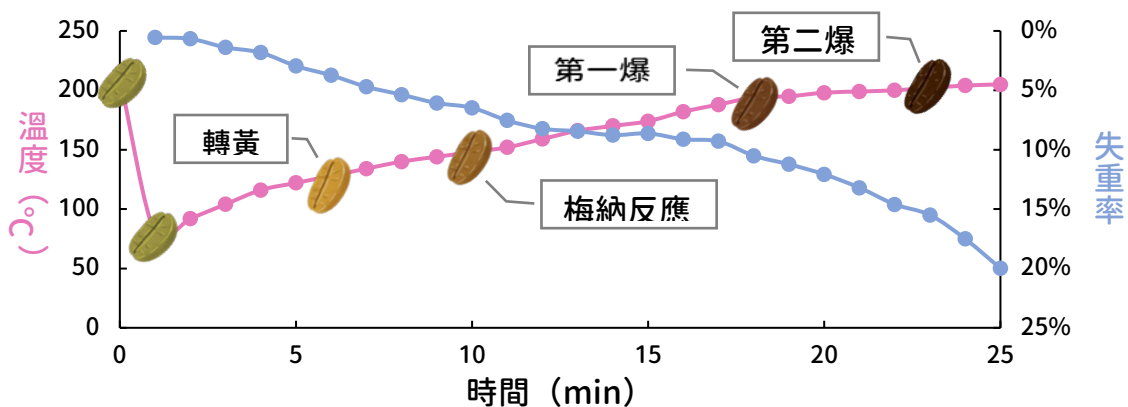
☆ 小結：

透過圖十六和表二，我們得知自製烘豆機設定 285 °C 能烘出最適合後續實驗所需要的咖啡豆。

(二) 實驗豆之烘豆過程

取得烘豆機最適設定溫度後，我們接著探討烘焙時間對咖啡豆失重率的影響及不同烘焙程度所需要的烘焙時間。

$$\text{失重率} = \frac{(\text{烘焙前重量} - \text{烘焙後重量})}{\text{烘焙前重量}} \times 100\%$$



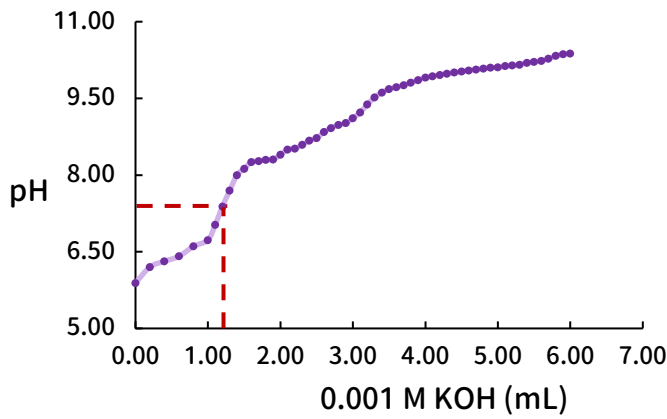
圖十七、自製烘豆機設定 285 °C 烘豆過程中，豆溫及失重率隨時間變化之情況

小結：

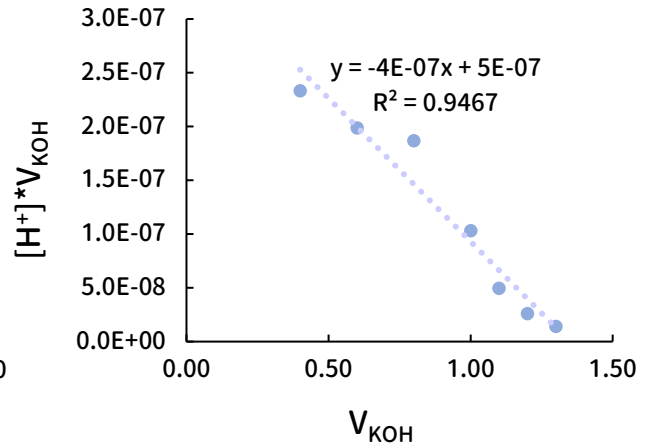
1. 由圖十七我們發現豆子約在 6~7 分鐘時轉黃，符合坊間所定義之脫水綠咖啡；根據烘豆時的香氣轉換（似爆米花香），判定在第 10 分鐘起發生梅納反應；約 18 分鐘時記錄到第一爆，結合豆色判定此時烘焙程度為淺焙；約 24 分鐘時記錄到為第二爆，結合豆色判定此時烘焙程度為深焙。
2. 豆子失重率隨烘焙時間上升，在約 23~24 分鐘時急遽上升 3%。

二、前置實驗二：胰脂酶分解三酸甘油酯之滴定曲線

因咖啡萃取液非透明無色，不適合使用指示劑變色法判定是否到達滴定終點。為了找出滴定脂肪酸當量點的 pH 值，我們在反應樣本中滴入 0.001 M 氫氧化鉀後，便記錄其 pH 值，並繪製出反應六十分鐘之滴定曲線，結果如圖十八。



圖十八、反應 60 分鐘之滴定曲線



圖十九、氫離子濃度與滴定氫氧化鉀之乘積與氫離子濃度之關係圖

將滴定結果對 $V_{KOH} \times [H^+]$ 對 V_{KOH} 進行迴歸分析，由圖十九可推導出下式：

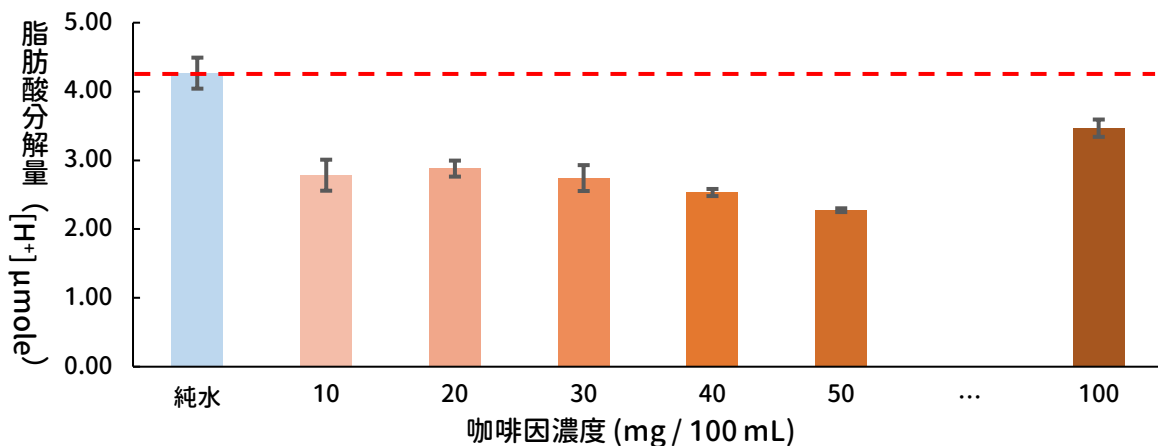
$$V_{KOH} \times [H^+] = -K_a V_{KOH} + K_a V_{eq} = -4 \times 10^{-7} V_{KOH} + 5.2 \times 10^{-7}$$

即可得 $K_a_{\text{橄欖油}} = 4 \times 10^{-7} = 0.0000004$ ，當量點 $V_{eq} = 1.3\text{mL}$ ，pH 值為 7.70，在後續實驗中，皆使用此數據作為 **滴定終點** 的判定標準。

三、實驗一：探討純咖啡因濃度對胰脂酶活性之影響。

為瞭解咖啡因濃度對於胰脂酶活性的影響，我們分別調製 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、100 mg / 100 mL 不同咖啡因濃度的環境條件，透過強鹼-弱酸滴定法測量並計算分解三酸甘油酯所產生的氫離子莫耳數，結果如圖二十~二十二。

(一) 咖啡因濃度 10、20、30、40、50、100 mg / 100 mL 對胰脂酶活性之影響



圖二十、胰脂酶於咖啡因濃度 10、20、30、40、50、100 mg / 100 mL 下之三酸甘油酯分解量

☆ 小結：

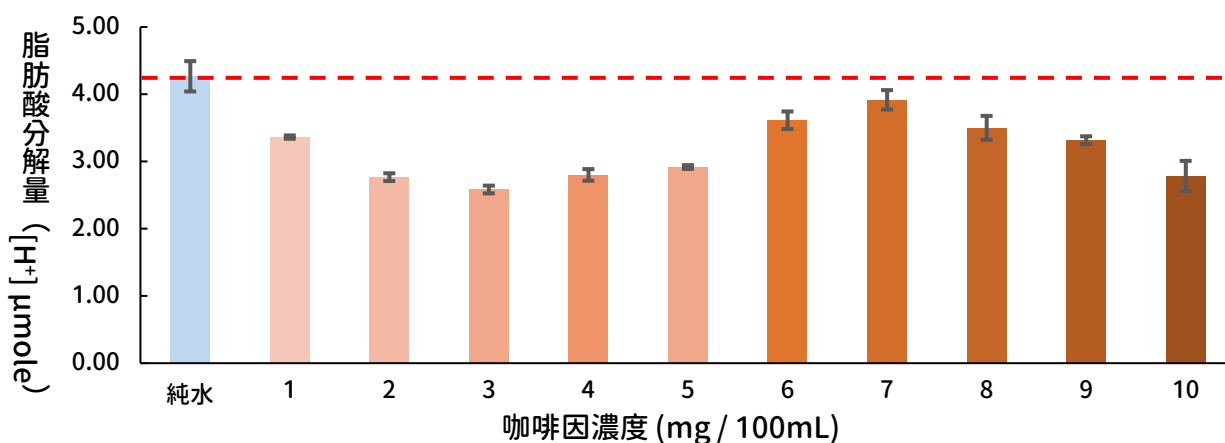
1. 咖啡因濃度 10~50 mg / 100 mL 的環境中：胰脂酶分解三酸甘油酯所產生的 $[H^+]$

μmole 明顯少於未含咖啡因的環境 ($p < 0.001$)，推測在此濃度範圍中，咖啡因對胰脂酶具抑制效果，其中以咖啡因濃度 $50 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 時，對胰脂肪酶活性抑制效果最佳。

2. 咖啡因濃度 $10 \sim 50 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 的環境中：咖啡因濃度對三酸甘油酯分解量並無一定關係，但隨著濃度增有下降趨勢。

(二) 咖啡因濃度 $1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 對胰脂酶活性之影響

根據圖二十的結果，咖啡因濃度越高對胰脂酶的抑制效果並非越好，且濃度在 $10 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 時，對胰脂肪酶的活性抑制效果不錯，因此我們想進一步瞭解，咖啡因在微量的環境中是否具有抑制效果，所以進行咖啡因 $0 \sim 10 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 的實驗。根據圖二十一可知，在咖啡因 $3 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 時具有良好的抑制效果。



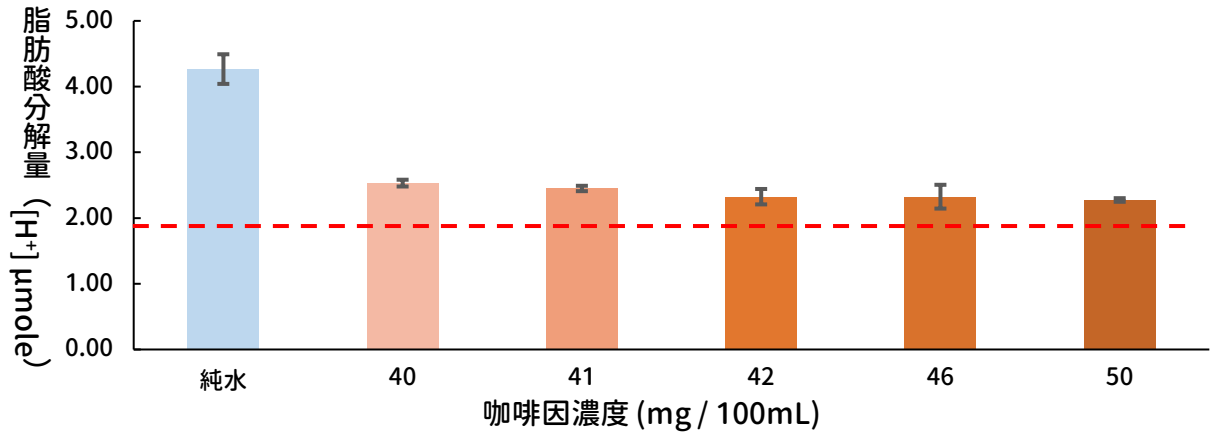
圖二十一、胰脂酶於咖啡因濃度 $1 \sim 10 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 下之三酸甘油酯分解量

☆ 小結：

1. 根據圖二十一的结果，可以看出咖啡因在微量濃度中 ($1 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$) 就具抑制胰脂酶效果，但效果不及 $10 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 的濃度表現。
2. 咖啡因濃度 $3 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 時，對胰脂酶抑制效果最佳。

(三) 咖啡因濃度 $40、41、42、46、50 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 對胰脂酶活性之影響

因圖二十結果顯示，胰脂酶在咖啡因濃度 $50 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 較 $40 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ 有最佳的抑制效果，因此我們想進一步探討是否在這兩者濃度區間內有更佳抑制胰脂酶之咖啡因濃度。



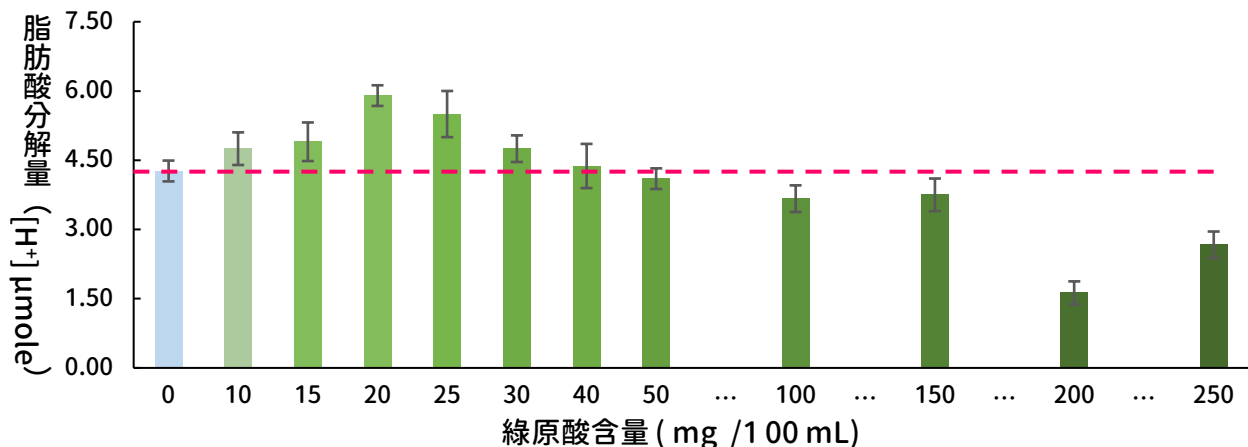
圖二十二、胰脂酶於咖啡因濃度 40、41、42、46、50 mg / 100 mL 下之三酸甘油脂分解量

☆ 小結：

1. 由圖二十二可知，胰脂酶活性於咖啡因濃度 40、41、42、46、50 mg / 100 mL 下並無顯著差異。
2. 整體而言，此咖啡因濃度區間內皆對胰脂酶具有抑制效果。

四、實驗二：探討純綠原酸濃度對胰脂酶活性之影響。

為瞭解綠原酸濃度對於胰脂酶活性之影響，我們分別調製 10、15、20、25、30、40、50、100、150、200、250 mg / 100 mL 不同綠原酸濃度的環境條件，透過強鹼-弱酸滴定法測量並計算胰脂酶分解三酸甘油脂所產生的氫離子莫耳數，結果如圖二十三。



圖二十三、胰脂酶於一系列綠原酸濃度下之三酸甘油脂分解量

圖二十三的結果顯示，胰脂酶在 10、20、30、40 mg / 100 mL 的綠原酸濃度環境中，胰脂酶分解三酸甘油脂所產生的氫離子莫爾數顯著高於對照組 ($p < 0.001$)，表示該濃度之綠原酸對胰脂酶有促進效果，然而即便是綠原酸濃度 50 mg / 100 mL 的環境，對比對照組也不達顯著水準 ($p = 0.348$)；胰脂酶在 50、100、150、200、250 mg / 100 mL 的綠原酸濃度環境中，不含綠原酸的對照組其平均三酸甘油脂分解量所產生氫離子莫耳數高於其他五個濃度，然而在 50 mg / 100 mL 的濃度環境中，仍不達顯著水準 ($p = 0.348$)，表示綠原酸濃度超過

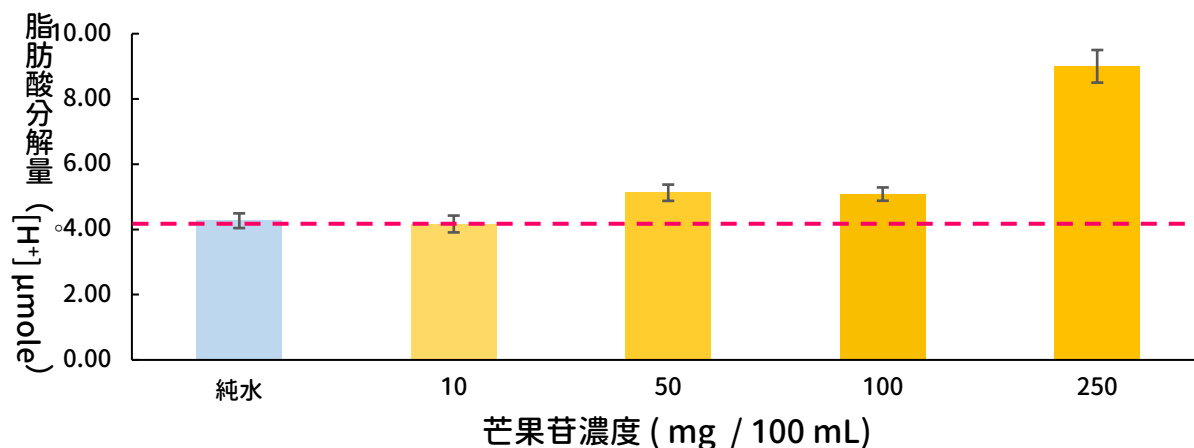
50 mg / 100 mL 可能才有抑制胰脂酶分解三酸甘油脂的效果；胰脂酶在綠原酸濃度 250 mg / 100 mL 環境中，三酸甘油脂的分解量顯著高於 200 mg / 100 mL ($p < 0.001$) 的濃度環境，表示並非綠原酸濃度越高抑制胰脂酶分解三酸甘油脂的效果就越佳。

☆ 小結：

1. 低濃度的綠原酸 (< 40 mg / 100 mL) 沒有抑制胰脂酶分解三酸甘油脂的效果。
2. 在 10~50 mg / 100 mL 的綠原酸濃度下，綠原酸濃度對三酸甘油脂分解量並無一定關係。
3. 胰脂酶在綠原酸濃度 200 mg / 100 mL 環境中抑制效果最佳。
4. 綠原酸濃度越高不代表對胰脂酶活性越抑制。

五、實驗三：探討純芒果苷濃度對胰脂酶活性之影響。

為瞭解芒果苷濃度對於胰脂酶活性之影響，我們分別調製 10、50、100、250 mg / 100 mL 等不同芒果苷濃度的環境條件，透過強鹼-弱酸滴定法測量並計算胰脂酶分解三酸甘油脂所產生的氫離子莫耳數。圖二十四結果顯示，除了 10 mg / 100 mL 的濃度環境以外，其餘濃度的三酸甘油脂分解時所產生的平均氫離子莫爾數皆高於不含芒果苷的對照組，然即便是芒果苷濃度 10 mg / 100 mL 對比對照組也不達顯著水準 ($p = 0.248$)，表示實驗濃度的芒果苷沒有抑制胰脂酶分解三酸甘油脂的效果。



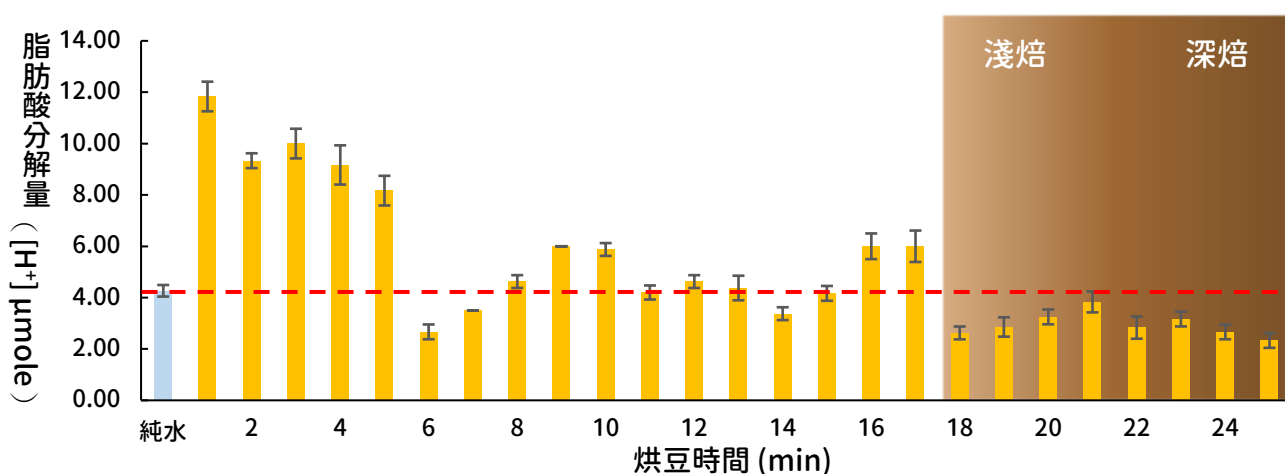
圖二十四、芒果苷濃度 10、50、100、250 mg / 100 mL 下之三酸甘油脂分解量

☆ 小結：在 10~250 mg / 100 mL 的芒果苷濃度下，胰脂酶活性有促進效果。

六、實驗四：咖啡豆烘焙時間對胰脂酶活性之影響探討不同烘焙程度之咖啡豆萃取液對胰脂酶活性的影響

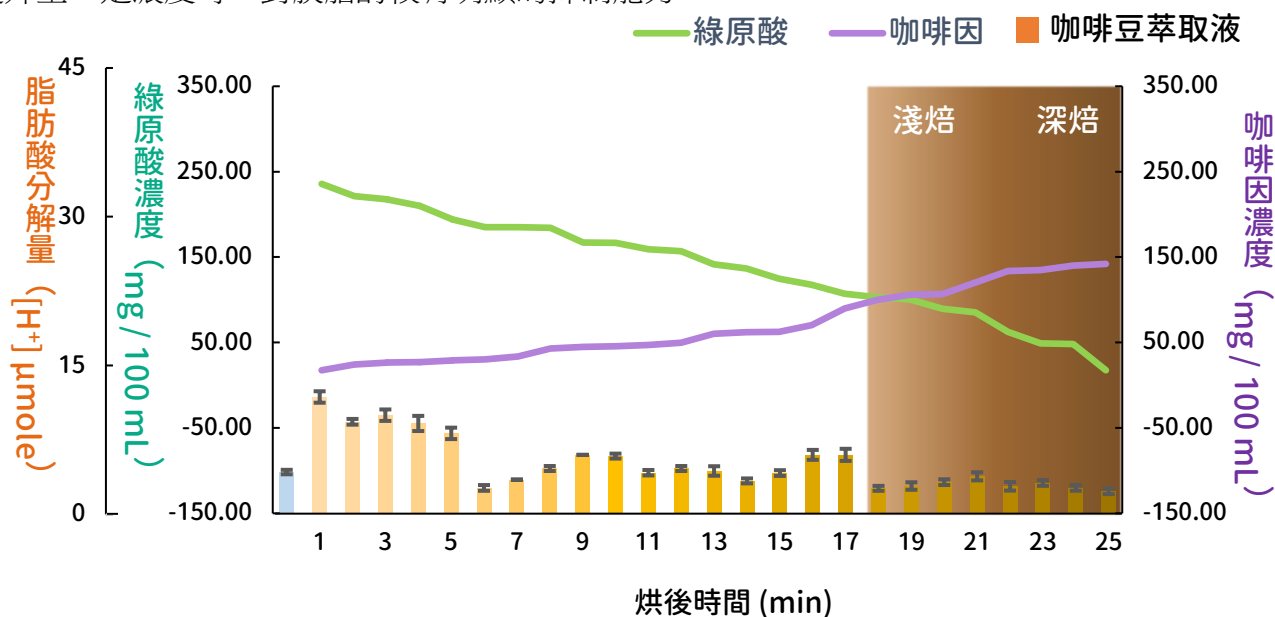
由文獻知道，咖啡豆烘焙時間會對綠原酸及咖啡因濃度造成影響，為進一步求證其是否亦會影響胰脂酶活性，因此我們設計了一系列不同烘焙時間的咖啡豆萃取液分別為 1、2、3、4...25 分鐘，再透過強鹼-弱酸滴定法測量並計算胰脂酶分解三酸甘油脂所產生的氫離子莫耳

數，結果如圖二十五。



由圖二十五可以看出：在烘焙時間 6 分鐘之前，三酸甘油酯分解量皆高於純水的對照組，表示這時並無抑制胰脂酶分解三酸甘油酯的效果。在烘焙時間 6~17 分鐘之間，只有 6、7、14 分鐘的咖啡豆能夠產生抑制胰脂酶分解三酸甘油酯的效果；但到烘焙時間 18~25 分鐘以後，三酸甘油酯分解量皆低於純水對照組，表示這些烘焙時間的咖啡豆皆具有抑制胰脂酶分解三酸甘油酯的效果。在 1~25 分鐘烘焙時間的咖啡豆萃取液下，僅能看出其脂肪分解量大致呈現下降趨勢。

圖二十六結果顯示，胰脂酶活性與咖啡豆萃取液中咖啡因、綠原酸含量有相關，且隨著綠原酸濃度下降，咖啡因濃度上升，脂肪酸分解量呈下降趨勢，其相關性係數分別為-0.66、0.80。胰脂酶在高含量綠原酸及低含量咖啡因的環境中活性較不受抑制；反而當咖啡因濃度提升至一定濃度時，對胰脂酶較有明顯的抑制能力。



圖二十六、不同烘焙時間下，綠原酸和咖啡因的濃度變化圖

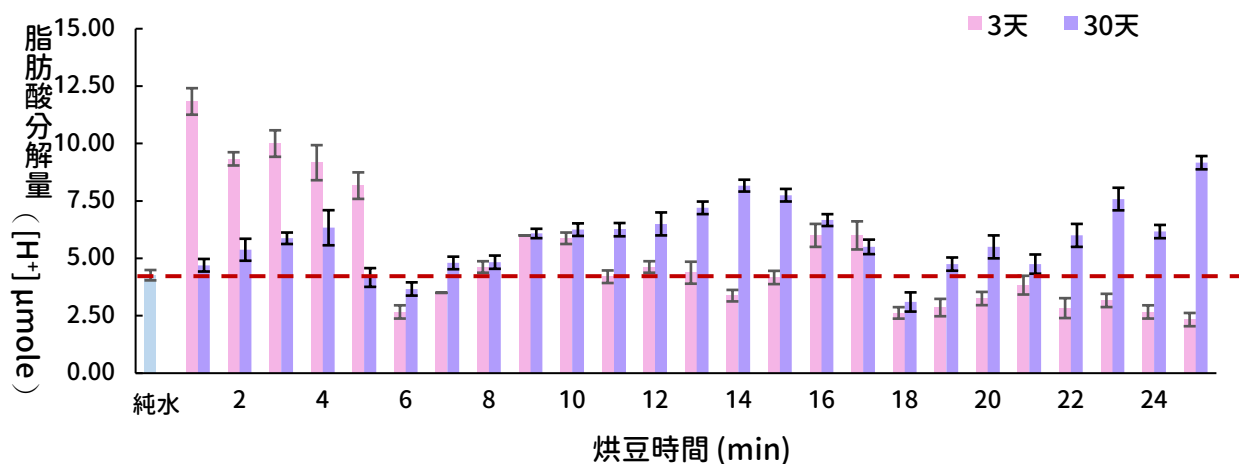
☆ 小結：

1. 胰脂酶活性與咖啡豆萃取液中咖啡因、綠原酸含量有相關。
2. 咖啡因濃度提升至一定濃度時，對胰脂酶較有明顯的抑制能力。
3. 在綠咖啡中抑制胰脂酶效果最佳的為烘焙 6 分鐘之咖啡豆，在淺焙中抑制胰脂酶效果最佳的為烘焙 18 分鐘之咖啡豆，在深焙中抑制胰脂酶效果最佳的為烘焙 25 分鐘之咖啡豆。

七、實驗五：探討不同保存時間之咖啡豆萃取液對胰脂酶活性的影響

透過實驗四之結果得知，咖啡豆具有抑制胰脂酶活性的效果，因此我們想要進一步探討放置時間是否會對胰脂酶活性產生影響，本實驗將咖啡豆分別放置 3 天及 30 天後進行比較，再透過強鹼-弱酸滴定法測量並計算胰脂酶分解三酸甘油酯所產生的氫離子莫耳數，結果如圖二十七。

根據圖二十七的結果，我們可以觀察到烘焙時間在 5 分鐘以前，不論咖啡豆是放置 3 天還是 30 天，都沒有明顯抑制胰脂酶的效果。然而，從 6 分鐘開始，放置 30 天的咖啡豆，其抑制胰脂酶的效果明顯不如放置 3 天的咖啡豆。



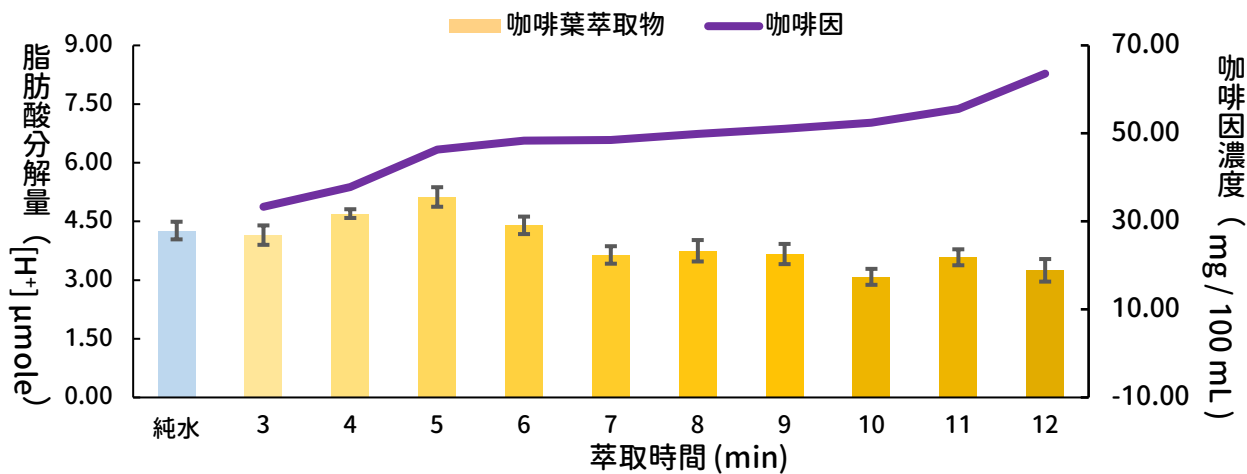
圖二十七、不同咖啡豆放置時間之脂肪酸分解量

☆ 小結：

1. 咖啡豆需要在烘焙後的短時間內飲用才能發揮抑制胰脂酶活性的效果。
2. 放置 30 天的咖啡豆，烘焙時間在 18 分鐘之抑制胰脂酶活性效果最佳。

八、實驗六：探討不同浸泡時間之咖啡葉萃取液對胰脂酶活性之影響

咖啡葉萃取液是近期食藥署才核准上市的新興茶品，且咖啡葉較咖啡豆含有較多的綠原酸及較少的咖啡因，因此我們設計了分別為沖泡 3、4...12 分鐘之咖啡葉萃取液，每份樣本為 30 g 水以 95 °C 沖泡 2 g 咖啡葉。在不同沖泡時間下，透過強鹼-弱酸滴定法測量並計算胰脂酶分解三酸甘油酯所產生的氫離子莫耳數。



圖二十八、不同充泡時間之咖啡葉萃取液，其咖啡因含量及脂肪酸分解量比較

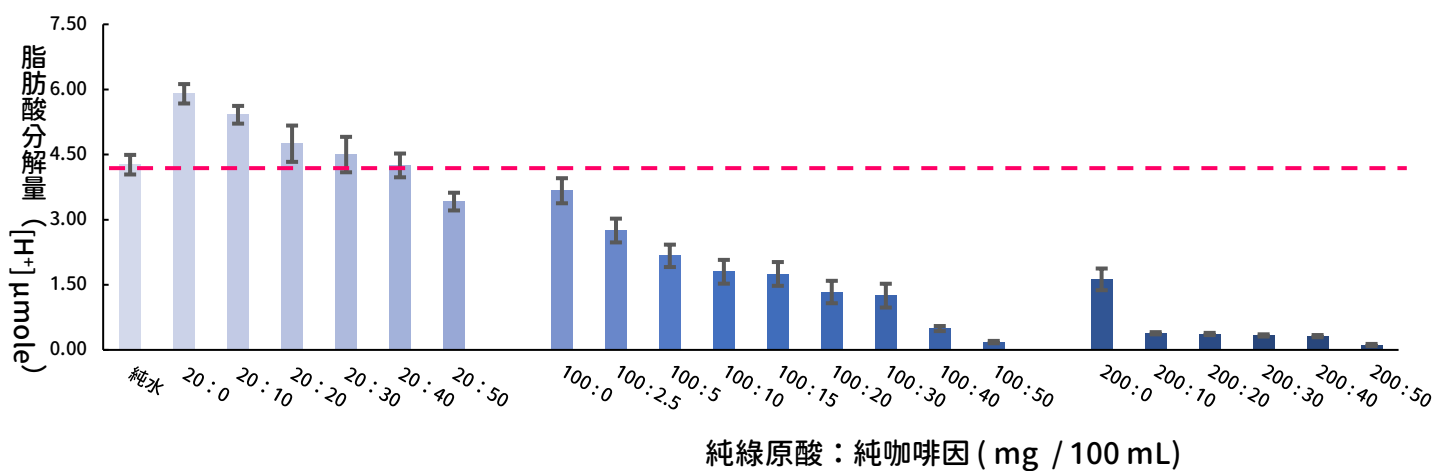
由圖二十八可發現，咖啡葉沖泡 3、4、5 分鐘所得萃取液中，除了 3 分鐘以外，其餘對脂肪分解量均大於純水之脂肪分解量，故可推論咖啡葉萃取液對胰脂酶活性抑制效果不明顯。隨著沖泡時間變長，咖啡因濃度上升，且脂肪酸分解量在 5 分鐘後大致呈下降趨勢，且沖泡 10 分鐘之咖啡葉萃取對胰脂酶抑制效果最好。

☆ 小結：

1. 經微生物發酵處理之咖啡葉萃取液對胰脂酶活性抑制效果不佳。
2. 可藉由拉長沖泡時間，使咖啡因濃度上升來改善胰脂酶抑制效果。

九、實驗七：探討不同比例之純咖啡因與純綠原酸濃度對胰脂酶活性之影響

由實驗五可看出隨烘焙程度上升，咖啡因濃度上升，綠原酸濃度下降，且脂肪酸分解量有下降之趨勢，我們猜測綠原酸與咖啡因之比例改變，其交互作用會影響對胰脂酶的抑制效果，使我們想探討不同的咖啡因與綠原酸比例對胰脂酶活性之影響。



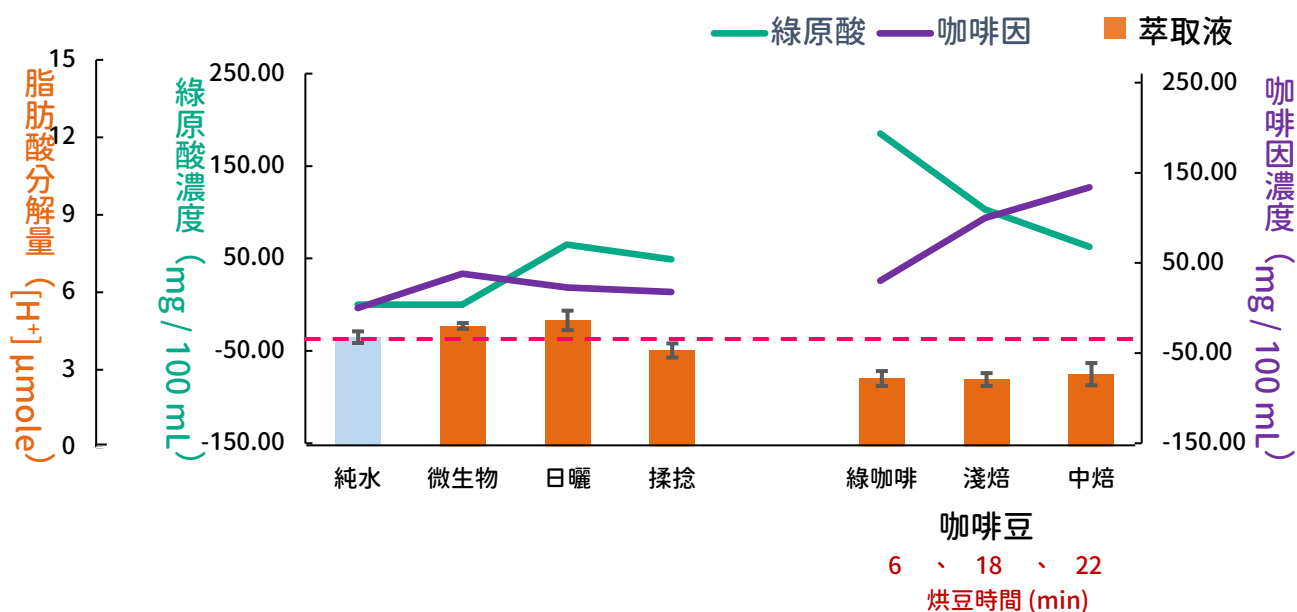
圖二十九、一系列純綠原酸濃度與純咖啡因濃度比例組合之三酸甘油脂分解量

☆ 小結：純綠原酸濃度、純咖啡因濃度皆高時，對胰脂酶的抑制效果最好，且兩者具有加乘作用。

十、實驗八：探討不同製葉方式之咖啡葉萃取液對胰脂酶活性之影響

由實驗七得知，咖啡葉萃取液對胰脂酶活性抑制效果不明顯，不符合我們對咖啡葉具有抑制胰脂肪酶活性的假設，因此我們嘗試對咖啡葉使用不同處理方式，繼續探討咖啡葉萃取液對胰脂酶活性之抑制效果的可能。

由圖三十可發現，咖啡葉以揉捻方式所得萃取液，對脂肪分解量小於純水之脂肪分解量，故可推論以揉捻方式處理咖啡葉可以提升其萃取液抑制胰脂酶活性之效果；經微生物發酵處理之咖啡葉，其咖啡濃度 38.16 mg/ 100 mL 應有抑制作用，然其綠原酸濃度低於 HPLC 可偵測值，且又可能受芒果苷 4.85 mg/ 100 mL 所產生的促進作用，在三者的交互作用下，使其對於胰脂肪酶活性抑制效果不明顯。



圖三十、不同萃取方式之咖啡葉萃取液，其綠原酸、咖啡因含量及脂肪酸分解量比較

☆ 小結：

1. 揉捻方式處理咖啡葉可有效增加萃取物對胰脂酶之抑制效果。
2. 胰脂酶活性在咖啡葉中會同時受咖啡因、綠原酸及芒果苷三者影響。

伍、討論

一、純咖啡因濃度對胰脂酶活性之影響

在進行咖啡因濃度對胰脂酶活性之影響的實驗時，由於一杯超商販售的中杯（12 oz 約 360 cc）美式咖啡大約含有 200 mg 的咖啡因，因此我們首先做咖啡因濃度 10、20、30、40、50、100 mg / 100 mL 的實驗，發現三酸甘油酯分解量最少（最具抑制效果）的組別落在 50 mg / 100 mL 的咖啡因濃度，且咖啡因普遍皆具有抑制效果。我們進一步實驗，發現咖啡因含量在 40 至 50 mg / 100 mL 皆具有抑制效果。由於我們想找出是否咖啡因在微量的環境中即具有抑制效果，故進一步實驗 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 mg / 100 mL 的咖啡因濃度，發現咖啡因僅微量就具有抑制胰脂酶分解三酸甘油酯的效果。其中以咖啡因濃度以 3 mg / 100 mL 時抑制效果最佳，故我們認為咖啡因有抑制胰脂酶的效果，且微量濃度即具有具有抑制效果，因此若想實踐於日常生活飲食，建議單日咖啡淺嘗即可。

二、純綠原酸濃度對胰脂酶活性之影響

由於綠原酸每日攝取量上限為 400 mg，由 500 mL 的咖啡攝取 100~300 mg 的綠原酸，可知每 100 mL 水中須含有 20~60 mg 的綠原酸，故先實驗 10~50 mg / 100 mL 的綠原酸濃度，發現除了 50 mg / 100 mL 以外，其餘皆促進胰脂酶分解三酸甘油酯的效果，且整體而言，隨濃度增加，三酸甘油酯分解量有下降趨勢。為找出三酸甘油酯分解量的最低點，因此我們進一步實驗 50、100、150、200、250 mg / 100 mL 的綠原酸濃度，發現濃度達 200 mg / 100 mL 時，三酸甘油酯分解量顯著低於其它濃度，且 30~200 mg / 100 mL 間三酸甘油酯分解量隨綠原酸濃度增加而呈現下降狀態，但到 250 mg / 100 mL 卻又上升，因此就現階段實驗發現最能抑制胰脂酶分解三酸甘油酯的綠原酸濃度為 200 mg / 100 mL，但未來仍值得再進一步實驗驗證 150~250 mg / 100 mL 的綠原酸濃度對胰脂酶是否產生更好的抑制效果。另外本研究亦發現若綠原酸濃度太低，不但無法抑制胰脂酶，反而會促進其分解效果，雖然無法應用於減脂瘦身，但仍可幫助消化。

三、咖啡豆烘焙時間對胰脂酶活性之影響

在進行咖啡豆烘焙時間對胰脂酶活性之影響的實驗時，藉由訪問合作的小農及具有烘豆經驗者，我們得知烘焙 6~7 分鐘為綠咖啡（脫水）、18~19 分鐘為淺焙、21~22 分鐘為中焙、24~25 分鐘為深焙。

其綠原酸和咖啡因隨烘焙時間的濃度變化如圖二十六，根據其結果我們可以發現，綠原酸濃度隨烘焙程度上升而降低，推測是因為綠原酸的抗熱性低；而咖啡因濃度則隨烘焙程度上升而提高，推測是因為烘焙過程時咖啡豆水分會散失，因此在等重的咖啡豆中，烘焙時間愈長者其咖啡因濃度也較多。在烘焙時間 1~20 分鐘時，對等濃度綠原酸應對胰脂酶略有抑

制效果，然僅在第 6、7 分鐘時觀察到胰脂酶被抑制，也就是剛好在綠咖啡的階段。在烘焙時間 1~5 分鐘中，其三酸甘油酯分解量明顯高於對等濃度綠原酸環境下的分解量，推測是其中有其它物質能促進胰脂酶分解三酸甘油酯或能抑制綠原酸對胰脂酶抑制效果，但到 6 分鐘後隨烘焙程度上升而消失；在烘 11~20 分鐘的咖啡豆萃取液環境下，烘 14、18、19、20 分鐘的咖啡豆萃取液有明顯抑制胰脂酶分解三酸甘油酯的效果，烘 18、19 分鐘恰好是淺焙咖啡，雖然它們都具抑制效果，但仍高於等濃度咖啡因的分解量，推測咖啡中含有其他能夠影響胰脂酶活性的因子；烘 21~25 分鐘，咖啡豆為中焙及深焙，皆可以抑制胰脂酶分解三酸甘油酯的效果，但也仍高於等濃度咖啡因的分解量。

綜觀上述，在烘焙時間 1~5 分鐘中，咖啡豆萃取液中可能有其它物質能促進胰脂酶分解三酸甘油酯，或能抑制咖啡因或綠原酸對胰脂酶抑制效果，然其應不耐熱，故在 6 分鐘後隨烘焙程度上升而消失；淺、中、深焙咖啡豆萃取液普遍對胰脂酶均有抑制效果，然精品咖啡於市場上少有販賣深焙豆，因其風味不佳，且其他營養價值不高，故整體而言較推薦極淺焙咖啡豆萃取液，也就是烘 18 分鐘，約在第一聲爆音即立刻關火取豆。

另外，我們在一款名叫 Sevtol 綠咖啡萃取的生技食品報告裡發現（Dr. Joe Vinson, 2012），該產品裡有檢測到 12 種綠原酸，其中 3-咖啡醯奎尼酸、4-咖啡醯奎尼酸、5-咖啡醯奎尼酸占萃取物的含量較高，且無論單獨反應或 3 種混合反應皆不能對脂肪酶活性達到抑制效果，但綠咖啡豆萃取物確實能達到抑制脂肪酶之效果，故我們猜測可能是綠原酸對脂肪酶的抑制作用，不單侷限在濃度，或許跟綠原酸的種類有關，亦或是咖啡葉萃取液中有其他物質可能會抑制綠原酸對胰脂酶抑制效果，反之綠咖啡中有其他物質會促進胰脂酶活性。

四、咖啡葉萃取方式對胰脂酶活性之影響

在前測試作實驗中，我們進行手撕咖啡葉萃取液對胰脂酶活性影響之實驗，結果顯示其無法有效抑制胰脂酶的分解活性。這使我們重新思考最初的假設，即「咖啡葉茶能夠抑制胰脂酶的活性」。我們懷疑手撕的咖啡葉由於接觸面積過大，無法有效地萃取出咖啡因和綠原酸等成分來抑制胰脂肪酶。參考了相關文獻後（茶三元，2022），我們了解到市售的茶葉通常會使用揉捻的方式處理，以增加茶葉的萃取效率。因此，在實驗八中，我們嘗試了不同的萃取方法，包括微生物發酵、日曬和揉捻等處理方式。根據實驗結果，經過揉捻處理的咖啡葉具有最有效的抑制胰脂酶活性效果。因此，我們得出結論，揉捻是一種較適合降脂訴求咖啡葉的製葉方式，能夠更有效地萃取出咖啡葉中的咖啡因及綠原酸等活性成分，進而抑制胰脂酶的活性。

陸、結論

- 一、本實驗自製烘豆機，機器設定溫度以 285°C 為最適合的烘焙溫度。
- 二、我們所自製改良咖啡烘豆機，能準確控制咖啡豆烘焙溫度、烘焙時間及自動翻炒功能，有助於我們進一步探討不同烘焙程度咖啡因、綠原酸含量及其對於脂肪酸的分解效果。
- 三、純咖啡因中，所有濃度的咖啡因均能抑制胰脂肪酶的活性，減少脂肪酸的分解量。而濃度為 3 mg/100mL 時對胰脂肪酶抑制效果最佳。
- 四、純綠原酸中，低濃度對於抑制胰脂肪酶分解三酸甘油酯效果不佳，需達 50 mg/100mL 之濃度才稍具效果，而 200 mg/ 100mL 其效果最為顯著。
- 五、咖啡豆經不同時間烘焙後，於 6 分鐘（綠咖啡）或 18~25 分鐘（淺焙~深焙）時，抑制胰脂肪酶分解三酸甘油酯效果最佳。但若講究風味及兼具減脂效果，以 18 分鐘淺焙為最佳選擇。
- 六、咖啡豆烘焙過中，隨著烘焙時間增加，綠原酸濃度減少，而咖啡因濃度卻增加，並能明顯抑制胰脂肪酶分解三酸甘油酯。
- 七、咖啡葉可以用微生物發酵、日曬及揉捻等方式處理。其中，以揉捻方式所得萃取液，對脂肪分解量小於純水之脂肪分解量，實驗結果顯示揉捻製作咖啡葉最適合降脂訴。
- 八、咖啡豆存放 30 天以上會失去抑制胰脂肪酶之效果，所以應新鮮食用。

柒、參考文獻資料

- Abebe Belay and A. V. Gholap (2009) Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 3 (11): 234-240.
- Amos-Tautua, W. Bamidele Martin and E.R.E. Diepreye (2014) Ultra-violet Spectrophotometric Determination of Caffeine in Soft and Energy Drinks Available in Yenagoa, Nigeria. *Advance Journal of Food Science and Technology* 6(2): 155-158.
- Dr Joe Vinson (2012) Svetol 纖美法國專利綠咖啡豆 纖體/美型/養顏美容。NATUREX。2023年3月，取自：<http://goldenmate.ca/wp-content/uploads/SVETOL.pdf>
- Na L, Zhang Q, Jiang S, et al. (2015) Mangiferin supplementation improves serum lipid profiles in overweight patients with hyperlipidemia:a double-blind randomized controlled trial[J]. *Sci Rep-UK*, 5:10344.
- Nicolas Joly, Kaies Souidi, David Depraetere , Daniel Wils and Patrick Martin (2021) Potato By-Products as a Source of Natural Chlorogenic Acids and Phenolic Compounds: Extraction, Characterization, and Antioxidant Capacity. *Molecules*, 26 (177).
- Zahid Shar (2017) Spectrophotometric Determination of Caffeine in Selected Pakistani Beverages. *J Food Processing & Beverages*, 5 (1): 4.
- ZHU Yanping, YANG Licong, LIN Lezhen, GAN Shuxiang, ZHENG Guodong. (2017) Effect of Caffeine and Chlorogenic Acid on Body Weight, Lipid Accumulation and the Expression of Lipid Metabolism-Related Genes in High-Fat Diet-Fed Mice. *Food Science*, 38(9): 162-167.
- 天一愛編輯團隊 (2023) 綠原酸是什麼？綠原酸關鍵 5 大功效，幫助減重還能護肝。天一愛 TIANYIAI。2023年3月，取自：<https://blog.tianyiai.tw/menstrual/what-is-chlorogenic-acid/amp/>
- 王樂、賈宗平、趙文成、楊亞飛 (2019) 咖啡因檢測方法研究進展。雲南警官學院學報 132: 19-27。2022年5月取自：20190617103019697.pdf。
- 王麗淑 (2021) 東山咖啡花及風味咖啡包開發。嘉南藥理大學。2023年3月，取自：CN10910.pdf (cnu.edu.tw)
- 台美檢驗 (2017) 綠咖啡使用限制及標示。2023年3月，取自：https://www.superlab.com.tw/green_coffee/
- 巧御咖啡 (年份不詳) 咖啡烘焙與綠原酸。2022年12月，取自：<https://www.whatacoincidence.net/pages/%E5%92%96%E5%95%A1%E7%83%98%E7%84%99%E8%88%87%E7%B6%A0%E5%8E%9F%E9%85%B8>
- 永信藥品工業股份有限公司 (年份不詳) 優妙化腸溶微粒膠囊。2022年12月，取自：<https://www1.ndmctsg.hk.edu.tw/pharm/pic/medinsert/005PRO44.pdf>
- 石燕鳳 (年份不詳) 綠原酸的應用及分析。2022年12月，取自：<https://vtedu.mt.ntnu.edu.tw/uploads/1608797794483dAIG3pTO.pdf>
- 行政院農委會 (2020) 藥毒所建立咖啡葉安全評估技術 活絡產業鏈發展。2022年12月，取

自：<https://www.tactri.gov.tw/En/#gsc.tab=0>

行政院衛生署（2007）「含有咖啡因成分且有容器或包裝之飲料，應於個別產品外包裝標示咖啡因含量有關事項」。取自：lawtw.com

李美燕、陳郁樺、葉秭庭（2012）。有了咖啡因，生活大不同。2021年10月，取自 <https://www.shs.edu.tw/works/essay/2012/11/2012111312580797.pdf>

李婉萍（2022）咖啡葉萃取液是咖啡還是茶？相較兩者的抗氧化物含量豐富、咖啡因更少。2022年12月，取自：<https://www.foodnext.net/column/columnist/paper/5852662044>

李穎宏、陳正敏、林怡如（2015）咖啡業績能成分及加工應用。2022年12月，取自：https://www.kdais.gov.tw/redirect_files.php?id=60979&file_name=AKdofeMIuKXjbLXTSTU5wBeCzRvvXIWGS/ashbYa1FftUxr7qE2fT01x1PMZjuWGPlusMbw8Ltd

岡嶋研二（2015）日本生髮權威搶救掉髮危機：不吃藥、不做療程養成健康毛囊，世茂出版有限公司，臺北。

林逸昕（2019）「油」夠誤會~看懂橄欖油迷思了嗎？長庚醫訊 40 卷 8 期。2022 年 12 月，取自：https://www.cgmh.org.tw/cgm/cgm_file/1907013.pdf

林慧淳（2019）咖啡「這樣處理」最好能留住較多抗氧化物。康健雜誌。2022年12月，取自：<https://today.line.me/tw/v2/article/2PDE3O>

林靜芳（2018）咖啡對血管動脈的影響取決於咖啡中綠原酸（Chlorogenic acid）與羥基氫醌。食品資訊安全網。2023年3月，取自：<http://nehrc.nhri.org.tw/foodsafety/news.php?id=153>

林靜芳（2018）咖啡對血管動脈的影響取決於咖啡中綠原酸(Chlorogenic acid)與羥基氫醌(Hydroxyhydroquinone)的含量。2022年12月，取自：<http://nehrc.nhri.org.tw/foodsafety/news.php?id=153>

食品藥物管理署（2021）公告訂定「食品原料咖啡葉（*Coffea arabica*、*Coffea canephora*）之使用限制及標示規定」。衛生福利部。2023年3月，取自：<https://www.mohw.gov.tw/cp-5012-57459-1.html>

根基生技（年份不詳）綠原酸是什麼。2022年12月，取自：<https://www.hr-biotech.com.tw/autopage/1>

張金堅、邱月暇、蔡崇煌（2015）咖啡對健康的影響。臺灣醫學，58(11)，470-475。

陳邦基（2014）喝杯咖啡好嗎？2022年12月，取自：https://www.cgmh.org.tw/cgm/cgm_file/1312033.pdf

黃宇卉、洪訢慈、洪訢宸（2022）知否？「茶」應是綠肥紅瘦 — 探討不同環境條件下三種脂肪酶之活性 — 探討不同環境條件下三種脂肪酶之活性。中華民國第 62 屆中小學科學展覽會。

楊兆迪、楊華育（2015）等一杯想要的咖啡~咖啡發酵，健康美味加分。中華民國第 55 屆中小學科學展覽會。

楊俊宏、陳幸彰、張淑芬、劉千如、蔡建任（2017）咖啡葉調節代謝症候群保健飲品之產業

鏈研發。林下經濟 NO.52。2022 年 12 月，取自：

http://www.biotaiwan.org.tw/mag/image_doc/52/06%E5%92%96%E5%95%A1%E8%91%89%E8%AA%BF%E7%AF%80%E4%BB%A3%E8%AC%9D%E7%97%87%E5%80%99%E7%BE%A4%E4%BF%9D%E5%81%A5%E9%A3%B2%E5%93%81%E4%B9%8B%E7%94%A2%E6%A5%AD%E9%8F%88%E7%A0%94%E7%99%BC.pdf

劉佳珮、陳姿伶、李健明（2015）“啡”“寧”不可！— 咖啡產地、烘焙與沖泡的手法對咖啡因與單寧酸的影響。中華民國第 55 屆中小學科學展覽會。

樊蓁蓁、楊哲、黃采儀、傅安誼、蔡銘哲（2016）咖啡大戰，『原』力覺醒~探討咖啡中的綠原酸。中華民國第 56 屆中小學科學展覽會。

【評語】 032907

本作品作了妥善的相關科展作品探討，確認作品題材的新穎性，對於研究材料有清楚的敘述。基於假設抑制胰脂酶分解三酸甘油酯生成脂肪酸，減少脂肪酸於消化道中被吸收，就可以達減肥之成效，作品探討綠原酸、咖啡因、和芒果酸及其組合抑制胰脂酶的效應，也探討不同保存時間之咖啡豆不同浸泡咖啡葉萃取液的效應。作品中劑量與效應之間的實驗結果有起伏，下結論需謹慎（例如圖二十一），應檢驗數據的差異是否來自溶劑的效應，若要避免溶劑效應，應控制溶劑濃度在各實驗組中都一致。建議尚可考慮咖啡豆沖泡溫度、研磨刻度大小、不同產地氣候等對抑制胰脂酶分解三酸甘油酯的影響。

作品海報



降脂「原」「因」

咖啡豆或葉中綠原酸及咖啡因對脂肪分解之探究



摘要

本研究探討咖啡豆及葉的萃取液抑制胰脂酶分解三酸甘油脂，實驗操縱變因分別為綠原酸與咖啡因濃度、咖啡豆烘焙程度、咖啡葉萃取液浸泡時間及製葉方式。實驗中將胰脂酶水溶液分別置入一系列樣本中，並加入三酸甘油脂，探討胰脂酶於不同作用環境中之活性大小，並進一步探討不同變因在其中的影響程度。實驗結果顯示，咖啡因、綠原酸皆會抑制胰脂酶活性，其中以咖啡因的抑制效果較明顯，綠原酸的抑制效果只在較高濃度時才會展現。咖啡豆的烘焙時間以6分鐘綠咖啡及18~25分鐘淺中深焙，對胰脂酶活性抑制效果明顯，推測與咖啡因濃度有關。另外以微生物發酵製得的咖啡葉萃取液對胰脂酶有顯著促進效果，結果顯示是因葉中芒果苷所致，但以揉捻方式製得的咖啡葉能有效抑制胰脂酶分解。

壹、前言

喝咖啡是否可以降血脂？

咖啡中的什麼成分有這樣的功用？

三酸甘油脂被分解後，脂肪酸被吸收成爲血脂

抑制胰脂酶的活性，即可達到降血脂之功效

將胰脂酶置入咖啡豆、葉萃取液中反應，藉滴定實驗推得脂肪酶的活性是否被抑制

萃取液中何種成分有抑制胰脂酶之效果

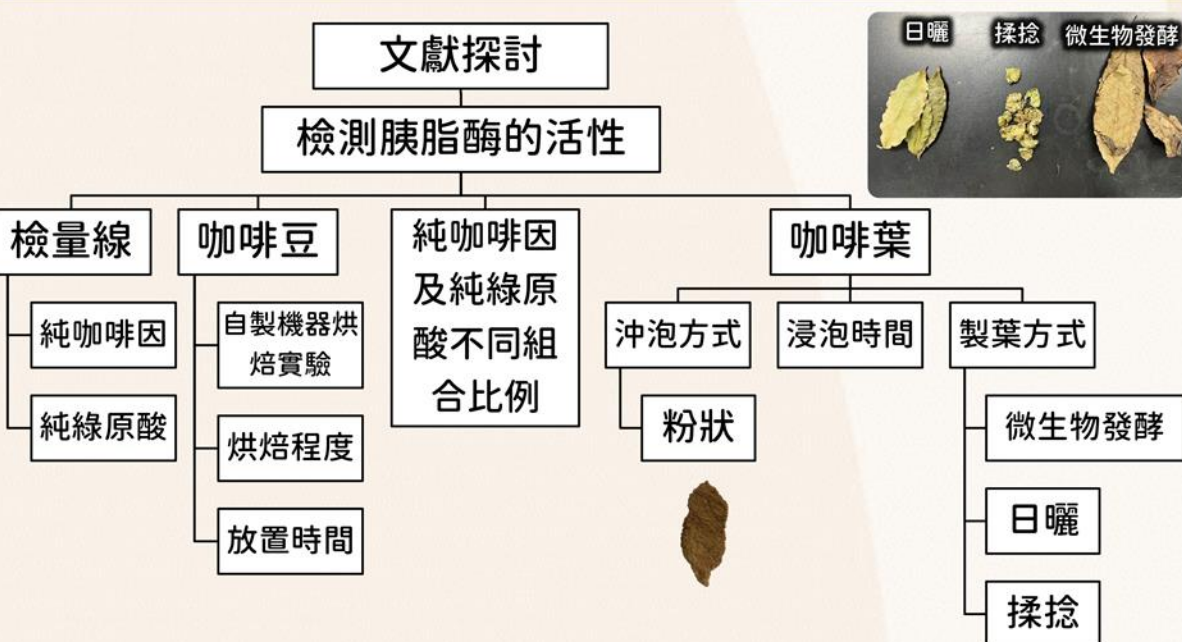
科學的價值在於知識應用，實踐解決問題

(一) 研究目的

1. 探討純咖啡因濃度對胰脂酶活性之影響
2. 探討純綠原酸濃度對胰脂酶活性之影響
3. 探討不同烘焙程度之咖啡豆萃取液對胰脂酶活性的影響
4. 探討不同保存時間之咖啡豆萃取液對胰脂酶活性的影響
5. 探討不同浸泡時間之咖啡葉萃取液對胰脂酶活性之影響
6. 探討不同比例之純咖啡因與純綠原酸濃度對胰脂酶活性之影響
7. 探討不同製葉方式之咖啡葉萃取液對胰脂酶活性之影響

貳、研究過程與方法

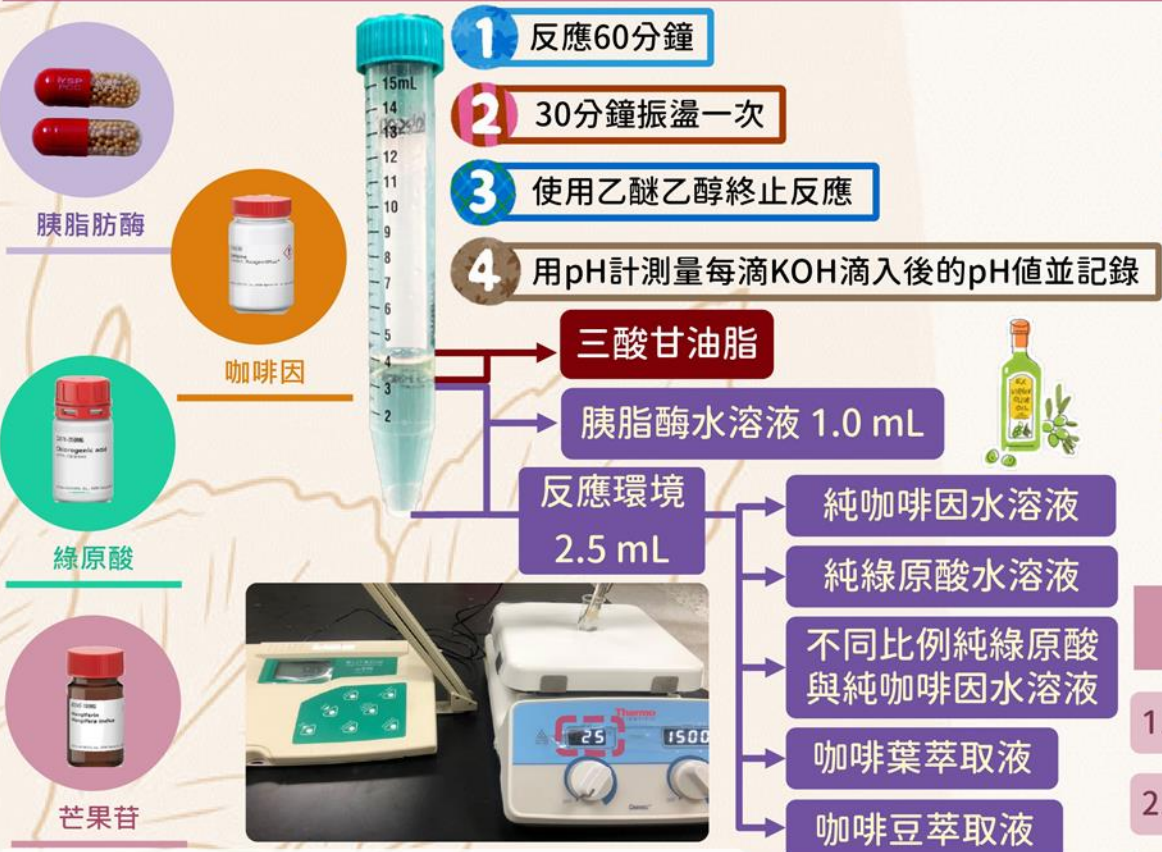
(一) 研究架構圖



(二) 研究材料與設備器材



(三) 研究方法



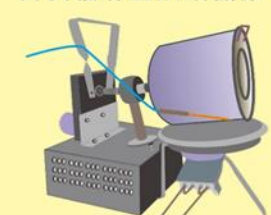
烘豆機改良過程

1. 烘焙裝置：自動控制原理及電路
2. 第一代：使用鋼杯烘豆鍋，蓋子挖洞裝把手及攪拌片，加轉速控制器調控速度、減少高溫傳導，且熱能散失緩慢，烘焙效果更佳。
3. 第二代：爲避免熱能散失，加裝不鏽鋼罩，重新使用耐熱膠帶將溫度感測棒固著，並準確測量溫度，判斷咖啡豆放入時間點，提升烘焙品質。

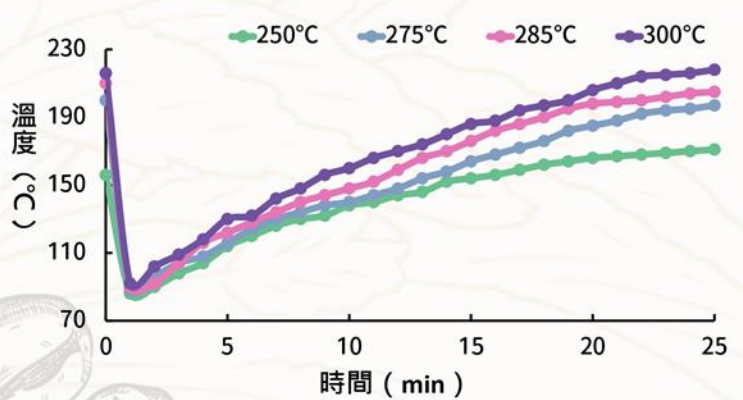
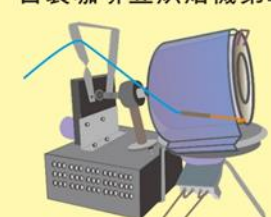
溫度設定

1. 烘豆設定溫度：285 ± 5 °C
2. 烘豆實測內鍋溫度：210 °C
3. 下豆溫度：待穩定210 °C十分鐘

自製咖啡豆烘焙機第一代



自製咖啡豆烘焙機第二代



烘焙溫度變化圖

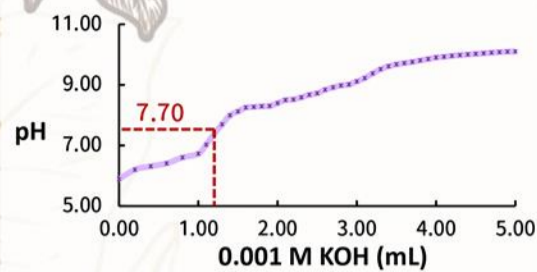


不同烘焙時間之咖啡豆

結果及討論

(一) 前導實驗：胰脂酶分解三酸甘油脂

橄欖油反應一小時之滴定曲線圖

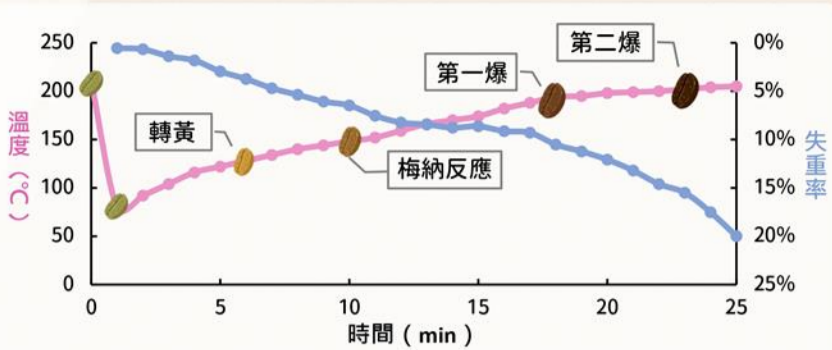


$$[H^+] \times V_{KOH} = V_{eq} \times K_a - V_{KOH} \times K_a$$

$$= 5 \times 10^{-7} - 4 \times 10^{-7} \times V_{KOH}$$

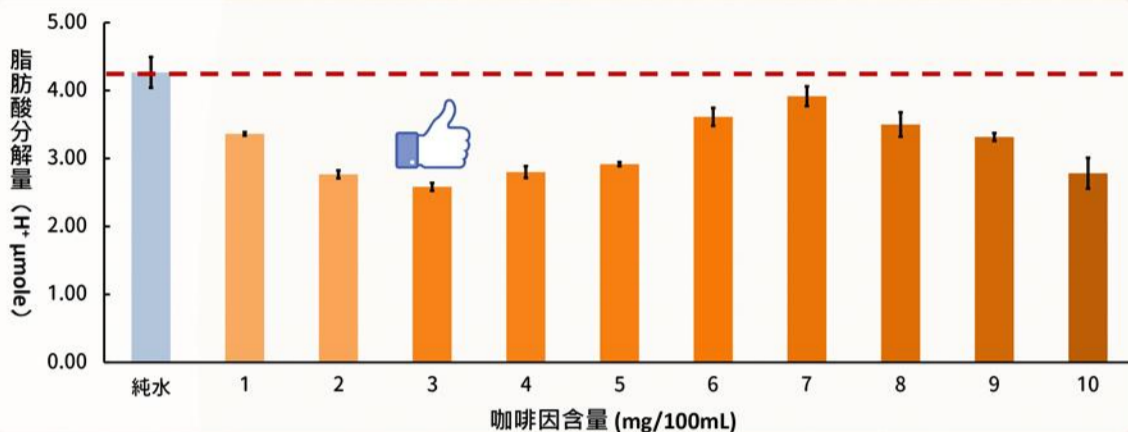
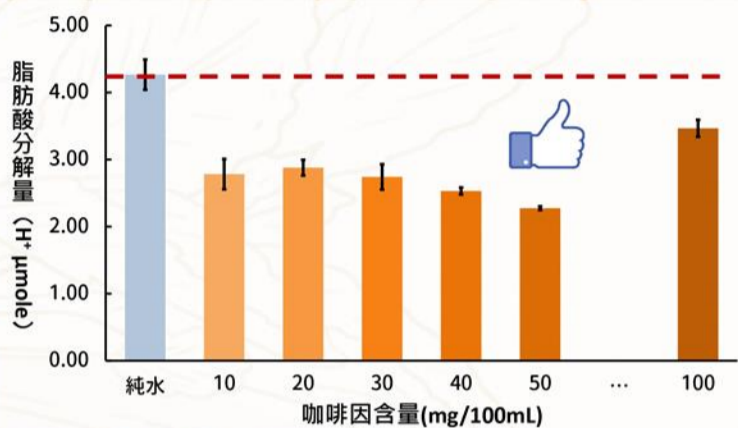
求得 $K_a = 4 \times 10^{-7}$
 $V_{eq} = 1.3 \text{ mL}$

(二) 前導實驗：實驗豆之烘豆過程



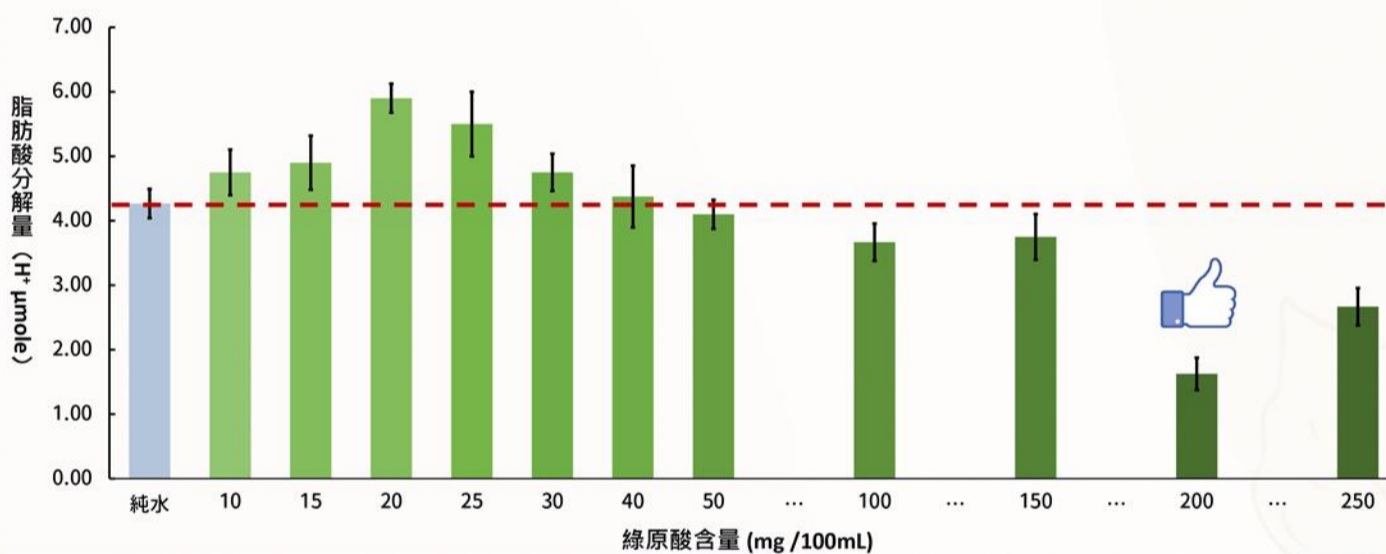
烘焙過程及不同烘焙時間之咖啡豆失重率變化圖

(三) 實驗一 純咖啡因濃度對胰脂酶活性之影響



胰脂酶在純咖啡因濃度**50mg/100mL**時之抑制效果最好，且該濃度後之被分解的脂肪酸含量有上升之趨勢。再進一步分析仍如此，發現胰脂酶在**微量**的純咖啡因**3mg / 100mL**環境中，**抑制效果最佳**。

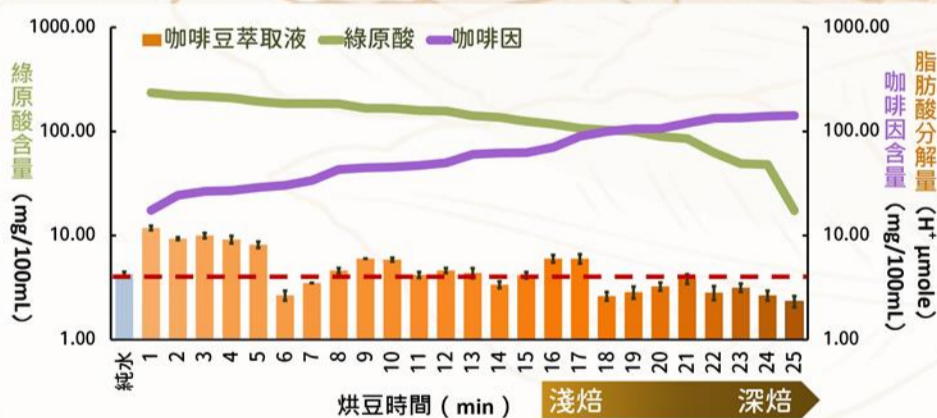
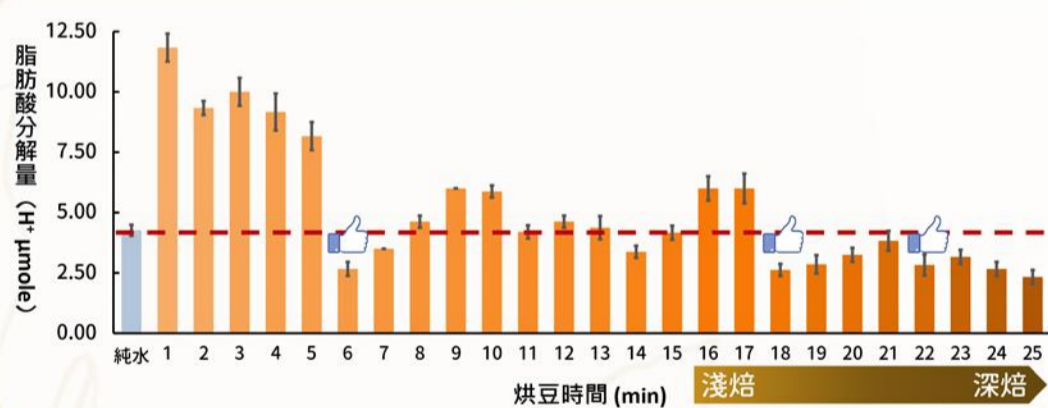
(四) 實驗二 純綠原酸濃度對胰脂酶活性之影響



胰脂酶在純綠原酸濃度**20 mg/100mL**時之**促進效果顯著**高於純水，然隨著濃度增加，被分解的脂肪酸含量有下降之趨勢，故再進一步實驗。

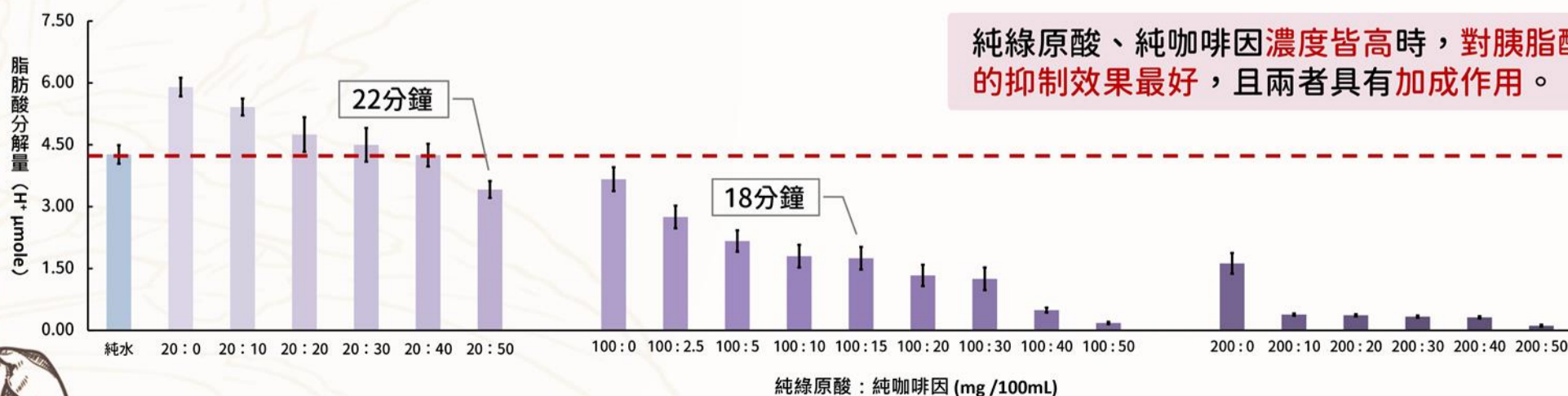
胰脂酶在純綠原酸濃度**200 mg/100mL**時之**抑制效果**較其他濃度顯著，也是在本實驗濃度中抑制效果最好的。

(五) 實驗三 不同烘焙時間之咖啡豆對胰脂酶活性之影響



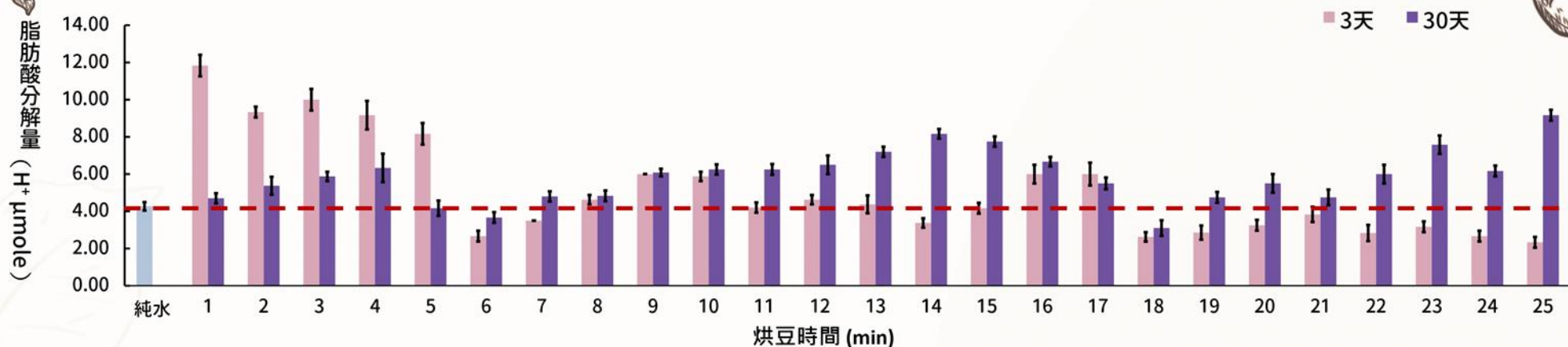
烘焙**6、18、22分鐘**時之咖啡豆萃取液，對胰脂酶之**抑制效果最好**，但考量到營養成分及風味接受度，且烘焙**18分鐘**時的綠原酸濃度也頗高，文獻亦指出其可抑制吸收血糖，故烘焙**18分鐘**之咖啡在食用性上較佳。

(六) 實驗四 不同比例之純咖啡因與純綠原酸濃度對胰脂酶活性之影響



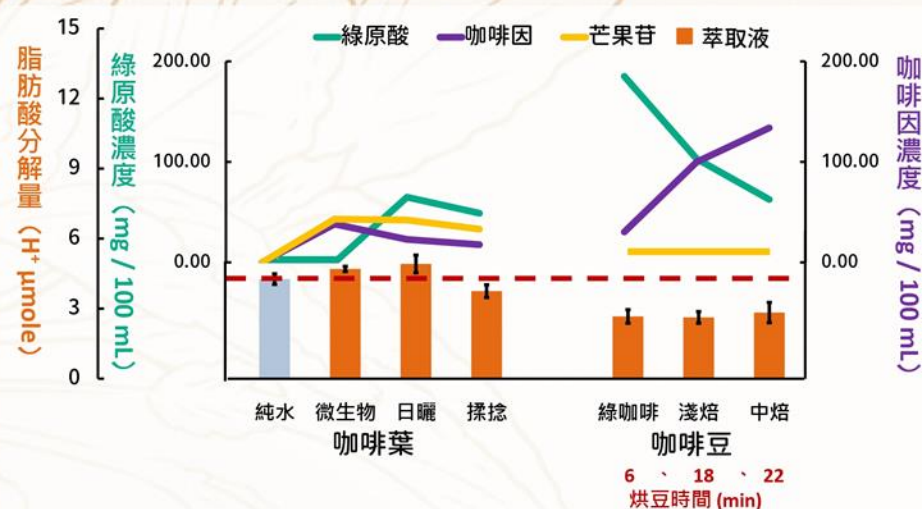
純綠原酸、純咖啡因濃度皆高時，對胰脂酶的抑制效果最好，且兩者具有**加成作用**。

(七) 實驗五 咖啡豆保存時間對胰脂酶活性之影響

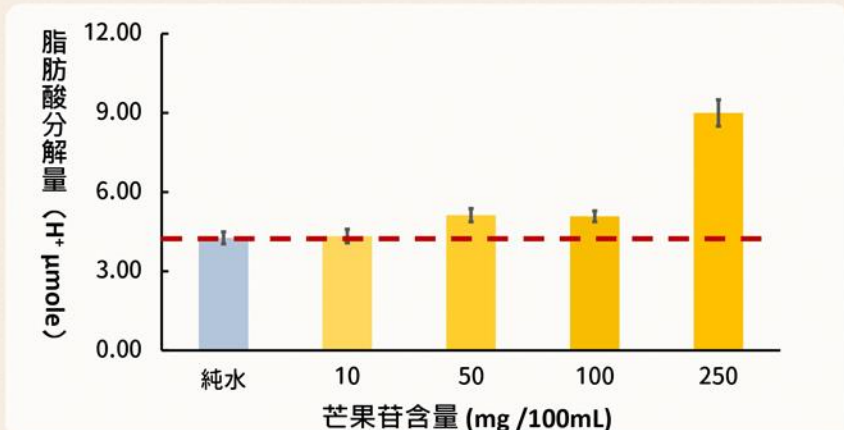


有豆堪喝直須喝，莫待月後空徒胖！

(八) 實驗六 不同製葉方式之咖啡葉萃取液對胰脂酶活性之影響



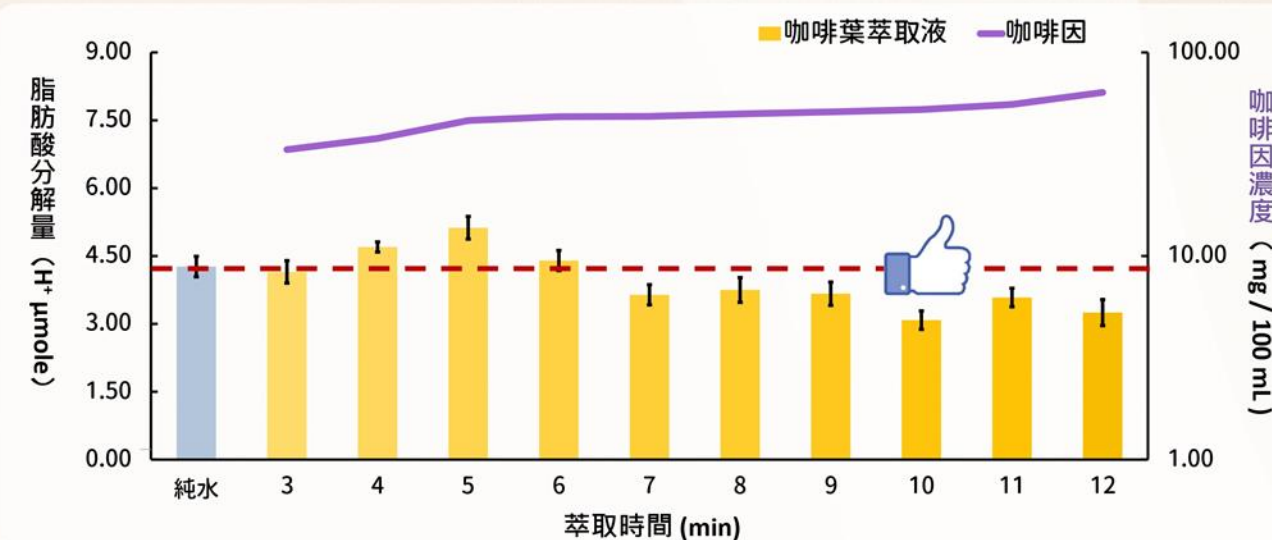
實驗證實純芒果苷對胰脂酶有**促進**效果。



咖啡葉經日曬或微生物手法處理之脂肪酸分解量皆高於純水，但以**揉捻**方式處理咖啡葉可有效增加萃取出對胰脂酶之**抑制**效果。

純芒果苷濃度對胰脂酶活性之影響

(九) 實驗七 咖啡葉粉末萃取時間對胰脂酶活性之影響



1. 沖泡**10分鐘**時的脂肪酸含量最低，減脂效果最為明顯！
2. 由實驗結果推之，藉由**拉長沖泡時間**，可以使咖啡因濃度上升來改善胰脂酶抑制效果。
3. 咖啡葉萃取液雖能**抑制**胰脂酶，但效果**不如咖啡豆**，但隨著沖泡時間拉長，咖啡因濃度提升。

肆、應用

對於想減脂的消費者，根據我們的研究結果，建議他們飲用**無糖咖啡**飲品或新興茶品**咖啡葉茶**，以適合的**烘焙程度**及**沖泡時間**，不必求助於昂貴的藥品，就能輕鬆達到**減脂**效果！且咖啡及咖啡葉茶中含有的綠原酸也可預防三高，對於有**消化不良**問題的人，可推薦他們飲用**沖泡時間4到6分鐘**的咖啡葉茶以達到促進三酸甘油酯分解的效果。

伍、結論

1. 本實驗自製烘豆機，當機器設定溫度為285°C時，內鍋溫度呈210°C時，符合常規烘豆溫度。
2. 我們所自製改良咖啡烘豆機，能準確控制**咖啡豆烘焙溫度**、**烘焙時間**及**自動翻炒功能**，有助於我們進一步探討不同烘焙程度的咖啡豆所含咖啡因、綠原酸含量及其對於脂肪酸的分解效果。
3. 純咖啡因中，所有濃度的**咖啡因**均能抑制胰脂酶的活性，減少脂肪酸的分解量。而濃度為**50 mg/100mL**時對胰脂酶抑制效果最佳。
4. 純綠原酸中，**低濃度**對於抑制胰脂酶分解三酸甘油酯效果不佳，需達50 mg/100mL之濃度才稍具效果，而**200mg/100mL**其效果最為顯著。
5. 咖啡豆經不同時間烘焙後，於6分鐘（綠咖啡）或18~25分鐘（淺焙~深焙）時，抑制胰脂酶分解三酸甘油酯效果最佳。但若講究風味及兼具減脂效果，以**18分鐘淺焙**為最佳選擇。
6. 咖啡豆烘焙過程中，隨著烘焙**時間增加**，**綠原酸濃度減少**，而**咖啡因濃度增加**，並能明顯抑制胰脂酶分解三酸甘油酯。
7. 咖啡葉可以用微生物發酵、日曬及揉捻等方式處理。其中，以**揉捻**方式所得萃取液，對脂肪分解量小於純水之脂肪分解量，實驗結果顯示揉捻製作咖啡葉最適合降脂。
8. 咖啡豆存放30天以上會失去抑制胰脂酶之效果，所以應**新鮮食用**。