

中華民國第 64 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國中組 生活與應用科學(二)科

第三名

032910

探討咖啡葉萃取液對 α -澱粉酶活性之影響

學校名稱： 高雄市立五福國民中學

作者： 國一 廖臣潏 國一 楊育寧 國一 伍濰昕	指導老師： 何姿穎 何茂通
---	-----------------------------

關鍵詞： α -澱粉酶、協同作用、酶分析葡萄糖定量
法

摘要

本研究探討咖啡葉的萃取液對 α -澱粉酶活性之影響，分別檢測 α -澱粉酶於兩種溫度、4 種不同來源、28 種自製咖啡葉萃取液，及一系列濃度之純綠原酸、純咖啡因、純芒果苷、純槲皮素和純 EGCG 環境中所產生之葡萄糖含量，用以評估 α -澱粉酶之活性。實驗結果顯示，4 種不同來源之咖啡葉萃取液，均對 α -澱粉酶活性有抑制效果，其中以 C 牌抑制效果較佳。另外，咖啡葉會因不同生長位置、成熟度影響其對 α -澱粉酶的抑制效果，其中以經揉捻、布球揉、解塊之咖啡嫩葉所製之萃取液對 α -澱粉酶抑制效果最為顯著。再者，純綠原酸、純芒果苷、純槲皮素和純 EGCG 皆會抑制 α -澱粉酶活性，且其濃度與抑制效果呈正相關，且彼此間均有協同作用。

壹、前言

一、研究動機

國中課本裡曾提及澱粉酶有助醣類的分解進而產生葡萄糖，於是我們對體內的「酵素」產生好奇心。日常生活中，東方人常以米飯等高澱粉的食物為主食，而體內的澱粉酶分解澱粉後會產生葡萄糖，過多的葡萄糖在腸道被身體吸收後，會造成代謝的負擔，很多專家指出這樣的飲食習慣，會增加糖尿病的發生，產生大小血管的病變，造成心血管事件和腎臟的傷害，令人驚訝的是，台灣洗腎的病人中，患有糖尿病的比例超過百分之五十。

我們在 YouTube 頻道「初日醫學-宋晏仁醫師 × Cofit」上看到一支影片，其中提到喝茶有許多好處，茶類中的茶多酚等成分有降三高（**降血糖**、降血壓、降膽固醇）的作用，每天喝茶能夠有效**降低罹患糖尿病的風險**，並指出茶葉中的某些成分可以**抑制澱粉酶**（ α -amylase）或葡萄糖苷酶（ α -glucosidase），**進而減少葡萄糖的產生及吸收來降血糖**。現行降血糖藥物中的醣祿錠（Acarbose），是一種以微生物為來源的偽四醣類，主要是抑制腸道內負責分解雙醣、寡糖及多醣的葡萄糖苷酶，可以延遲碳水化合物分解成葡萄糖，進入血液循環，發揮降血糖作用，喝茶的功效與這樣的機轉相似。

國人有喝茶和咖啡的習慣，近年來有人發現咖啡葉不但可作為飲品原料，且和咖啡或茶相比，其**咖啡因含量更低**並更促進健康，不過因食藥署在 2021 年才核准咖啡葉茶上市販售，所以對於此新興茶飲該如何發酵、沖泡萃取等有諸多值得研究探討之處。

過往許多研究指出製茶過程中所採用之程序、發酵程度，會影響其萃取液內之揮發性化合物之種類及其比例含量，例如綠茶之揮發性化合物是以醇類和醛類為主，而紅茶經充分發酵後芳香族類、萜烯類之化合物及衍生物（甘，1985；吳，1978），想必不同發酵製成亦會對咖啡葉內成分有所影響（余，2015）。再者過往文獻議提及熱水沖茶會溶出較多之兒茶素、咖啡因、單寧酸、芒果苷（李，2023；郭，2023；黃 2022），故沖泡溫度及時間亦會影響所溶出的化學物質及其含量，倘若所溶出之化學物質會影響特定酵素，則製茶（發酵）、萃取方法就可能會影響到酵素之活性。前述之想法不斷湧現我們的腦海之中，促使我們展開此項研究。

二、文獻回顧

（一）歷屆科展作品

過去關於茶葉保健功效的研究，十分多采多姿，且大多聚焦於各種茶葉的降三高、抗氧化能力及許多有益活性物質含量和個別作用的探討，而歷屆科展作品中，對於「茶」的探討甚多且主題多元。

回顧歷屆科展作品，與本研究較有關連的有八篇：

1. 中華民國第 54 屆國小組化學科：喝茶？找碴？—單寧酸和茶的異想世界

本篇文獻使用硫酸鐵、硫酸亞鐵及氯化鐵分別對茶水進行測試，根據沉澱物的沉澱量來判斷單寧酸的含量，有研究指出單寧酸是一種多酚類，可抗氧化和清除自由基，而單寧酸的溶出量與泡茶的方式有關，浸泡過久或用煮沸的方式都不利於單

寧酸的溶出。閱讀本篇文獻有助於讓我們對單寧酸有基礎的了解，另外也應證我們的想法，浸泡時間會影響到萃取液溶出的化學物質濃度。

2. 中華民國第 54 屆國小組生活與應用科學科：爺爺泡的茶--飲料與油脂吸附的關係

本篇文獻探討市面上各種常見茶飲料對於脂肪的吸附效果。將加入脂肪後的茶水溶液以濾紙過濾，再量測過濾後的水溶液重量及濾紙上的脂肪重量。過濾後的水溶液重量越輕，代表內含脂肪量會被包覆住，無法濾出，可能會直接排出體外，也就是這種飲料對脂肪的吸附能力較好。閱讀本篇文獻使我們了解茶飲可有助於控制體重不僅是調控血糖，亦可是調控血脂。

3. 中華民國第 58 屆高級中等學校組化學科：暗箱來找「茶」—利用自製暗箱偵測溶液的抗氧化能力

本篇文獻探討利用單寧酸之檢量線，測量在不同浸泡時間下（1min 及 2min），紅茶及綠茶在回沖數次後，茶水的抗氧化劑的相對含量。閱讀本篇文獻使我們了解浸泡時間與萃取液中單寧酸含量之關係，以及檢量線可用以分析物質濃度，後面報告中我們也建立葡萄糖之檢量線。

4. 中華民國第 59 屆國中組化學科：不夜侯的鐵血鞣情

本篇文獻分析不同種類的茶葉、市售茶飲料以及現泡茶飲料中兒茶素含量的多寡。採用硫氰化鐵離子做為測量茶多酚總量之試劑，無論是市售茶飲料、現泡茶飲料及原片茶葉茶包，茶多酚的含量多寡排序皆為綠茶>烏龍茶（青茶）>紅茶。閱讀本篇文獻使我們了解溫度的高低會影響萃取液中茶多酚的含量，以及最適宜沖泡茶的溫度為 80°C 左右，另外沖泡時間也會影響萃取液中的化學物質之濃度。

5. 中華民國第 60 屆高級中等學校組化學科：明「茶」秋毫—應用亞甲基藍溶液吸光度變化率測定方法探討水果、茶及水果茶抗氧化力之研究

本篇文獻分以不同茶水溶液和亞甲基藍溶液反應後的吸光度檢量線計算其抗氧化能力，整體的實驗概念類似我們分析葡萄糖濃度。

6. 中華民國第 61 屆國中組化學科：明「茶」秋毫...「破壞」手搖茶飲抗氧化力因子（兒茶素、咖啡因、茶胺酸）之探討

本篇文獻以還原力檢測法—DPPH 自由基清除力、普魯士藍生成量，探討手搖飲常用添加物（如：醣類、豆奶類、鹽類），是否會破壞茶湯抗氧化因子。由於文獻中提到常用添加物會與抗氧化力因子結合，以致於影響到其自由基清除力，由於文中提及的抗氧化力因子可能會抑制酵素，故我們想也可推及有部分常用添加物亦會抵制抗氧化力因子對澱粉酶的抑制效果。

7. 中華民國第 62 屆國中組化學科：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

本篇文獻探討不同沖泡（萃取）環境和不同濃度調配的市售茶，對於這三種脂

肪酶（胰脂肪酶、小麥脂肪酶、念珠菌脂肪酶）的抑制效果，再進一步觀察不同濃度的咖啡因及兒茶素，是否也有抑制脂肪酶的能力，還有其抑制效果的差異性。經由閱讀本篇研究，可有助於我們在設計實驗時較有具體概念。

8. 中華民國第 63 屆中小學科學展覽會：降脂「原」「因」~ 咖啡豆或葉中綠原酸及咖啡

本篇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，實驗中以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為實驗操縱變因。探討會影響胰脂酶之活性大小的原因，如：不同作用環境及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，綠原酸只在較高濃度時才會展現抑制效果。咖啡豆的烘焙時間及程度也影響對胰脂酶活性抑制效果，推測與咖啡因濃度有關。另外以揉捻方式製得的咖啡葉能有效抑制胰脂酶分解。

本篇研究是我們找到整個科展資料庫唯一一篇有提及之咖啡葉茶之研究，然而還是較著重在咖啡豆之烘焙及豆萃取液，不過也讓我們在設計實驗時，有特別留意到關於芒果苷相關之資料。

（二）其他相關研究

1. 澱粉酶 (amylase)

根據賴金泉於 2021 年所撰寫食品化學與分析（下）書中提及澱粉酶是一種催化澱粉水解成糖的酶，可分為 α 和 β 兩種， β 澱粉酶為外切酶，主要見於高等植物中，故非本實驗之研究對象。 α -澱粉酶為內切酶，主要存在於人類和其他一些哺乳動物的唾液及腸道中，由胰腺和唾腺所分泌，其能可切斷澱粉分子中任何 (α -1、4) 糖苷鍵，將澱粉水解成低分子糊精，再通過其他酶轉化為葡萄糖為身體提供能量。

由於 α -澱粉酶存在於人體唾液中，故我們所學之課本提到澱粉類食物的消化從口腔中的澱粉酶開始，持續至胃的上半部，直到澱粉酶被胃酸破壞為止。然而前述過程只佔了人類所攝取之總澱粉消化量的很小一部分，其餘大部分 (~95% 或更多) 澱粉的消化是在小腸內由胰臟所分泌之 α -澱粉酶所完成。由於本實驗所研究之對象僅為 α -澱粉酶，故後續報告中簡稱澱粉酶。

2. 澱粉酶抑制劑

過往研究指出澱粉酶抑制劑是一種反營養物質或抗營養素，可以透過破壞澱粉和其他複合碳水化合物的糖苷鍵使單糖不能被釋放（不被機體吸收），此機轉和脂肪酶抑制劑類似，可用於輔助飲食和肥胖症治療。 α -澱粉酶抑制劑在 1970 年代被深入研究，在 1980 年代和 1990 年代，發現在抑制糖尿病和高血糖以及對昆蟲選擇性控制等方面具有重要作用。植物合成的澱粉酶抑制劑可以治療糖尿病與減肥，例如：北美腎形豆（白腎豆），白腎豆的醣蛋白會與醣類分子結合，進而阻斷 α -澱粉酶的作用，便可抑制醣類的吸收，影響醣類轉換（李等，2007）。

澱粉酶抑制劑與咖啡葉茶中某些成分的功能似乎有些相似，例如：綠原酸、咖啡因、芒果苷等。這些由植物（包含咖啡葉）所提煉出來的物質，或許可與純化的澱粉酶抑制劑匹敵。本實驗為了估計澱粉酶的抑制效果，藉由推算澱粉酶水解反應之生成物「葡萄糖」濃度，來量化澱粉酶的活性。

3. 綠原酸

綠原酸（Chlorogenic acid, CGA）是一天然的化合物，由咖啡酸及奎尼酸酯化而成。綠原酸是一種重要的生物合成中間體，例：綠原酸是木質素（lignin）的生物合成的重要中間生成物。綠原素作為一種抗氧化劑，可讓葡萄糖釋出進入血液的過程減慢。

有文獻指出綠原素可能對慢性病有改善的效果，其可能表現在改變一些慢性病相關的生物標記，進而帶來進一步生理學和生化影響（張，2020）。這些影響可能可以改變心血管代謝疾病、神經性疾病及癌症等慢性病的發生與進展，總結其治療效益如下：降血糖、減少致癌性、抗發炎、抗肥胖...等（楊等，2017）。綠原酸提供給人類的這些效果是非藥物性且非侵入性的，故普羅大眾對其大多具有正向評價，將其視為慢性病治療的另一種有效選擇，甚至可以融入日常飲食及保健食品，企圖藉由「食療」來調控血糖。

4. 芒果苷

芒果苷（Mangiferin），是一種存在於漆樹科芒果的果實、葉、樹皮中之天然化合物，其具廣泛的生物活性，如抗發炎、抗氧化及改善胰島素抗性等。根據文獻提到芒果苷可通過提高胰島素細胞再生能力、胰島素水平、胰島素敏感性、葡萄糖利用率...等機制發揮直接降血糖作用（李，2022；楊等，2017）。

過往文獻證實咖啡葉中含豐富多酚化合物，其中之芒果苷及羥基肉桂酸酯（hydroxycinnamic acid ester, HCEs）具有抗菌、抗氧化、降血脂等功效，不過對於咖啡葉中的芒果苷含量研究有限（Monteiro, 2020；Trevisan, 2019；林，2016），更別提咖啡葉中之芒果苷溶出量。

5. 咖啡因

咖啡因（caffeine）：一種黃嘌呤（xanthine）植物鹼，主要存在於咖啡樹、茶樹等植物的果實及葉片裡，用於抗蟲（在葉片）以及抑制其他植物的種子發芽（Nathanson, 1984）。後來人類無意中發現了它有提神的效果便開始飲用。長庚醫訊中列舉攝取咖啡因的優缺點，其中優點與本研究主題相關的有刺激消化液分泌，改善消化；減肥，加速脂肪代謝，提高消耗熱量，暫時抑制食慾，改善代謝症候群；利於2型糖尿病（陳，2014）。

6. 槲皮素

槲皮素（Quercetin）廣泛的分佈於植物界中含量最多之類黃素（flavonoid）分子，存在的部位則包括植物之種子、核果、花、莖皮及葉片等，目前許多試驗研究已證實它對人體具保健效果或療效（張，2003）。槲皮素在抗肥胖之相關研究已廣

泛被報導，對於**降血糖**、血脂及改善抗氧化酵素都有很好的功效，可用來協助改善糖尿病（Oyedemi, 2020；周，2014）。

7. 兒茶素

單寧（Tannins）根據文獻定義是指茶中水溶性、分子量 500 至超過 3000 的多酚化合物（Bate-Smith and Swain, 1962），幾乎所有植物性食物與飲料都存在，其可依據化學結構畫分為四類：（1）兒茶素類（Catechins）屬於無色/原花色素類（proanthocyanidins）或縮合單寧類；（2）可水解單寧類（hydrolysable tannins）；（3）褐藻多酚類（phlorotannins）；（4）複合單寧類（complex tannins）。

兒茶素（Catechin），屬於上述第一類的單寧，有些研究報告認為它們已具有藥效功能，其中又以兒茶素為茶湯中的主要成份（佔可溶分 40~50%），對人體的功效近來頗受世人重視（Serrano, 2009）。過往關於兒茶素的研究，較多與綠茶有關，係因傳統茶葉（綠茶、包種茶、紅茶等）中，綠茶（不發酵茶）所含兒茶素含量較高（楊，2018）。關於綠茶兒茶素之相關研究中，曾有對 1584 人進行人體試驗，該文獻指出參與者攝入含或不含咖啡因的綠茶兒茶素，臨床表現都有降低空腹血糖（FBG）濃度，但不影響空腹胰島素（FBI）（Zheng, 2009）。在綠茶兒茶素中以表沒食子兒茶素沒食子酸酯（Epigallocatechin gallate, EGCG）為酯型兒茶素存在最多，且抗糖化能力最佳（洪，2019；蕭，2018）。根據文獻咖啡葉中的兒茶素也以 EGCG 為最多（Ratanamarno, 2017）。

8. 咖啡葉茶成分及功效的研究

古老的咖啡葉飲其實早於 200 年前，即已存在衣索匹亞及蘇丹。近年咖啡葉更獲得英國及法國學者的驗證發現了 10 數種成分，包括具有許多生理活性功能的芒果苷及綠原酸（農傳媒，2017）。有研究率先利用液相層析質譜儀，鑑定出高山有機咖啡葉共含有 40 餘種多酚成分。其中除含大量綠原酸、芒果苷外，更含可觀的槲皮素。咖啡葉茶喝起來口感像紅茶，有淡淡的茉莉花香，茶湯顏色為琥珀淺紅，至於茶葉裡成分則偏向咖啡，其中綠原酸比例甚至高過蔓越莓，可以有效抗發炎、降低體脂肪，另外也含有芒果苷、槲皮素等機能性成分，可以**預防糖尿病**等（楊等，2017）。國外研究指出咖啡葉茶含有更多幫助**降低血糖**的成分，例如：能減緩葡萄糖釋放到血液中的速度，進而抑制血糖上升（Chen，2019）。

國人普遍認為喝茶有促進健康的效果，過去對茶的研究多以紅茶、綠茶、烏龍茶等茶種為主角。關於茶葉的發酵及沖泡萃取方式已有相當完備的知識背景，然而對於咖啡葉此新興茶飲，仍待進一步研究。根據農傳媒於 2017 年的報導指出臺灣農委會高雄區農業改良場投入研發「高機能性咖啡葉茶」，將咖啡葉從萎凋、發酵、揉捻、烘焙、乾燥等製程，找出對咖啡葉茶品質口感及成分影響，最終宣稱有開發出含高綠原酸機能成分及口感佳的咖啡葉茶產品，並投入產業指導，因此近一年來許多咖啡葉茶產品如雨後春筍般冒出市場。然而，不同來源（購買或製造）所得之咖啡葉沖泡出來的風味仍略有差異，如同市售各種茶葉一般，各品牌或管道百家爭

鳴，在製茶的工法上仍略有差異。

關於咖啡葉茶的發酵工法，仍屬待科學研究進一步探討的領域，本篇研究擬探討若以傳統茶葉相關知識背景到用於咖啡葉是否能行。普羅大眾提到「發酵」大多聯想到食品科學狹隘的定義，即微生物參與使有機物分解的生物化學反應過程。然而，在傳統製茶工法中，除了黑茶（普洱茶）利用微生物產生特殊風味外，茶葉發酵實際上是指一連串兒茶素氧化聚合反應，產生不同氧化產物，進而伴隨著茶葉外觀顏色改變與茶葉風味的形成（茶三元，2021）。因此不同發酵方式，會使茶葉製品中活性物質的成分及佔比產生變化，進而造成萃取液對抑制澱粉酶活性的不同程度影響，故本研究旨在證明上述的推斷。

根據過往研究指出茶中成分有助於血糖控制，尤其是重發酵的紅茶較綠茶與烏龍茶佳；甚至統計有喝茶習慣相比無此習慣的人罹患糖尿病前期風險降低了 15%，罹患第二型糖尿病的風險也降低了 28%，進而推論茶中部分成分有益於管理血糖（柯，2023；Komorita, 2020）。另有研究提及茶中兒茶素（EGCG），可抑制澱粉水解，其通過影響 α -澱粉酶和 α -葡萄糖苷酶，以達到對血糖調控的效果（Naghma Khan, 2019）。且在針對有關糖尿病與相關併發症臨床研究的期刊 BMJ 中曾有研究指出綠茶和咖啡具有促進健康的作用，其相關機轉尚不完全清楚，推測可能因該飲品內部含多種有益物質，包括酚類化合物、兒茶素等等，且在這些物質綜合作用下似乎對 2 型糖尿病患者具有協同作用（Komorita, 2020）。綜觀上所述，本研究的目的有四：

- 一、探討不同來源之咖啡葉萃取液對 α -澱粉酶活性之影響。
- 二、探討不同製茶方法（採收葉子來源、揉捻方法）之咖啡葉萃取液中對 α -澱粉酶活性之影響。
- 三、探討咖啡葉萃取液中關鍵成分對 α -澱粉酶活性之影響。
- 四、探討咖啡葉中影響 α -澱粉酶活性之關鍵化學物質彼此間的交互作用。

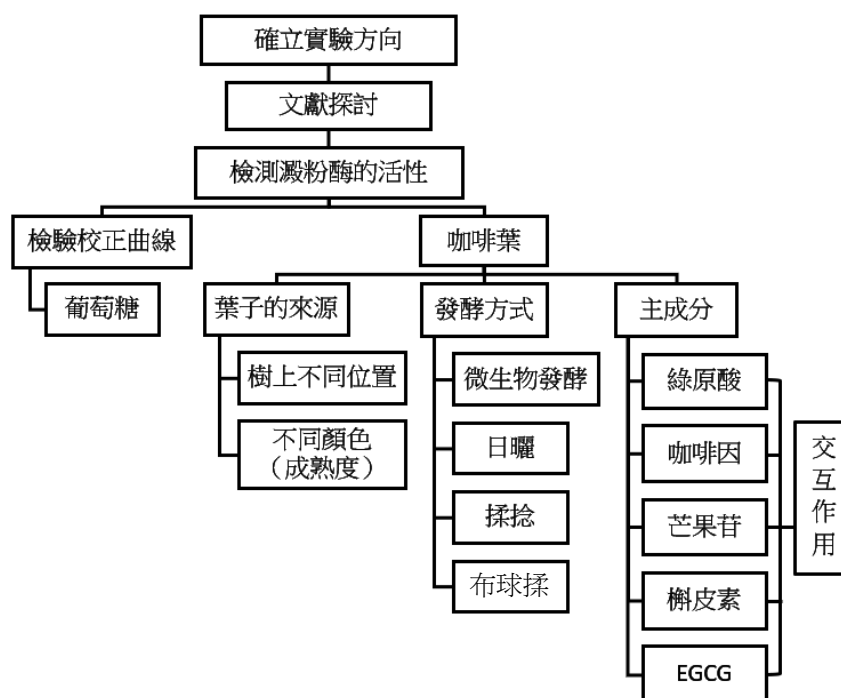
貳、研究設備及器材

表一、實驗耗材及分析儀器

耗材與儀器		藥品及器材名稱		
定性濾紙	微量滴管	振盪器 Vortex-Genie2	氫氧化鈉	Merck 四甲基聯苯胺
刮勺	研鉢和杵	分光光度計 Macy UV-1500	鹽酸	Merck 無水乙酸鈉
量筒	Parafilm	水浴槽 Water bath 810	糯米紙	Merck EGCG $\geq 95\%$
漏斗	燒杯	PMMA 分光比色槽	葡萄糖	Merck CGA $\geq 95\%$
滴管	秤量紙	離心管及離心管架	氫氧化鈉	Merck Mangifenin
玻棒	電子秤	調理果汁機 V200	醋酸	Merck Caffeine
試管刷	洗滌瓶	篩網（60 目）	Merck 葡萄糖氧化酶	Merck Quercetin
酒精溫度計	定量瓶	加熱攪拌器	Merck 過氧化物酶	

參、研究過程及方法

一、實驗流程架構圖



圖一、研究架構圖

二、研究對象

(一) 咖啡葉

全世界主要分成三種咖啡豆，阿拉比卡、羅布斯塔、賴比瑞亞三種，其中因為賴比瑞亞種產量比較少，僅佔全球咖啡產量的 2% 不到，而羅布斯塔佔全球咖啡產量約 20 ~ 30%，產量也很少（硬性格，2023）。阿拉比卡不僅全球產量居冠，且一般家用精品豆也以其為主，另兩者因為風味及產量之故，多作為罐裝咖啡或是被大廠商壟斷市場，所以取得不易。再者據衛生福利部食品藥物管理署公告，目前只核准阿拉比卡種及羅布斯塔種可製成咖啡葉茶茶包，因此在考量取材容易度及政府規範，故本研究選用阿拉比卡種的咖啡葉。

(二) 四種來源之咖啡葉

為符合研究目的一之需求，我們在蝦皮購物網上搜尋，綜觀整個賣場僅找到了三種市售咖啡茶包，透過包裝及詢問賣家，確認分別來自不同賣家，為保護品牌隱私，故在後續報告中將前述四種市售茶包品牌稱為 C、H、Z 牌。另外參考文獻中去年（2023 年）有某校科展曾使用咖啡葉（郭等，2023），我們有向他們請教咖啡葉茶來源，所幸對方樂意分享，故我們又新增一組透過實驗室取得以微生物發酵之 N 牌，然因實驗室尚在研發中，故何種微生物發酵、如何發酵目前尚屬機密。上述三種市售品牌是以茶包的方式販售，每個品牌的單包茶包葉重均不同，且內部咖啡葉顏色、大小均不同，而 N 牌則為整片完整葉。因考慮粒徑大小會影響溶解度，所以我們決定以調理果汁機將咖啡葉磨碎，並以 60 目篩網過篩，以確保未來沖泡咖啡葉時粒徑統一。

(三) 自製咖啡葉

在我們進行過探討四種來源之咖啡葉茶後，我們發現它們對澱粉酶的活性影響不一，因此我們推測它們可能製茶方法跟採集葉子的方式不同。為了驗證我們的想法，我們嘗試聯絡各家廠商，不過可能因涉及商業機密，所以廠商們不願具體回應。但反倒激發我們覺得「靠人不如靠己」，因此開始規劃自己製作咖啡葉。

為了自製咖啡葉，我們曾考慮購買咖啡樹苗，但考量要足夠大的咖啡樹才能禁起大量採摘其上方的葉子。後來在多方接觸下，我們詢問到友校有二十棵咖啡樹，於2017/12/29所種植，已有樹齡6年多，很適合採摘葉子，且友校亦非常樂意提供我們使用。在決定使用友校咖啡樹後，我們先將二十棵咖啡樹進行編號（A~T）後，測量每棵樹的高度，以建立樣株的背景資料。我們發現其中兩棵J跟R高度較矮，我們雖不清楚緣由，但怕是營養不良或栽種位置所致，因而將這兩株剔除後，剩下的十八棵咖啡樹再藉由Excel隨機抽取兩棵（H、K），後續實驗的自製葉將採自這兩棵，並均勻混合，避免受咖啡樹個體差異。

表二、樣區咖啡樹高度統計表

編號	高度 (cm)	編號	高度 (cm)	編號	高度 (cm)	編號	高度 (cm)
A	256.7	F	243.0	K	249.1	P	223.2
B	268.4	G	254.3	L	257.9	Q	227.3
C	268.1	H	266.3	M	258.4	R	201.8
D	235.3	I	252.2	N	227.3	S	265.1
E	220.3	J	209.1	O	254.1	T	260.3

1. 葉子的來源

本實驗將「葉子的來源」分為「樹上不同位置」以及「不同顏色（成熟度）」。

(1) 樹上不同位置

我們將「樹上不同位置」的咖啡葉又分為「距離地面位置」以及「枝條位置」兩類，每類再分成三小組。我們將「距離地面位置」分別為**樹幹上、中、下**，是根據我們所量測的高度分成三等份作為三小組；在我們量測樹高時，我們發現若細微觀察樹枝條，會發現枝條顏色可以分成三種，從**前端到後端**的顏色變化依序為**綠色、深綠色、灰咖色**，我們想這個顏色的變化與枝條的年紀有關，所以我們用此法分類。實際操作時我們自兩棵樹，樹幹下層（因枝條較長，且高度較好操作），隨機各採下一支條，將每小組葉子均拔下來。



圖二、咖啡樹枝條

(2) 不同顏色 (成熟度)

葉子的顏色會隨著生活史而改變，所以顏色某種程度也代表其成熟度（Kalra, 2018；Kiskini, 2016），故我們根據葉子的顏色作為區分，分為下面四小組：

a. 嫩芽 (淺淺綠色)

嫩芽會在枝條最頂端，屬剛抽出來的小芽葉，並非所有枝條都有，數量極其稀少，我們將二十棵樹上所有嫩芽均拔下，僅獲得一點點（參見圖三），故在後續實驗組裡所作處理不多。

b. 嫩葉（淺綠色）

嫩葉會在枝條頂端，扣除嫩芽後，每個枝條約前 1~2 片葉子且顏色符合，才會被我們摘下。

c. 中葉（深綠色）

整棵樹上分布最多的葉子，我們在兩棵植物隨機採摘各 10 片。

d. 老葉（黃綠色）

黃綠色葉位於枝條靠樹幹的位置。

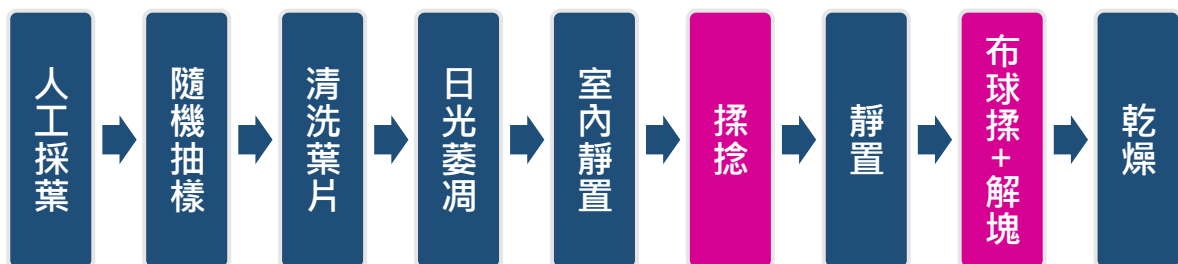
除了嫩芽以外，上述所有的葉子都採自 H、K 咖啡樹，每棵樹均十片葉子，待後續進行製茶流程。



圖三、10 小組葉子對比圖

2. 製茶（發酵）流程

我們參考古邁茶園網站裡所提及的傳統茶葉製成步驟，擬訂下以下流程：



圖四、製茶流程圖

其中「日光萎凋」在傳統製茶法中，主要是利用葉子內葉綠素行光合作用和日曬蒸發水分兩種效果，促使葉子內水分快速流失，讓揉捻不至於葉片破壞，就好比一顆裝滿水的水球，若排放一部分水，再揉搓就不會容易使水球破裂。但咖啡葉結構不似茶樹葉子，反而較有蠟質硬度，所以在實驗之初我們不能確定咖啡葉是否能經「日光萎凋」後，仍可以「揉捻」，故設計設計兩實驗組（b、c 組）將「日光萎凋」調至「揉捻」步驟前。

傳統製茶法「日光萎凋」後，於室內靜置可以使葉內油脂、蛋白質和多醣類等物質有時間進行酵素作用，促使茶葉產生特殊香氣。但因植物有細胞壁保護，不易與空氣中之氧接觸，故限制了氧化作用的發生，此時就需要「揉捻」幫助。揉捻時葉子細胞壁被壓破，茶汁釋出，使葉中所含之單寧增加與氧接觸機率，再藉過氧化酵素為觸媒，發生氧化作用，故在製茶原理中**揉捻與發酵**二者中之化學變化，實無明顯之界限可以區分，**僅氧化程度不同而已**。由於揉捻似於發酵，故會產生熱，另一方面揉捻時也會產生摩擦，兩種熱都將會加速單寧之氧化，當葉溫超過 82 °F，則會產生縮合程度較高之單寧，而影響風味，故揉捻不能進行太久，因此我們進行 **30 秒揉捻**後會將咖啡葉攤開靜置散熱（參見圖四）。

傳統製茶法中發酵程度與揉捻時釋出茶汁之多少成比例關係，若此過程進行中對葉子加

大施予的壓力、時間，葉細胞破碎之數量愈多，破碎之程度亦愈深，而茶汁之釋出愈多，發酵程度亦愈深（臺大農藝系觀點種子網，年代不詳），故而傳統製茶法中有一步驟為「布球揉」，即將葉子裝於布袋中，搭配木棍操作將布袋開口扭緊，對布袋內之葉子施壓，如同前述未防葉溫過高，此時會打開布袋，將葉子倒出散開降溫，此過程稱為「解塊」。在傳統製茶過程「布球揉-解塊」會重複數次，但每家茶園各異。根據農試所的資料，有5~8次之差異（黃，2011）。

在我們的實驗組中有兩組（c、e組）有進行「布球揉」來加強發酵作用，實際操作手法為，將咖啡葉裝在布袋中，先多揉捻30秒後，用竹筷子將布袋開口扭緊（參見圖五），再如同搓揉湯圓般揉5分鐘，後「解塊」。前述步驟考量人力及時間成本，我們「布球揉-解塊」進行5次。



圖四、進行揉捻



圖五、進行布球揉，用竹筷子幫助施力將棉布袋繞非常緊

綜合以上，我們共製造28組自製葉，為方便理解彙整如下：

1. 依製茶方法，分為五組（a~e），製茶步驟如下表。

表三、五組分別的製茶步驟

分組 \ 製茶步驟	人工採葉	隨機抽樣	清洗葉片	揉捻	靜置	布球揉+解塊	日光萎凋	室內靜置	揉捻	靜置	布球揉+解塊	乾燥
a（不揉）	→	→	→				→	→		→		→
b（揉捻）	→	→	→	→	→		→	→				→
c（布球揉）	→	→	→	→	→	→	→	→				→
d（揉捻）	→	→	→				→	→	→	→	→	→
e（布球揉）	→	→	→				→	→	→	→	→	→

*表中→表示有此步驟，且依第一排順序進行；空格表示無此步驟。

2. 每一製茶方法組的葉子來源彙整如下表。

表四、統計自製咖啡葉

分組 \ 葉子來源	1. 樹幹上	2. 樹幹中	3. 樹幹下	4. 枝條後段	5. 枝條中段	6. 枝條前段	7. 嫩芽	8. 嫩葉	9. 中葉	10. 老葉
a	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
b	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
c	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
d	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
e	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓

*因為嫩芽數量太少，且體型太小又脆弱，故僅做 a 製法。



圖六、28 組自製茶



圖七、左為 8d、右為 8e，可以看的出來有無布球揉之差異



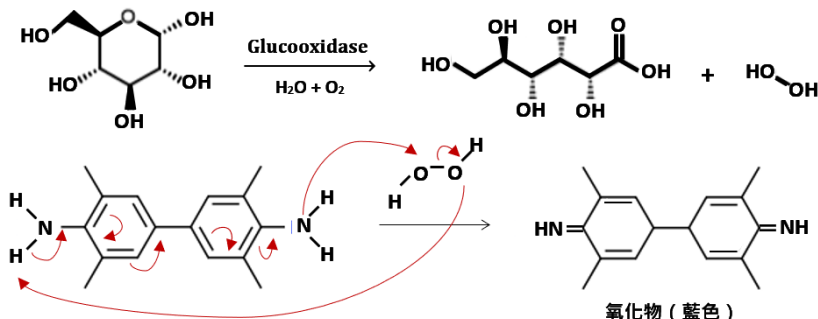
圖八、嫩芽
(比例尺：每格 1 公分寬)

三、評估澱粉酶活性

由於澱粉酶會將澱粉水解為葡萄糖，故本研究藉由估算葡萄糖產生量來評估澱粉酶活性。因此我們找尋可以定量溶液中葡萄糖含量，是我們研究的首要任務。根據文獻，我們從中評估四種定量葡萄糖濃度之方法，分別為苯酚水溶液法、Bertrand 法、Hexokinase 法、酵素法，其各自優缺點如下：

	苯酚水溶液法	Bertrand 法	Hexokinase 法	酵素法
優點	快速	精準	精準	1. 實驗原理較為簡單。 2. 反應所需時間短。 3. 靈敏度最佳。
缺點	1. 苯酚水溶液有毒。 2. 操作濃硫酸危險。	1. 實驗步驟繁雜，所需之時間需很長。 2. 判斷滴定反應終點不易。	費用太高	實驗費用較高，但仍比 Hexokinase 法便宜不少。

酵素法的分析原理是因葡萄糖在葡萄糖氧化酶（glucooxidase）作用下可被氧化成葡萄糖酸以及過氧化氫。實驗中利用過氧化氫酶作用在過氧化氫，並與四甲基聯苯胺反應，即可產生穩定的氧化物，且該氧化物為藍色，在波長 650 nm 的吸收度和葡萄糖濃度呈正相關。化學結構式如下：



（繪圖部分素材從 ChemSpider 網站取得）



圖九、藍色氧化物

四、葡萄糖標準品濃度和混合酶水溶液配製

酵素法估計葡萄糖濃度需配置混合酶水溶液，且需有前置實驗建立校正曲線，故需配置以下溶液：

- (一) 葡萄糖標準品水溶液：使用純度 99.9%之葡萄糖加水配成 0.2000 %、0.1500 %、0.1000 %、0.0500 %、0.0200 %、0.0250 %、0.0125 %等七種濃度的葡萄糖標準品，加上純水來建立校正曲線。
- (二) 混合酶水溶液配製

既是「混合」酶水溶液，故需準備多款水溶液來進行混合，其配方如下：

 - (1) 葡萄糖氧化酶水溶液：重量百分比濃度葡萄糖氧化酶：水 = 1 : 1000。
 - (2) 過氧化氫酶水溶液：重量百分比濃度過氧化氫酶：水 = 1 : 1000。
 - (3) 乙酸緩衝液：將 14.28 g 乙酸鈉加入 50 mL 水，再加入 24mL 醋酸，攪拌均勻後將 pH 調至 4.5，再加水至 1 L。
 - (4) 四甲基聯苯胺溶液：四甲基聯苯胺：乙醇 = 0.1 g 20mL。

將上述四種液體按照體積比（葡萄糖氧化酶水溶液：過氧化物酶水溶液：乙酸緩衝液：四甲基聯苯胺溶液 = 1 : 1 : 4.75 : 1.75）進行混合。

五、澱粉水溶液和澱粉酶水溶液配置

(一) 澱粉水溶液

在國一課本實驗中，進行澱粉水解實驗是需使用糊化澱粉，其調配過程中將澱粉粉末加入熱水中進行糊化反應時，須緩慢倒入澱粉粉末於熱水之中，除了於高溫下操作較為危險外，當產生澱粉塊時還須將其壓開，十分耗時且容易產生部分澱粉沾留在燒杯壁及玻棒上，造成難以控制澱粉水溶液之重量百分比濃度。後來我們想到糯米紙是由糊化澱粉所製造，其薄薄一片不只好秤重，只要將其丟入冷水，在稍以加熱板加熱，就可以十分快速將其製成澱粉水溶液。我們將 1 g 糯米紙投入 50 mL 水中，丟入攪拌子於加熱攪拌器上，同時進行攪拌與加熱，待無發現任何結塊後將溶液冷卻，接下來倒入定量瓶

再次定量至 50 mL，以補足可能因加熱而蒸發之水分。

(二) 澱粉酶配置

有關澱粉酶配置，我們查找了過往國際科展的報告參考，發現其製作的手續艱難，時間十分冗長，且以目前我們的實驗能力及設備，也無法精準純化及定量，所以我們以市售澱粉酶來進行實驗。我們進行實驗研究所使用之澱粉酶水溶液是按廠商包裝上所以建議之比例來進行配置，即澱粉酶與水重量比為 1：200。

前置實驗：建立葡萄糖檢驗校正曲線

- (一) 前面所配置一系列濃度之標準葡萄糖水溶液各 0.5 mL，分別加入 4.5 mL 混合酶水溶液。
- (二) 在室溫下靜置 25 分鐘，分別在 650 nm 波長下測吸光度，利用七個標準品及純水之吸光度值做出標準溶液校正曲線圖。

實驗一：探討四種不同來源咖啡葉茶萃取液對澱粉酶活性之影響

(一) 實驗組

本篇報告中所有的實驗組，都將進行六重複分析，其餘實驗步驟如下：

1. 將 100 mL 蒸餾水置於離心管中，再將其放入 90 °C 水浴槽中 10 分鐘。此步驟只是為確保離心管內溫度與水浴槽一致，且有足夠時間讓我們可以秤量咖啡葉茶重，又無需同時留意加熱水。
2. 如同材料方法中提及，我們將四種來源之咖啡葉都研磨過篩，之後分別取 1 g 茶粉放置燒杯中備用。
3. 待離心管內部水溫到達 90 °C 後，取出將 90 °C 熱水倒入裝有茶粉之燒杯中。
4. 待茶粉浸泡 1 分鐘，用濾紙與漏斗過濾後，即為本實驗之咖啡葉萃取液（如圖十）。
5. 每個樣本均會先備置兩種離心管，其中一管裝有前述之澱粉水溶液與咖啡葉萃取液各 1 mL，另一根離心管中裝有 1 mL 澱粉酶水溶液。
6. 將前一步驟所備置之離心管均放入 37 °C（模擬人類體溫）的水浴槽中，待離心管內部液體溫度均達到 37 °C 後，再將兩種離心管混合成一個樣本，並用振盪器振 30 秒，以確保混合均勻。
7. 將樣本放回 37 °C 的水浴槽，待其反應 30 分鐘後，將每個樣本取出水浴槽，並再次振盪 30 秒。
8. 在等待反應 30 分鐘內，需配置好混合酶水溶液，然後抽取 4.5 mL 酶混合液至乾淨離心管內。
9. 待等待時間結束，每個樣本各取 0.5 mL，加入放有 4.5 mL 酶混合液的離心管中。
10. 經振盪 30 秒後，在室溫下靜置 25 分鐘後，依照樣本特性決定**稀釋**倍率。
11. 使用分光光度計檢測在 650nm 波長下各樣本的吸光度，帶入所建立校正曲線圖之回歸公式，並套用稀釋倍率轉換後，即可得到該樣本內部葡萄糖含量。

(二) 對照組

1. 備置兩種離心管，其中一管裝有前述之澱粉水溶液與蒸餾水（取代咖啡葉萃取液）各 1 mL，另一根離心管中裝有 1 mL 澱粉酶水溶液。
2. 同前述步驟 6~11。



圖十、四種來源咖啡葉萃取液，
1 為 C 牌；2 為 H 牌；
3 為 Z 牌；4 為 N 牌。

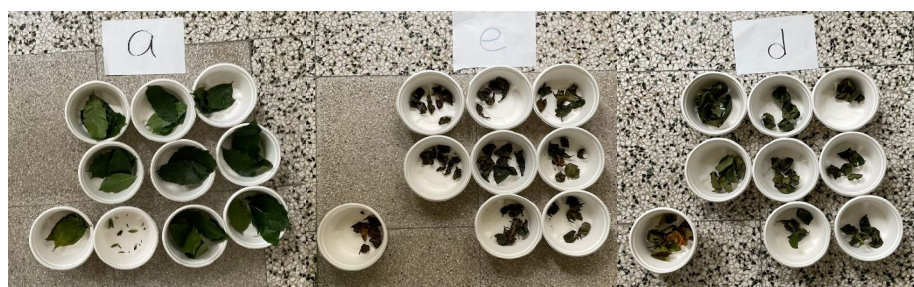


圖十一、實驗組實驗流程示意圖

實驗二：探討自製茶葉之咖啡葉萃取液對 α -澱粉酶活性之影響。

正如研究對象裡的描述，我們一共分五種製法（a~e），不過其中 b、c 製法是因我們一開始不清楚蠟質化咖啡葉是否能如茶樹葉般，日光萎凋後會軟化到能耐揉捻之力道，所以調動了製茶順序，而後我們五種茶葉都有製作成功，其中 **e 是最符合傳統製茶手法的**；d 比 e 少了布球揉的動作；a 比 e 少了揉捻及布球揉的動作，換言之 a、d、e 是遵照傳統製茶，但在揉製茶葉的作法上有所差異，因而我們的實驗二僅分析此三種製法，分別代表的實驗意義整理如下：**a 為「不揉」、d 為「揉捻」、e 為「布袋揉」**（參見圖十二）。另外，如同研究對象裡的描述，每一種咖啡葉的製法，我們都製作了至少 9 種葉子，比較特別的是 a 製法比其他兩種製法多了「嫩芽」葉，一來是嫩芽極為稀少，不適合做多種製法，二來是其本身極為小片且脆弱（如圖八、

十二 a 組最下排左邊數來第 2 個紙碗內），難以用 d、e 製法來處理，故在實驗二共分析了 28 種自製咖啡葉（a 組 10 種、d 組 9 種、e 組 9 種），其餘步驟仿照實驗一，因此不再贅述。



圖十二、a、e、d 自製葉

實驗三~七、探討咖啡葉萃取液中關鍵成分對 α -澱粉酶活性之影響

如同前言所述，我們擬探討咖啡葉萃取液中關鍵成分對 α -澱粉酶活性之影響，故須用純咖啡因、純綠原酸、純芒果苷、純槲皮素、純 EGCG 製作一系列濃度後，將關鍵成分置入澱粉澱粉酶及澱粉水溶液。簡而言之，就是將實驗一、二的咖啡葉萃取液換成純藥水溶液，其於步驟都相同。至於每一種純藥的濃度範圍，首先我們是找尋能以分光光度計法評估上述純藥水溶液之文獻，彙整如下：

$$(1) \text{ 咖啡因濃度 (ppm) } = 0.0456 \times \text{吸光值}_{276 \text{ nm}} + 0.0028 \quad (\text{王, 2019})$$

$$(2) \text{ 綠原酸濃度 (\%)} = \frac{\text{吸光值}_{500 \text{ nm}} - 0.0003}{0.9554} \quad (\text{Jaradat, 2016})$$

$$(3) \text{ 芒果苷濃度 (} \mu\text{g/mL) = } \frac{\text{吸光值}_{319 \text{ nm}} - 0.0244}{0.0397} \text{ (謝, 2010)}$$

$$(4) \text{ 槲皮素濃度 (} \mu\text{g/mL) = } \frac{\text{吸光值}_{415 \text{ nm}}}{0.046} \text{ (Khanal, 2023)}$$

$$(5) \text{ EGCG 濃度 (} \mu\text{g/mL) = } \frac{\text{吸光值}_{415 \text{ nm}}}{0.046} \text{ (Ibrahim, 2017)}$$

我們利用上述公式得知咖啡葉萃取液中，綠原酸濃度 0.73~71.91 mg/100 mL、咖啡因濃度 3.15~7.66 mg/100 mL、芒果苷濃度 4.62~42.79 mg/100 mL、槲皮素濃度 0.50~3.14 mg/100 mL、EGCG 濃度 0.85~7.61 mg/100 mL。

其中綠原酸在眾多廣告都宣稱極高，因此最高濃度訂在 100 mg/100 mL；咖啡因在食藥屬公告裡提及「咖啡葉咖啡因不超過 11 mg/100 mL」，但我們分析的濃度不高，因此我們實驗三最高濃度訂在 10 mg/100 mL；根據文獻指出溼重 1 g 咖啡葉內含有 90 ± 2 mg (陳, 2019)，因此最高濃度訂為 100 mg/100 mL；根據國外文獻指出 1 g 咖啡葉內含有槲皮素 2~14 mg (Patil, 2023)，但根據藥商賣的槲皮素說明書表示其難溶於水，所以我們實驗三最高濃度訂在 10 mg/100 mL；根據文獻指出溼重 1 g 咖啡葉內含有 EGCG 5.5~16.4 mg，考量曬乾過程會有損失，因此最高濃度訂為 10 mg/100 mL。綜合上述，我們彙整了實驗純藥濃度如下：

- (1) 咖啡因濃度：2、4、6、8、10 mg/100 mL。
- (2) 綠原酸濃度：20、40、60、80、100 mg/100 mL。
- (3) 芒果苷濃度：20、40、60、80、100 mg/100 mL。
- (4) 槲皮素濃度：2、4、6、8、10 mg/100 mL。
- (5) EGCG 濃度：2、4、6、8、10 mg/100 mL。

實驗八、探討上述影響澱粉酶活性因子之交互作用

根據實驗一到七的結果，讓我們懷疑上述關鍵因子彼此會交互作用，因此我們藉由實驗所測萃取液中的綠原酸、芒果苷、槲皮素、EGCG，從中挑選兩濃度（一高一低），兩兩排列組合來設計實驗，總共 2^4 個實驗組。

	綠原酸	芒果苷	槲皮素	EGCG
濃度	40	20	2	4
mg/ 100 mL	80	40	4	8

實驗九、探討不同沖泡溫度對 α -澱粉酶活性之影響

由於我們藉由上述實驗結果已確認若增加上述關鍵成分於萃取液中之濃度，可以增加抑

制澱粉酶的效果，加上我們購買咖啡葉茶包時，無小農、廠商或賣家可以告訴我們最佳的沖泡方式，故我們覺得值得研究以其他萃取溫度咖啡葉茶。參考科展文獻（曾等，2019）後，我們決定實驗以 80 °C 來萃取。

統計分析

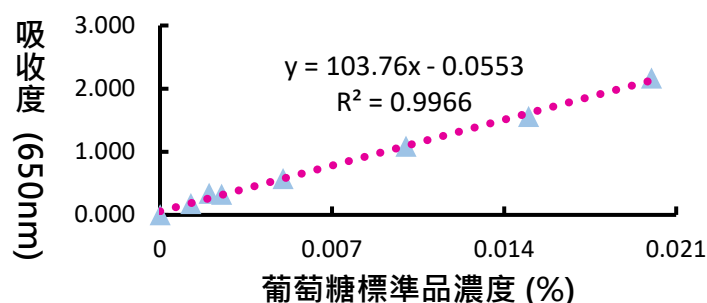
使用 SPSS 26 進行比較平均數檢定及 Pearson 相關性分析，並以 $p < 0.001$ 為顯著水準。

肆、研究結果

一、前置實驗：建立葡萄糖檢驗校正曲線

利用已知濃度之標準葡萄糖水溶液建立起葡萄糖檢驗校正曲線，根據圖十三結果顯示吸光度與葡萄糖濃度成正相關， $R^2=0.9966$ 具高可信度，故我們可由回歸方程式可得知所測樣本之葡萄糖濃度，其公式如下：

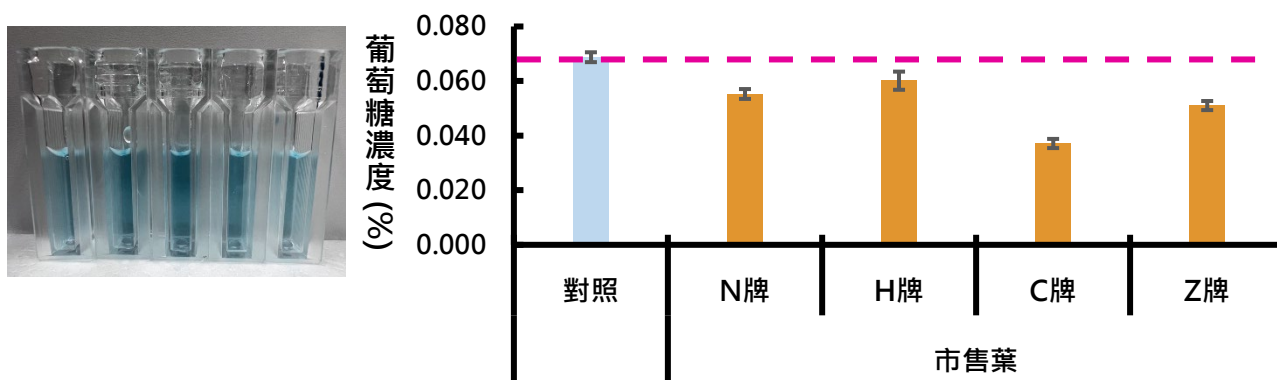
$$\text{所測樣本之葡萄糖濃度(\%)} = \frac{\text{吸收度}_{650\text{ nm}} - 0.0553}{103.76}$$



圖十三、葡萄糖濃度與吸光度 650 nm 之線性關係圖

二、實驗一：探討四種來源之咖啡葉萃取液環境中 α -澱粉酶之活性

為了解不同來源咖啡葉萃取液對澱粉酶活性的影響，我們選擇四種來源咖啡葉茶包，測量出澱粉酶在四種咖啡葉萃取液內葡萄糖產生量，結果呈現在圖十五。結果顯示對照組及四種不同來源咖啡葉 N、H、N、Z 之葡萄糖產生量分為 $0.069 \pm 0.002\%$ 、 $0.055 \pm 0.002\%$ 、 $0.060 \pm 0.003\%$ 、 $0.047 \pm 0.002\%$ 、 $0.051 \pm 0.002\%$ ，代表四種咖啡葉萃取液均顯著小於對照組 ($p < 0.001$)，即四種咖啡葉萃取液均有抑制澱粉酶的效果，且以 C 牌為最佳。



圖十五、澱粉酶於對照組及四種不同來源之咖啡葉萃取液環境中所產出的葡萄糖量

三、實驗二：探討自製茶葉之咖啡葉萃取液對 α -澱粉酶活性之影響

根據實驗一的結果，我們發現四種來源的咖啡液對澱粉酶活性的影響有所差異，因此如

同材料方法所述，我們懷疑是不同製茶方式所致，故延伸設計實驗二。

1. 不同位置的葉片

為了解來自不同位置的葉片來自製咖啡葉，其萃取液對澱粉酶活性的影響，我們測量出澱粉酶在 18 種咖啡葉萃取液內葡萄糖產生量，結果呈現在圖十六。結果顯示無論是 a 不揉組、d 揉捻組、e 布球揉組均呈現相同的趨勢，即澱粉酶在來自樹幹上方的葉片所自製的咖啡葉萃取液中產出葡萄糖量顯著較來自樹幹中、下方所自製的咖啡葉萃取液低，表示樹幹上方的葉片所自製的咖啡葉萃取液較對澱粉酶活性抑制效果較佳。

另外，澱粉酶在來自樹枝前端的葉片所自製的咖啡葉萃取液中產出葡萄糖量顯著較來自樹枝中、後端所自製的咖啡葉萃取液低，表示樹枝前端的葉片所自製的咖啡葉萃取液較對澱粉酶活性抑制效果較佳。

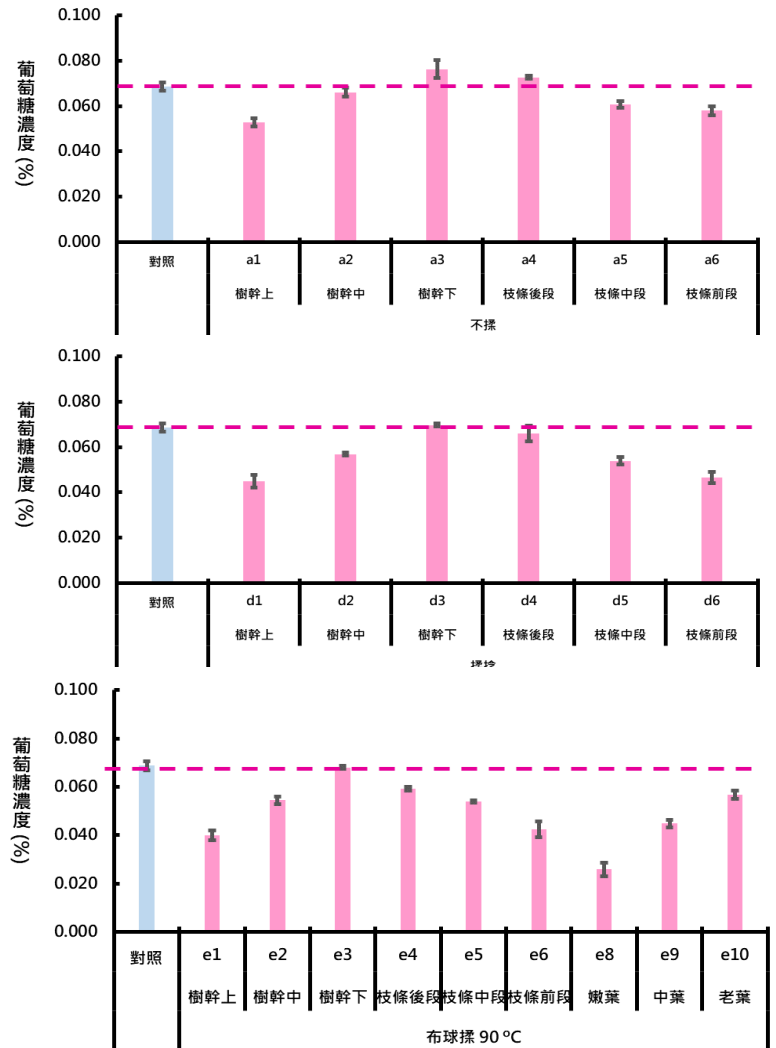
2. 不同成熟度的葉子

為了解來自不同成熟度的葉片來自製咖啡葉，其萃取液對澱粉酶活性的影響，我們測量出澱粉酶在 10 種咖啡葉萃取液內葡萄糖產生量，結果呈現在圖十七。結果顯示：

- (1) 澱粉酶在來自嫩葉所自製的咖啡葉萃取液中產出葡萄糖量顯著較來自中葉、老葉所自製的咖啡葉萃取液低，表示嫩葉所自製的咖啡葉萃取液較對澱粉酶活性抑制效果較佳。
- (2) 不揉的各種葉片產生葡萄糖均多於揉捻的各種葉片，而揉捻又少於布球揉的各種葉片，表示布球揉對澱粉酶活性抑制效果最佳。
- (3) 由植物的生長角度來看，嫩芽產生葡萄糖顯著高於嫩葉，表示當葉子尚未長成，會不利於對澱粉酶活性抑制能力；當葉子已長成後，隨著葉子細胞老化，其對澱粉酶活性抑制效果會變差。

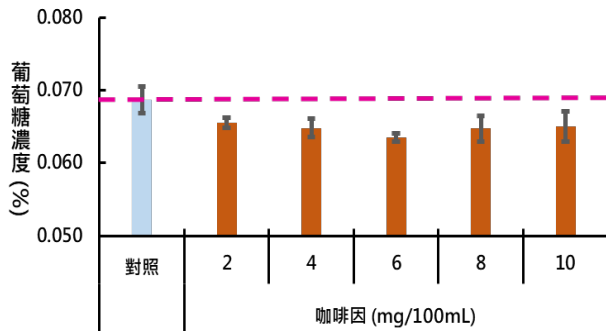
四、實驗三：探討不同純咖啡因濃度對 α -澱粉酶活性之影響

圖十八結果顯示，在五種純咖啡因濃度的環境中，葡萄糖產出量顯著少於對照組，不過五種濃度兩兩統計分析則無顯著差異，表示雖純咖啡因對澱粉酶具抑制效果，但抑制效果在

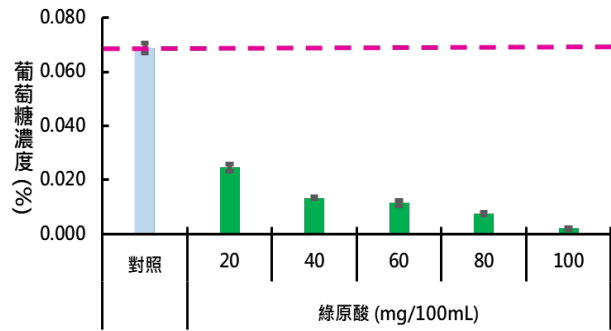


圖十六、澱粉酶於對照組及 18 種之自製咖啡葉萃取液環境中所產出的葡萄糖量

10 mg/100 mL 內不隨濃度變化。



圖十八、澱粉酶於對照組及一系列純咖啡因環境中所產出的葡萄糖量



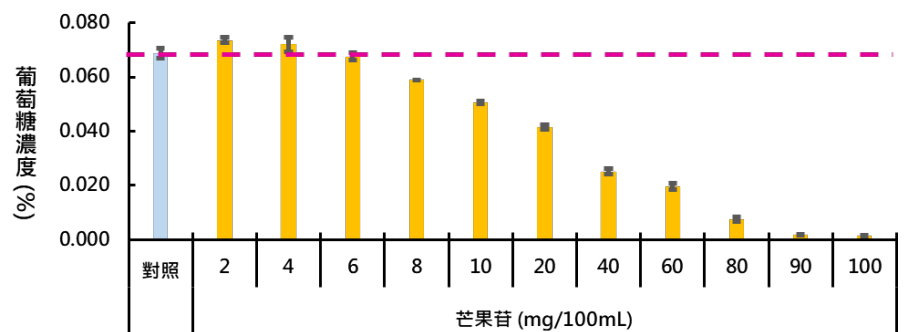
圖十九、澱粉酶於對照組及一系列純綠原酸環境中所產出的葡萄糖量

五、實驗四、探討不同純綠原酸濃度對 α -澱粉酶活性之影響

圖十九結果顯示，在五種純綠原酸濃度的環境中，葡萄糖產出量明顯少於對照組，推測在 20~100 mg/100 mL 濃度範圍中，綠原酸對澱粉酶具抑制效果，且抑制效果與綠原酸濃度成正相關。

六、實驗五、探討不同純芒果苷濃度對 α -澱粉酶活性之影響

為了解純芒果苷濃度對於澱粉酶活性的影響，我們在實驗之初設計擬調製 20、40、60、80、100 mg/100 mL 純芒果苷濃度的環境條件，然而在操作時，我們在溶解芒果苷時遇到了瓶頸，但由於我們的實驗藥劑成本不斐，因此當下先改做 2、4、6、8、10 mg/100



圖二十、澱粉酶於對照組及一系列純芒果苷環境中所產出的葡萄糖量

mL 純芒果苷濃度，而後我們找了相關資料，芒果苷屬於難溶於水，一般在水中溶解度為 10 mg/100 mL，不過文獻指出在 105 °C、密閉的條件下振搖可大幅提高芒果苷濃度至 4000 倍，且降溫後仍是透明清澈的液體，不會有結晶析出（鄧等，2006），所以我們後改將芒果苷搭配攪拌子與磁石加熱去溶解，成功溶出較高純芒果苷濃度如圖二十。結果顯示，在十一種純芒果苷濃度的環境中，2、4、6 mg/100 mL 葡萄糖產出量與對照組無顯著差異，其於另八種濃度均有達顯著標準，推測在 8~100 mg/100 mL 濃度範圍中，芒果苷對澱粉酶具抑制效果，且其濃度越高抑制效果越佳。



圖二十一、下方有槲皮素無法溶解

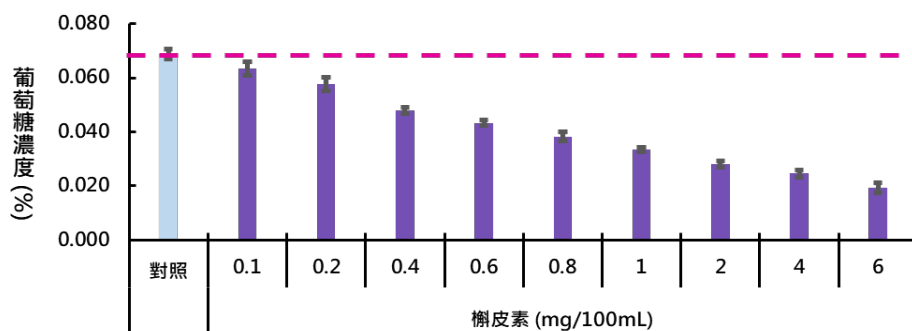
七、實驗六、探討不同純槲皮素濃度對 α -澱粉酶活性之影響

如同溶解芒果苷遇到了瓶頸，所以我們先進行 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mg/100 mL 濃度實驗。查閱中文文獻有提到其難溶於水，但對於難溶水的定義模糊，我們後來找到國外文獻顯示在 70 °F 可溶小於 1 mg/mL，及在 25 °C 可溶 0.215 mg/mL at 25 °C、140 °C 可溶 0.665 g/L（PubChem 網站；Srinivas, 2010）基於有前面處理芒果苷的經

驗，我們嘗試以相同方式溶解槲皮素，之後發現 8 mg/100 mL 我們即便加熱四小時以上，也無法將其完全溶解（如圖二十一，仍有沉澱物），故我們後續僅做 2、4、6 mg/100 mL。

我們測量出澱粉酶在九種純槲皮素濃度下葡萄糖產生量，結果呈現在圖二十二。

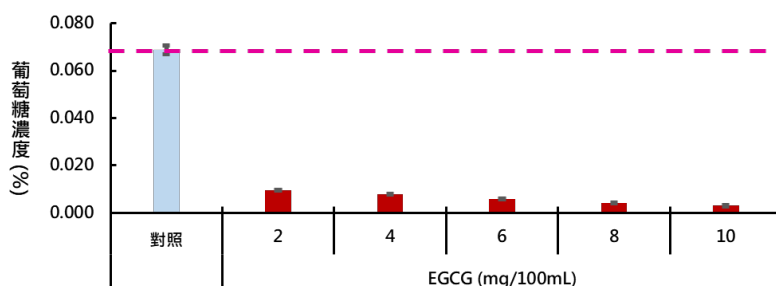
結果顯示，葡萄糖產出量顯著少於對照組，推測在 0.1~6 mg/100 mL 濃度範圍中，槲素對澱粉酶具抑制效果，且抑制效果與槲皮素濃度成正相關。



圖二十二、澱粉酶於對照組及一系列純槲皮素環境中所產出葡萄糖量

八、 實驗七、探討不同純 EGCG 濃度對 α -澱粉酶活性之影響

為了解純 EGCG 濃度對於澱粉酶活性的影響，我們分別調製 2、4、6、8、10 mg/100 mL 不同純 EGCG 濃度的環境條件，後將澱粉酶置入其中反應，測量出澱粉酶在五種純 EGCG 濃度下葡萄糖產生量，結果呈現在圖二十三。結果顯示，在五種純 EGCG 濃度的環境中，葡萄糖產出量明顯少於對照組，推測在 2~10 mg/100 mL 濃度範圍中，EGCG 對澱粉酶具抑制效果極佳。

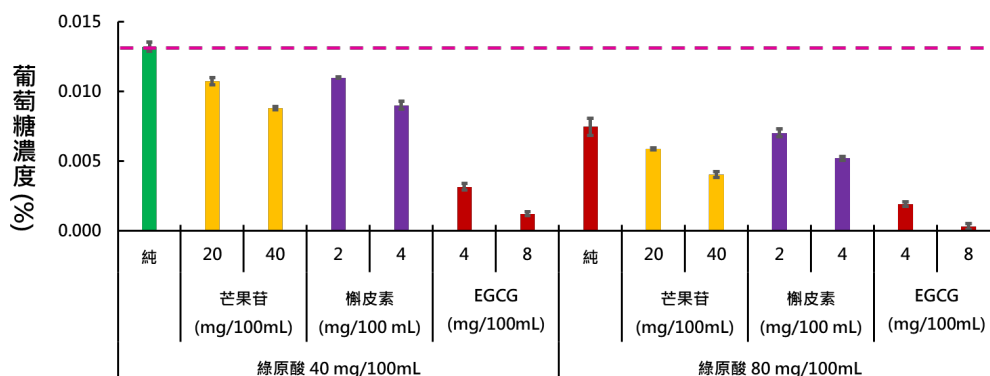


圖二十三、澱粉酶於對照組及一系列純 EGCG 環境中所產出葡萄糖量

九、 實驗八、探討上述影響澱粉酶活性因子之交互作用

1. 綠原酸

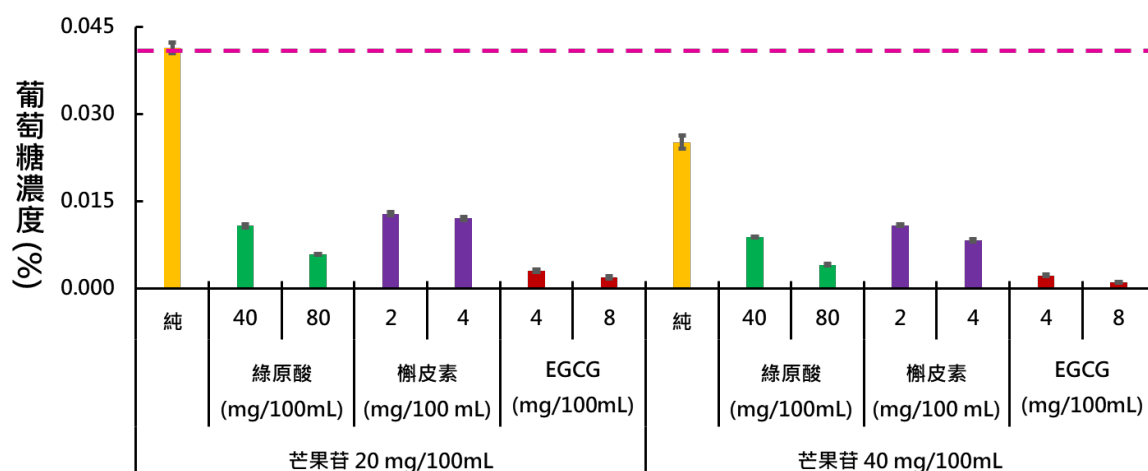
圖二十四結果顯示，綠原酸無論濃度為 40 或 80 mg/100 mL 均在有芒果苷、槲皮素、EGCG 環境中，都能產生較少葡萄糖，代表芒果苷、槲皮素、EGCG 都與綠原酸有協同作用。



圖二十四、綠原酸 40 及 80 mg/100 mL 加入純芒果苷、純槲皮素、純 EGCG

2. 芒果苷

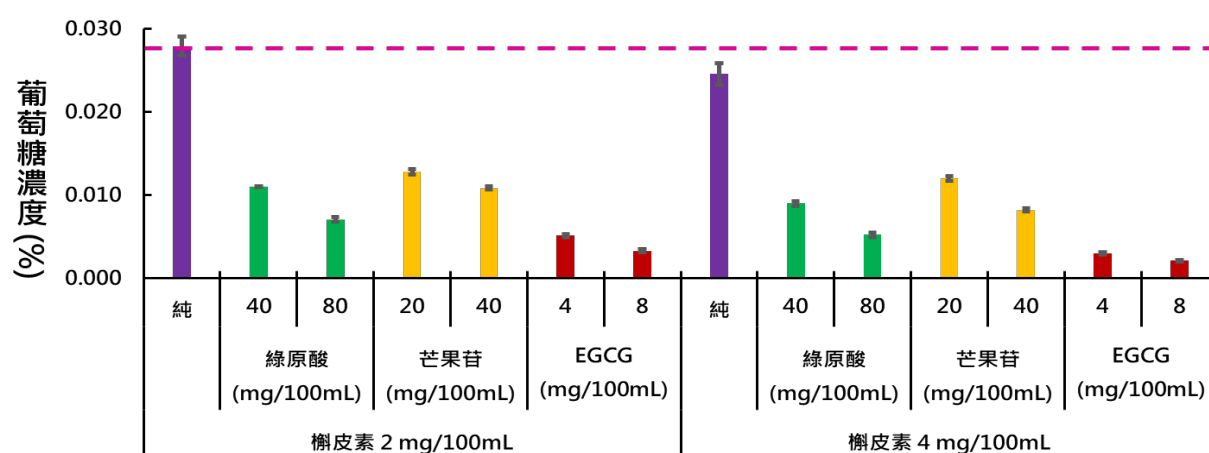
圖二十五結果顯示，芒果苷無論濃度為 20 或 40 mg/100 mL 均在有綠原酸、槲皮素、EGCG 環境中，都能產生較少葡萄糖，代表綠原酸、槲皮素、EGCG 都與芒果苷有協同作用。



圖二十五、芒果苷 20 及 40 mg/100 mL 加入純綠原酸、純槲皮素、純 EGCG

3. 槲皮素

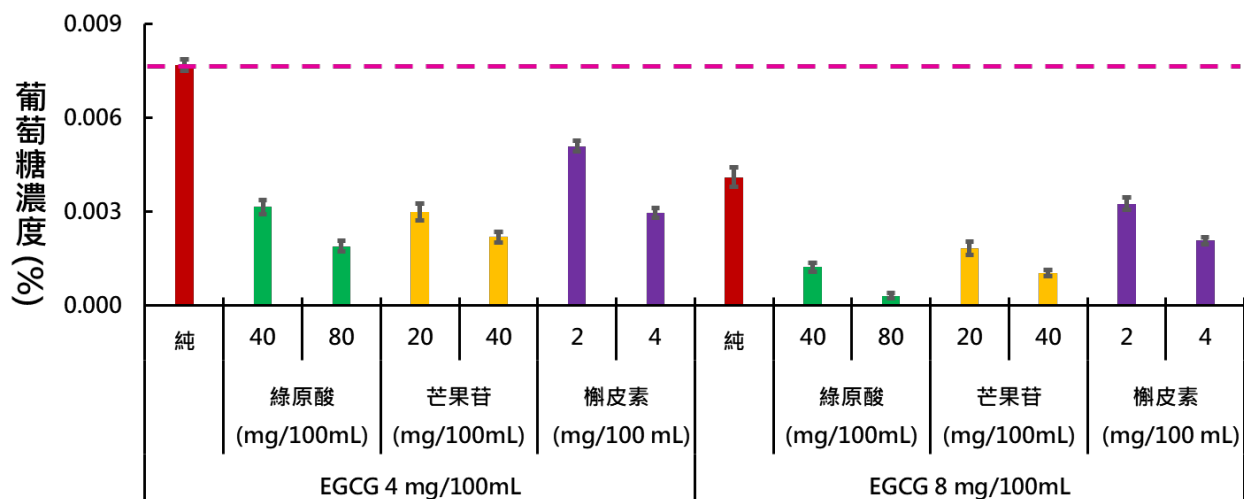
圖二十六結果顯示，槲皮素無論濃度為 2 或 4 mg/100 mL 均在有綠原酸、芒果苷、EGCG 環境中，都能產生較少葡萄糖，代表綠原酸、芒果苷、EGCG 都與槲皮素有協同作用。



圖二十六、槲皮素 2 及 4 mg/100 mL 加入純綠原酸、純芒果苷、純 EGCG

4. EGCG

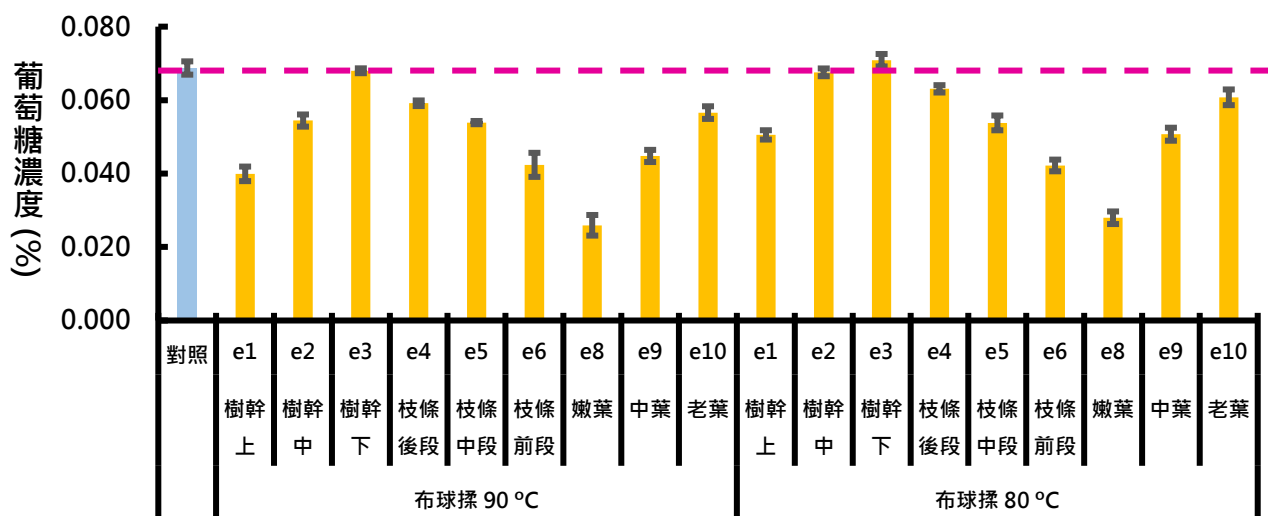
圖二十七結果顯示，無論 EGCG 濃度為 4 或 8 mg/100 mL 均在有綠原酸、芒果苷、EGCG 環境中，都能產生較少葡萄糖，代表綠原酸、芒果苷、槲皮素都與槲皮素有協同作用。



圖二十七、EGCG 4 及 8 mg/100 mL 加入純綠原酸、純芒果苷、純槲皮素

十、實驗九、探討不同沖泡溫度對 α -澱粉酶活性之影響

圖二十八結果顯示，80°C 所沖泡之萃取液較無抑制澱粉酶的效果，顯示 90°C 對咖啡葉茶是較佳的沖泡溫度。



圖二十八、兩種沖泡溫度下之葡萄糖濃度

伍、討論

我們的實驗估算葡萄糖濃度的方式為，剛開始展開我們的實驗時，初步幾次操作酵素法都遭遇瓶頸，後來屢經多次失敗發現此法有部分關鍵步驟，很需要穩定的實驗技巧，且速度要夠快，否則會導致樣本無法分析，所以我們花了一段時間反覆練習。

根據實驗一結果顯示四種來源之咖啡葉萃取液均有抑制澱粉酶之效果，其中以 C 牌抑制效果最佳。然而從圖十中，肉眼顯而易見按相同沖泡萃取方式所得之咖啡葉萃取液顏色差異頗大，故推測四種萃取液成分及其佔比會有所差異，且可能來自於其製法、發酵程度或方式所致，因而我們設計了實驗二，嘗試以不同方法製葉，再比較是否會影響到抑制澱粉酶的效

果。

倘若我們同時繪製各萃取液透過分光光度計所分析出的綠原酸、芒果苷、咖啡因、槲皮素、EGCG 濃度折線圖與澱粉酶在其中產出的葡萄糖濃度圖（圖二十九），可以發現 28 種自製茶中以 **e8「揉捻、布球揉、解塊製作咖啡嫩葉」抑制效果最好**；a3「不揉製作咖啡樹下方葉」抑制效果最差，代表揉捻、布球揉、解塊有助於提高對澱粉酶的抑制效果。臺大農藝系觀點種子網站上寫明「傳統製茶法中發酵程度與揉捻時釋出茶汁之多少成比例關係」，若此過程進行中對葉子加大施予的壓力、時間，葉細胞破碎之數量愈多，破碎之程度亦愈深，而茶汁之釋出愈多，發酵程度亦愈深。因此我們可以推理，**發酵程度：e 布球揉組 > d 揉捻組 > a 不揉組**，則結合實驗二的結果來看，**發酵程度越高則對澱粉酶抑制效果越佳**。

然而我們的 a 不揉組雖看似發酵程度較輕，但它仍跟綠茶有所差異，一來咖啡葉原本內部成分就有綠茶不同，二來起初我們設計實驗時，希望五組的歷程除了操作變因（揉捻程度）之外均一致，所以我們每個製茶步驟若改變環境（如室內或室外；陰暗處或曬太陽）則都一併改變，因此我們也不像綠茶，很早就加熱殺菁破壞內部的酵素。

由於研究咖啡葉茶，我們難免會好奇它的口感，也樂於跟周圍師長好友分享。大多數人喝起來會形容味道像似紅茶或普洱茶，在查閱了相關文獻，其中一篇有提及咖啡葉茶經發酵後仍然保有水楊酸甲酯（Methyl salicylate），所以會有中藥草氣味，莫怪有人覺得像普洱茶；另一方面咖啡葉茶隨著發酵，其芳香族類之化合物及衍生物會增加，具有花香及甜果香味，此部分與紅茶香氣分析中主要可見之成分有所重疊（余，2015）。

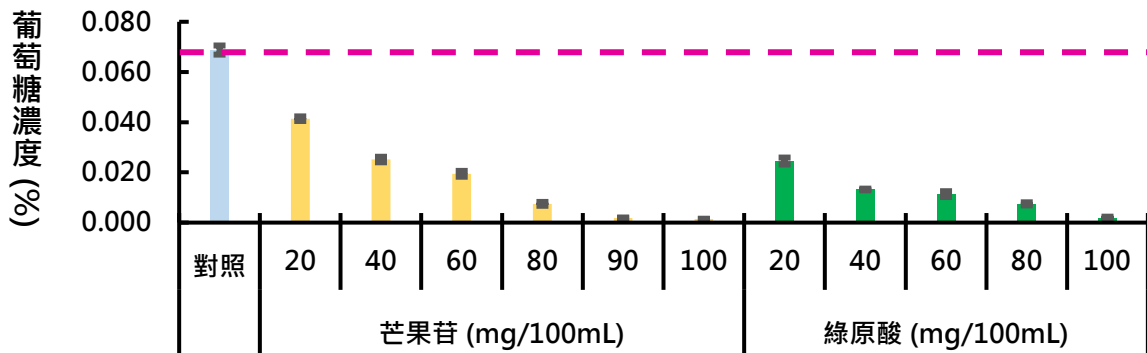
實驗一及二共測了 28 組樣本（每組五~六重複）及四種市售茶，後加上實驗九用 80 °C 測了 e 組及市售茶。我們將各組數據與用分光光度計所估計出的萃取液中的咖啡因、綠原酸、芒果苷、槲皮素及 EGCG 進行相關性分析。**僅綠原酸、芒果苷與樣本葡萄糖濃度呈顯著負相關**，相關係數分別為 -0.466、-0.723（ $p = 0.001$ 、 $p < 0.001$ ），顯示此兩者對澱粉酶有抑制效果。不過依照文獻多提到槲皮素與 EGCG 有助於控制血糖，所以我們仍舊進行實驗六及七，且亦證實槲皮素與 EGCG 對澱粉酶有抑制效果，不過因槲皮素對澱粉酶的抑制效果不及綠原酸、芒果苷及 EGCG，加上各組實驗組的槲皮素濃度差異不大，這可能是造成先關性不顯著的原因；而 EGCG 可能因為咖啡葉茶的發酵較似於紅茶，所以萃取液的 EGCG 量濃度不高，導致對澱粉酶抑制效果被綠原酸及芒果苷掩蓋。

根據相關性分析，我們已知咖啡因對澱粉酶活性影響不大，諸多廣告及宣傳文獻都有大力介紹咖啡葉內咖啡因含量不及咖啡豆，所以我們不禁想會不會是因為少，所以影響相關性分析之結果，所以我們進行了實驗三，最終確認咖啡因對澱粉酶的抑制效果不佳。

如同前述，我們透過相關性分析已找出綠原酸與芒果苷，但我們也想更具體量化兩者的抑制效果。故進行實驗四及五。根據圖二十九可得知同濃度下，綠原酸的抑制效果優於芒果苷。

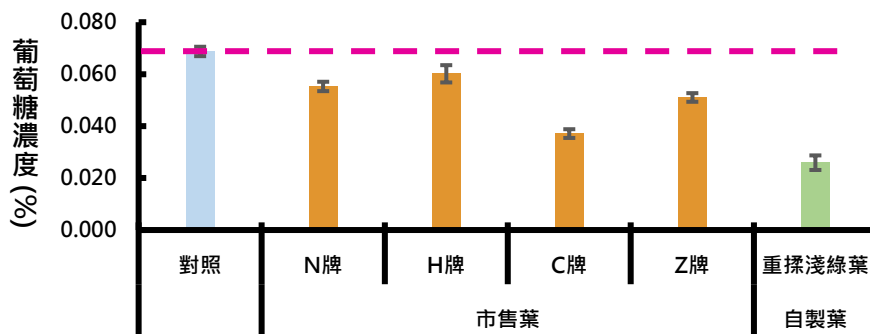
在找出四種化學物質會影響到澱粉酶的活性後，我們不禁想它們彼此之間或許會彼此影響，如同文獻中指出無論實驗參與者是否有攝取咖啡因，同時有兒茶素與綠原酸之作用下都有助於管理空腹血糖，減少罹患糖尿病的機率（Zheng, 2009），故我們設計了實驗八，且也得到了論證綠原酸、芒果苷、槲皮素、EGCG，兩兩之間都有協同作用，推測它們之所以可

以抑制澱粉酶是因為它們改變了澱粉酶的結構，所以才有關於柿單寧的文獻中指出，當有柿單寧的存在會增加澱粉酶中的 α -螺旋結構，相反地 β -轉角會減少（姚，2017）。另一方面，我們覺得有協同作用可能是因為它們影響澱粉酶結構之部位不同所致。



圖二十九、澱粉酶於對照組及一系列純綠原酸和純芒果苷環境中所產出的葡萄糖

在了解咖啡葉中五種化學成分後，我們回頭以另一個角度看實驗二的結果，不同葉子的來源及成熟度（顏色）影響它們內部的化學物質，進而影響對澱粉酶活性的抑制效果。雖然我們不知道實際影響的機制為何，但其他文獻中亦有紀錄到咖啡嫩葉較成熟葉有較多的芒果苷、咖啡因及兒茶素，且綠原酸的含量也與光合作用有正相關（Montis, 2021；Ratanamarno, 2017；Sheen, 1973）。



圖三十、四種市售茶與抑制效果最好之自製茶葡萄糖產量之比較圖

陸、未來研究與展望

一、應用

倘若將我們自製咖啡葉茶與四種市售咖啡葉茶包共同比較對澱粉酶的抑制效果（如圖三十），可以看出由嫩葉所製的咖啡葉茶有較好的抑制效果。正如前面所述，我們也樂於跟師長們分享，後來也得到師長們的回饋，有師長為第二型糖尿病患者，因此平時有監測血糖的習慣，他跟我們分享最近他每日飯後飲用我們所製的咖啡葉，讓他的血糖比以往更穩定。身為研究者而言，這個回饋讓一切的辛苦顯得很值得。

但就現實層面來說，用嫩葉所製的咖啡葉很難商業化，因為要人工採摘挑選，且勢必產量少，商業價值有限。因此我們認為，最簡易的操作莫過於家中自行栽種咖啡樹盆栽，平時

可以自行採摘嫩葉放於布袋中，在與家人聊天或看影片時，手同時能一邊揉捻袋中葉子，之後自行曬乾、沖泡來喝，此一小小行動，不僅有利於健康且增進家人相處時間，實屬一舉數得。

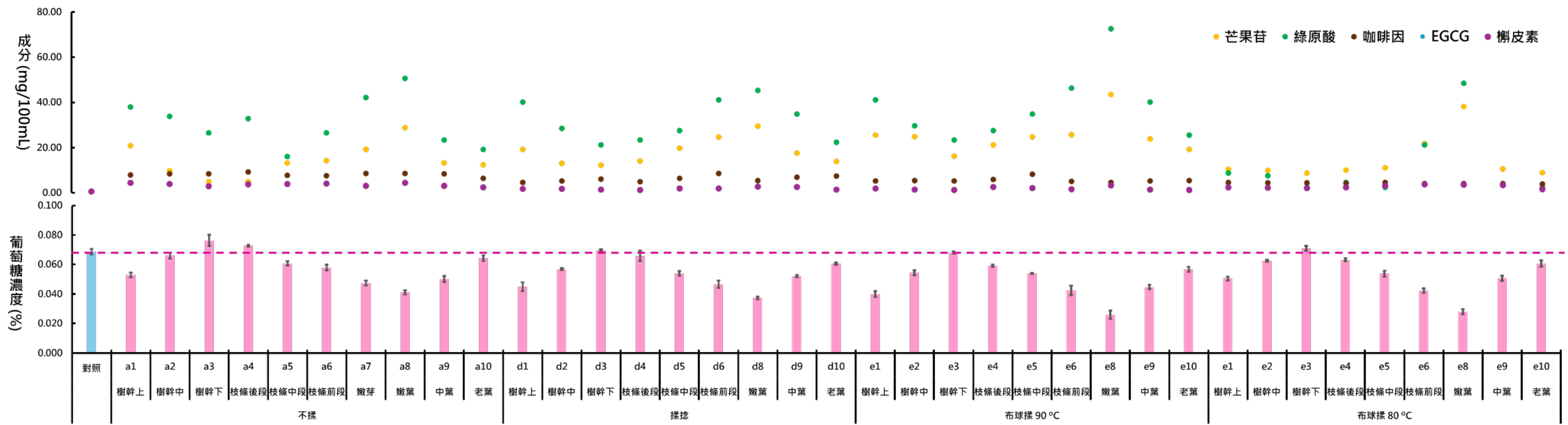
二、未來研究方向

在設計實驗八時，我們因為受限於科展時程、平衡課業，以及實驗藥品的成本，我們每組實驗僅使用兩種純藥，但其實還有微量的咖啡因被我們排除在外。不過多數同時存有在某些化學物質的飲品，比如茶樹茶葉、咖啡豆等，往往在某些化學物質都免不了跟咖啡因共同作用，所以未來有機會，或許可以加入兩種濃度咖啡因當背景值，探討同時三者交互作用之情形。再者，可以試著藉由化學結構分析，找出上述能抑制澱粉酶之化學物質，實際對澱粉酶結構上的影響，也是值得未來更進一步的探討。

柒、結論

- 一、市售茶以 C 牌抑制澱粉酶效果最佳。
- 二、咖啡葉生長的位置及成熟度對澱粉酶活性有影響，其中以嫩葉抑制效果最佳。
- 三、咖啡因濃度 10 mg/100 mL 以內對澱粉酶抑制效果有限。
- 四、芒果苷、綠原酸、槲皮素和 EGCG 均為濃度越高，抑制澱粉酶效果越好。
- 五、芒果苷、綠原酸、槲皮素和 EGCG，都具有協同作用。
- 六、自製咖啡葉效果以「嫩葉」抑制效果最佳。

版權聲明：本作品書的圖表，均為作者自行拍攝或繪製，唯獨第 13 頁有使用 ChemSpider 網站部分素材加以編輯。



圖三十一、澱粉酶於對照組及 28 種自製茶環境中所產出的葡萄糖量

捌、參考資料及其他

- 觀點種子網（前：種子研究室網站）（年代不詳）。揉捻之學理。臺大農藝系，2024年6月9日取自 <http://seed.agron.ntu.edu.tw/civilisation/student/tea1/05.html>
- 謝梅冬、鄒步珍、鄒煜、鍾旭倩（2010）紫外分光光度法測定芒果葉提取物中的芒果苷的含量。廣西農業科學，41（9）：968-970。
- 賴金泉、王昭君（2021）3-2 醣類。食品化學與分析（下）p.20-24，台科大圖書出版，新北市。
- 蕭廷宇（2018）。綠茶中多酚兒茶素之抗糖化功效評估。〔碩士論文。國立嘉義大學〕臺灣博碩士論文知識加值系統。取自 <https://hdl.handle.net/11296/5yu287>。
- 鄧家剛、黃慧學、楊柯、梁秋雲（2014）一種芒果苷注射液及其製備方法。專利申請文件。
- 蔡幸紘、陳炳伸、黃祥偉（2014）喝茶？找碴？—單寧酸和茶的異想世界。中華民國第59屆中小學科學展覽會化學科國小組。
- 蔡宗諺（2020）明「茶」秋毫—應用亞甲基藍溶液吸光度變化率測定方法探討水果、茶及水果茶抗氧化力之研究。中華民國第60屆中小學科學展覽會化學科高級中等學校組，取自 <https://reurl.cc/ZyRn8Q>。
- 蔡友潔、秦東彬、吳佳穎、杜采倖、徐榮宏、林巧昀（2014）爺爺泡的茶—飲料與油脂吸附的關係。中華民國第54屆中小學科學展覽會生活與應用科學科國小組，取自 <https://reurl.cc/dmdrny>。
- 潘廣安、連侑軒、蔡閎任（2021）明「茶」秋毫...「破壞」手搖茶飲抗氧化力因子（兒茶素、咖啡因、茶胺酸）之探討。中華民國第61屆中小學科學展覽會化學科國中組，取自 <https://reurl.cc/q09DaR>。
- 農傳媒（2017）是咖啡，也是茶！高雄場成功開發機能性「咖啡葉茶」。2023/10/13 取自 <https://reurl.cc/80mMVy>
- 楊美珠（2018）。茶葉兒茶素之代謝機制與生物活性。〔博士論文。國立臺灣大學〕臺灣博碩士論文知識加值系統。<https://hdl.handle.net/11296/t6jx5p>。
- 楊俊宏、陳幸彰、張淑芬、劉千如、蔡韙任（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。2023年12月5日，取自 <https://reurl.cc/YV17vO>
- 黃騰鋒、劉銘純（2011）茶葉布球揉捻程序及次數影響品質之研究。台灣茶葉研究彙報（30）p.55-62。
- 黃冠維、張原嘉（2018）暗箱來找「茶」—利用自製暗箱偵測溶液的抗氧化能力。中華民國第58屆中小學科學展覽會化學科高級中等學校組，取自 <https://reurl.cc/jvXdmq>
- 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化學科國中組，取自 <https://reurl.cc/Wve4W5>

- 硬性格 (2023) 咖啡豆品種介紹 - 阿拉比卡、羅布斯塔、賴比瑞亞。2023/10/3 取自 <https://reurl.cc/WR9Qgy>
- 曾鎧勳、葉紫婷、袁政宏 (2019) 不夜侯的鐵血韃情。中華民國第 59 屆中小學科學展覽會化學科國中組，取自 <https://reurl.cc/r6zl01>
- 曾鎧勳、葉紫婷、袁政宏 (2014) 喝茶？找碴？—單寧酸和茶的異想世界。中華民國第 54 屆中小學科學展覽會化學科國小組，取自 <https://reurl.cc/dmdrny>
- 陳誌成 (2019)。探討不同咖啡品種樹葉之總抗氧化力及芒果苷與綠原酸含量。〔碩士論文。中原大學〕臺灣博碩士論文知識加值系統。 <https://hdl.handle.net/11296/5n5qug>。
- 陳邦基 (2014) 喝杯咖啡好嗎？2023 年 12 月 1 日，取自 <https://reurl.cc/K4kKbe>
- 郭秉翰、周立珣 (2023) 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。中華民國第 63 屆中小學科學展覽會生活與應用科學科 (二) 國中組。
- 張隆仁 (2003) 槲皮素 (quercetin)。臺中區農業專訊 43 (11)。
- 張淑芬 (2020) 喝咖啡到底抗發炎、還是讓體內發炎更嚴重？2023/9/28 取自 <https://reurl.cc/L4GroL>
- 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 12 月 3 日，取自 <https://www.mohw.gov.tw/cp-5012-57459-1.html>
- 洪逸安 (2019)。EGCG 對表兒茶素光解過程穩定性的影響。〔碩士論文。銘傳大學〕臺灣博碩士論文知識加值系統。取自 <https://hdl.handle.net/11296/t37peg>。
- 柯振中 (2023) 每天喝茶「降低糖尿病風險」！醫師曝 6 大好處：還能抗癌減重。2023 年 12 月 15 日，取自 <https://reurl.cc/Z9OaWg>
- 姚芬 (2017) 柿單寧對澱粉酶消化特性的影響及其機制研究。武漢華中農業大學。
- 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 12 月 3 日，取自 <http://nehrc.nhri.org.tw/foodsafety/news.php?id=153>
- 林聖雅 (2016)。超臨界二氧化碳抗溶沉澱純化及微粒化咖啡葉之生物活性成分。〔碩士論文。中國醫藥大學〕臺灣博碩士論文知識加值系統。 <https://hdl.handle.net/11296/43w3st>。
- 周佩萱 (2014)。槲皮素複合補充劑對高脂飲食誘導肥胖大鼠之不易形成體脂肪作用及其分子機制探討。〔碩士論文。中山醫學大學〕臺灣博碩士論文知識加值系統。 <https://hdl.handle.net/11296/vyrhg2>。
- 李穎宏、陳正敏、林怡如 (2015) 咖啡葉機能成分及加工應用。2023 年 12 月 3 日，取自 <https://reurl.cc/lgVkev>。
- 李雅琪 (2022)。愛文芒果果泥發酵液之生理活性及保健效能開發。〔碩士論文。國立嘉義大學〕臺灣博碩士論文知識加值系統。 <https://hdl.handle.net/11296/zc8hnn>。

- 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。2023 年 12 月 3 日，取自 <https://reurl.cc/Z9OabV>。
- 李亭諄、陳毓茹 (2007) 澱粉酶抑制劑之研究。國際科展生物化學科高級中等學校組，取自 <https://reurl.cc/D45kME>。
- 吳筱翎 (2021) 一口入喉，回甘又心安《咖啡葉茶》系列專題。2023 年 12 月 15 日，取自 <https://reurl.cc/lgVkv1>。
- 吳振鐸、葉速卿 (1978) 半發酵茶製造過程中茶主要成分化研究。台灣省茶業改良場 67 年年報：80-82。
- 余明妙 (2015)。咖啡葉茶製造技術開發。〔碩士論文。國立屏東科技大學〕臺灣博碩士論文知識加值系統。 <https://hdl.handle.net/11296/pdt4f3>。
- 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。2023 年 12 月 1 日，取自 <https://reurl.cc/RW4nbG>。
- 石燕鳳 (年份不詳) 綠原酸的應用及分析。2023 年 12 月，取自 <https://reurl.cc/09ogXk>。
- 甘子能 (1985) 製茶原理的生化觀。食品工業 17 (7):25-37。
- 甘子能 (1984) 茶葉化學入門。台灣茶業改良場林口分場編印。
- 古邁茶園：製茶過程。2024/2/3 取自 <https://reurl.cc/zl9REa>。
- 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。
- Tritsch, N., Steger, M. C., Segatz, V., Blumenthal, P., Rigling, M., Schwarz, S., Zhang, Y., Franke, H., & Lachenmeier, D. W. (2022). Risk Assessment of Caffeine and Epigallocatechin Gallate in Coffee Leaf Tea. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(3), 263. <https://doi.org/10.3390/foods11030263>
- Sheen S. J. (1973). Correlation between Chlorophyll and Chlorogenic Acid Content in Tobacco Leaves. *Plant physiology*, 52(5), 422–426. <https://doi.org/10.1104/pp.52.5.422>
- Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. M., & Saura-Calixto, F. (2009). Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular nutrition & food research*, 53 Suppl 2, S310–S329.
- Ratanamarno S., Surbkar S. (2017) Caffeine and catechins in fresh coffee leaf (*Coffea arabica*) and coffee leaf tea. *Maejo Int. J. Sci. Technol.* 11:211–218.
- Patil, S., Shankar, S. R., & Murthy, P. S. (2023). Impact of different varieties and mature stages on phytochemicals from *Coffea arabica* and *Coffea robusta* leaves. *Biochemical Systematics and Ecology*, 110, 104699.
- Oyedemi, S. O., Nwaogu, G., Chukwuma, C. I., Adeyemi, O. T., Matsabisa, M. G., Swain, S. S., & Aiyegoro, O. A. (2020). Quercetin modulates hyperglycemia by improving the pancreatic antioxidant status and enzymes activities linked with glucose metabolism in type 2 diabetes model of rats: In silico studies of molecular interaction of quercetin with hexokinase and catalase. *Journal of food biochemistry*, 44(2), e13127.

- Nathanson JA. (1984) Caffeine and related methylxanthines: possible naturally occurring pesticides. *Science*. Oct 12;226(4671):184-7.
- Monteiro, Â., Colomban, S., Azinheira, H. G., Guerra-Guimarães, L., Do Céu Silva, M., Navarini, L., & Resmini, M. (2019). Dietary Antioxidants in Coffee Leaves: Impact of Botanical Origin and Maturity on Chlorogenic Acids and Xanthones. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(1), 6.
- Maria T S Trevisan, Ricardo Farias de Almeida, Gabriela Soto, Elias De Melo Virginio Filho (2016) Quantitation by HPLC-UV of Mangiferin and Isomangiferin in Coffee (*Coffea arabica*) Leaves from Brazil and Costa Rica After Solvent Extraction and Infusion. *Food Analytical Methods* 9(9):1-7.
- Komorita, Y., Iwase, M., Fujii, H., Ohkuma, T., Ide, H., Jodai-Kitamura, T., Yoshinari, M., Oku, Y., Higashi, T., Nakamura, U., & Kitazono, T. (2020). Additive effects of green tea and coffee on all-cause mortality in patients with type 2 diabetes mellitus: the Fukuoka Diabetes Registry. *BMJ open diabetes research & care*, 8(1), e001252.
- Kiskini, A., Vissers, A., Vincken, J. P., Gruppen, H., & Wierenga, P. A. (2016). Effect of Plant Age on the Quantity and Quality of Proteins Extracted from Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) Leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(44), 8305-8314.
- Khanal, L. N. (2023). Evaluation of Antioxidant Capacity of Methanol Extracts of Leaf and Stem Bark of *Tinospora Cordifolia*. *Prithvi Journal of Research and Innovation*, 5(1), 102–113.
- Khan, N., & Mukhtar, H. (2018). Tea Polyphenols in Promotion of Human Health. *Nutrients*, 11(1), 39.
- Keerthi Srinivas, Jerry W. King, Luke R. Howard, Jeana K. Monrad (2010) Solubility and solution thermodynamic properties of quercetin and quercetin dihydrate in subcritical water. *Journal of Food Engineering*, V100 (2): 208-218.
- Kalra, G., Bhatla, S.C. (2018). Senescence and Programmed Cell Death. In: *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer, Singapore.
- Jaradat, N.A., Zaid, A.N. & Hussein, F. (2016). Investigation of the antiobesity and antioxidant properties of wild *Plumbago europaea* and *Plumbago auriculata* from North Palestine. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 3, 31.
- Ibrahim Y.M., Aminu Musa, Yakasai I.A. (2017). Spectrophotometric Method for Determination of Catechins in Green Tea and Herbal Formulations. *Nig. Journ. Pharm. Sci.*, March, 2017, Vol. 16 No.1, p.25-30.
- Chen X. (2019). A review on coffee leaves: Phytochemicals, bioactivities and applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(6), 1008–1025.
- Bate-Smith, E. C., Swain, T., in: Florkin, M., Mason, H. S. (Eds.), *Flavonoid compounds*, Academic Press, New York 1962, pp. 75-809.
- Andrea Montis , Florence Souard , Cédric Delporte , Piet Stoffelen , Caroline Stévigny , Pierre Van AntwerpenPlan. (2021). Coffee Leaves: An Upcoming Novel Food? *Planta Med.* 87(12/13): 949-963.

【評語】 032910

本件作品從歷屆科展的茶相關主題到論文搜尋，作了相當的文獻探討，解釋研究咖啡葉萃取物的重要性以及可行性，產生出本作品的主題，體現科學探索的步驟。作品中從材料的選取到研究條件的決定，至製茶的步驟都有清楚的描述，其中自行以咖啡葉製茶的轉折也展現其研究的精神和解決問題的能力。以下建議供同學參考：

1. 作品說明書第 16 頁對於槲皮素濃度與 EGCG 濃度均使用 415 nm 的吸光值，如何能分辨兩種物質？且對於同一個溶液中，固定的 0.046 的換算值，如何能得到不同的濃度？（海報上有更正 EGCG 所使用的函數）。
 - a. 經查，EGCG 吸收應在 274 nm，定量函數應為（吸光值 +0.0279）/0.1349 mg/mL。此外，文獻上量測的範圍僅在 2-10 mg/mL 即 200-1000 mg/100mL，作品報導的 0.85-7.61 與量測的 2-10 mg/100mL 遠在該定量線範圍之外。
 - b. 咖啡因部分，除了文獻上常數為 0.028 而作品顯示 0.0028 之外，原函數依慣例應為「吸光值=0.0456×濃度+0.028」，故作品應使用（吸光值-0.028）/0.0456。此外，該函數僅適用於

1. 0-40.0 mg/L，即 0.10-4.00 mg/100mL，作品報導的 3.15-7.66 與量測的 2-10 mg/100mL 大部分已超出可用範圍。
- c. 綠原酸部分，作品提供的函數在該文獻上為 tannin (鞣質或單寧)的函數，且該文獻並未提及綠原酸(chlorogenic acid)。
- d. 芒果苷部分，文獻上量測的範圍在 5-40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 即 0.5-4 mg/100mL，作品報導的 4.62-42.76 與量測的 6-100 mg/100mL 不在適用範圍。
- e. 槲皮素 (quercetin) 應為 $A/0.0239$ ，作品使用的 $A/0.046$ 應為同篇文獻中 gallic acid (沒食子酸) 在 765 nm 下的定量函數。文獻上量測的範圍在 0-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 即 0-5 mg/100mL，作品報導的 0.5-3.14 mg/100mL 雖在有效範圍內，但量測的 0.1-6 mg/100mL 已超出適用範圍。
2. 除了使用文獻上的波長選擇與換算值外，既然有配製了不同濃度的溶液，且有分光光度計，同學可以在掃描吸收圖譜後對每個物質選定適當的不同波長，並自行製作如圖 13 的檢量線，量測咖啡萃取液中物質的濃度。實務上，不同文獻報導的檢量線不盡相同，不宜直接使用。例如同學所引用的 Jaradat, 2016 與 Khanal, 2023 均有報導 gallic acid 在 765 nm 的量測，但其函數分別為

$y=7.515x+0.0308$ (0-0.1 mg/mL 即 0-100 $\mu\text{g/mL}$)與 $y=0.046x$ (0-60 $\mu\text{g/mL}$)。

3. 對於成分複雜易受干擾的咖啡萃取液，亦可使用標準品添加法，外插得到各物質的含量。
4. 如作品說明書第 19 頁圖 20，為何添加少量芒果苷時，葡萄糖濃度較對照組高？雖然可能是實驗誤差，但應以多次實驗降低誤差並適當討論，而非在海報中在沒有科學原因的狀況下，直接移除數據。
5. EGCG 在 2 mg/100 mL 即有很高的抑制粉酶效果，建議應再繼續下調濃度，才容易看到劑量效應。
6. 作品中協同效應的設計不易分辨其為加成或協同效應，協同效應的測試已有許多既定的模式，可參考其它研究再行設計。
7. 結果討論部分可以進一步深入，探討可能的機制和影響因素，如為何某些來源的咖啡葉對澱粉酶抑制效果更好。

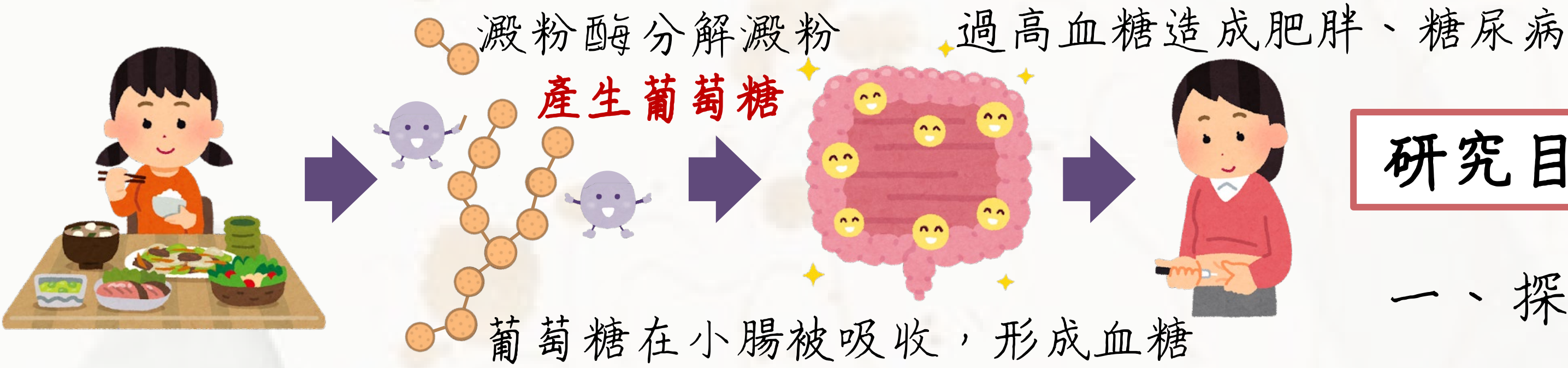
作品簡報



探討咖啡葉萃取液對 α -澱粉酶活性之影響

壹、前言

咖啡葉是否可以降血糖？



研究目的

- 一、探討不同來源之之咖啡葉萃取液環境中α-澱粉酶之活性。
- 二、探討不同製茶條件（如發酵及揉捻...）之咖啡葉萃取液環境中α-澱粉酶之活性。
- 三、探討咖啡葉萃取液中關鍵成分對α-澱粉酶活性之影響。
- 四、探討咖啡葉中影響α-澱粉酶活性之關鍵化學物質彼此間的交互作用。

血糖是由澱粉酶分解澱粉吸收後產生

抑制澱粉酶的活性有助於控制血糖

檢驗咖啡葉萃取液是否可影響澱粉酶活性

如何增加咖啡葉萃取液之抑制澱粉酶效果

貳、研究過程與方法

探討咖啡葉對α-澱粉酶活性之影響

四種來源之之咖啡葉

實驗一

發現有不同程度的抑制效果

自製咖啡葉

實驗二

發現不同成熟度與位置之葉抑制效果有差

何種關鍵成分對α-澱粉酶活性有影響？

咖啡因

實驗三

綠原酸

實驗四

芒果苷

實驗五

槲皮素

實驗六

EGCG

實驗七

交互作用

綠原酸 vs. 芒果苷

芒果苷 vs. 槲皮素

綠原酸 vs. 槲皮素

芒果苷 vs. EGCG

綠原酸 vs. EGCG

槲皮素 vs. EGCG

沖泡溫度

實驗九

實驗八

實驗一、二：五種來源之咖啡葉

研究材料

四種不同來源咖啡葉

三種市售茶包：C、H、Z牌

實驗室：N牌(發酵)

自製咖啡葉

20棵咖啡樹從中隨機抽樣2棵

不同位置

1 距離地面位置

2 枝條位置

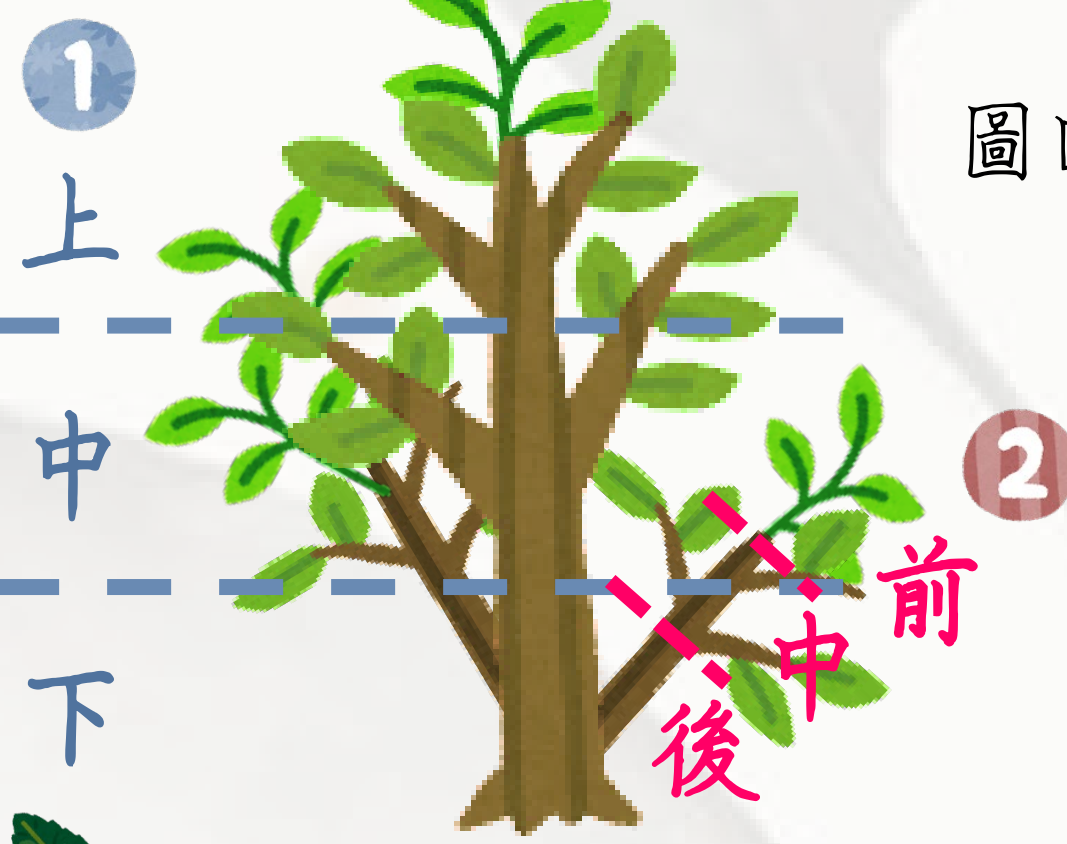
3 葉子的成熟度

嫩芽(淺淺綠色)

中葉(深綠色)

嫩葉(淺綠色)

老葉(黃綠色)



圖二、嫩芽 (比例尺：每格1公分寬)



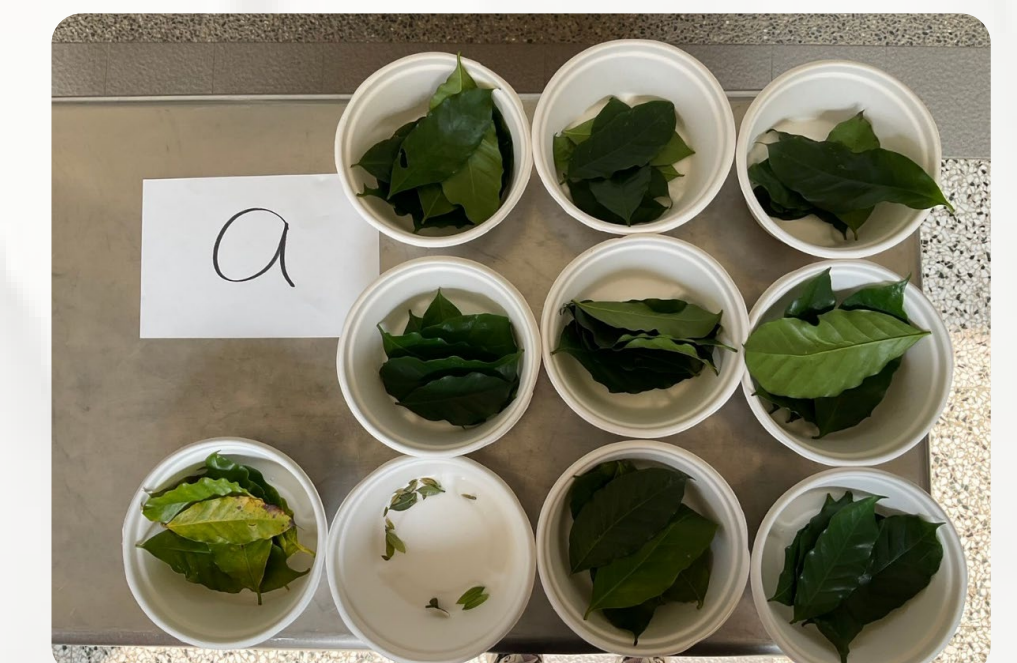
圖三、咖啡樹枝條



圖一、咖啡樹樣區

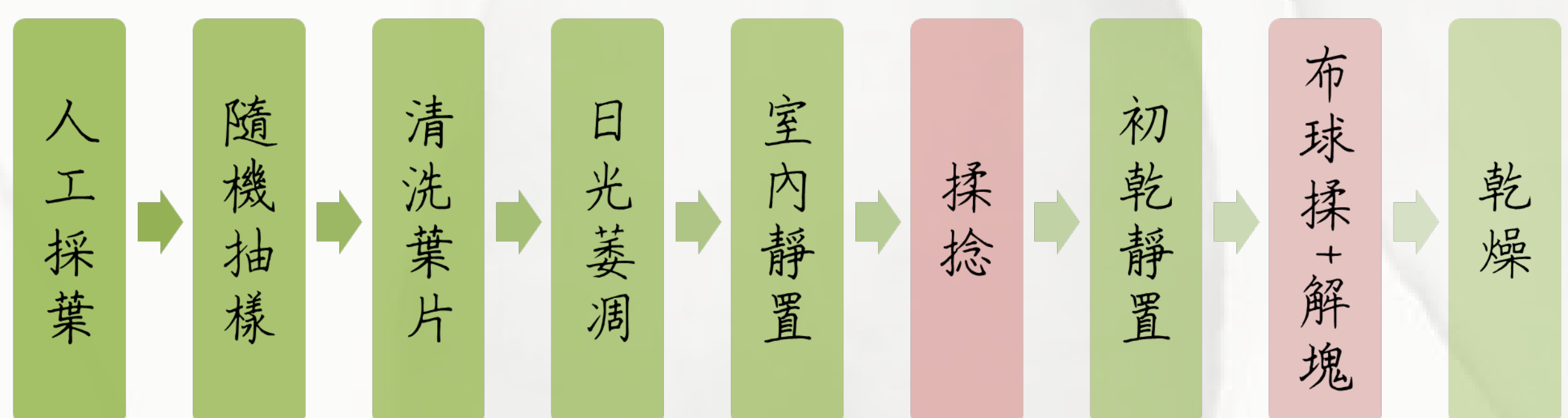


圖四、布球揉，使用竹筷協助將布包扭緊



圖五、10小組葉子對比圖

製茶流程



圖六、e組茶葉的製茶流程



圖七、28組自製茶

引用文獻分光光度計法評估物質濃度

$$\text{咖啡因濃度 (ppm)} = 0.0456 \times \text{吸光度}_{276 \text{ nm}} + 0.0028$$

$$\text{綠原酸濃度 (\%)} = (\text{吸光度}_{500 \text{ nm}} - 0.0003) / 0.9554$$

$$\text{芒果苷濃度 (\mu g/mL)} = (\text{吸光度}_{319 \text{ nm}} - 0.0244) / 0.0397$$

$$\text{槲皮素濃度 (\mu g/mL)} = \text{吸光度}_{415 \text{ nm}} / 0.046$$

$$\text{EGCG濃度 (\mu g/mL)} = (\text{吸光度}_{274 \text{ nm}} + 0.0279) / 0.1349$$

實驗三~七：探討不同純咖啡因、綠原酸、芒果苷、槲皮素、EGCG濃度對α-澱粉酶活性之影響

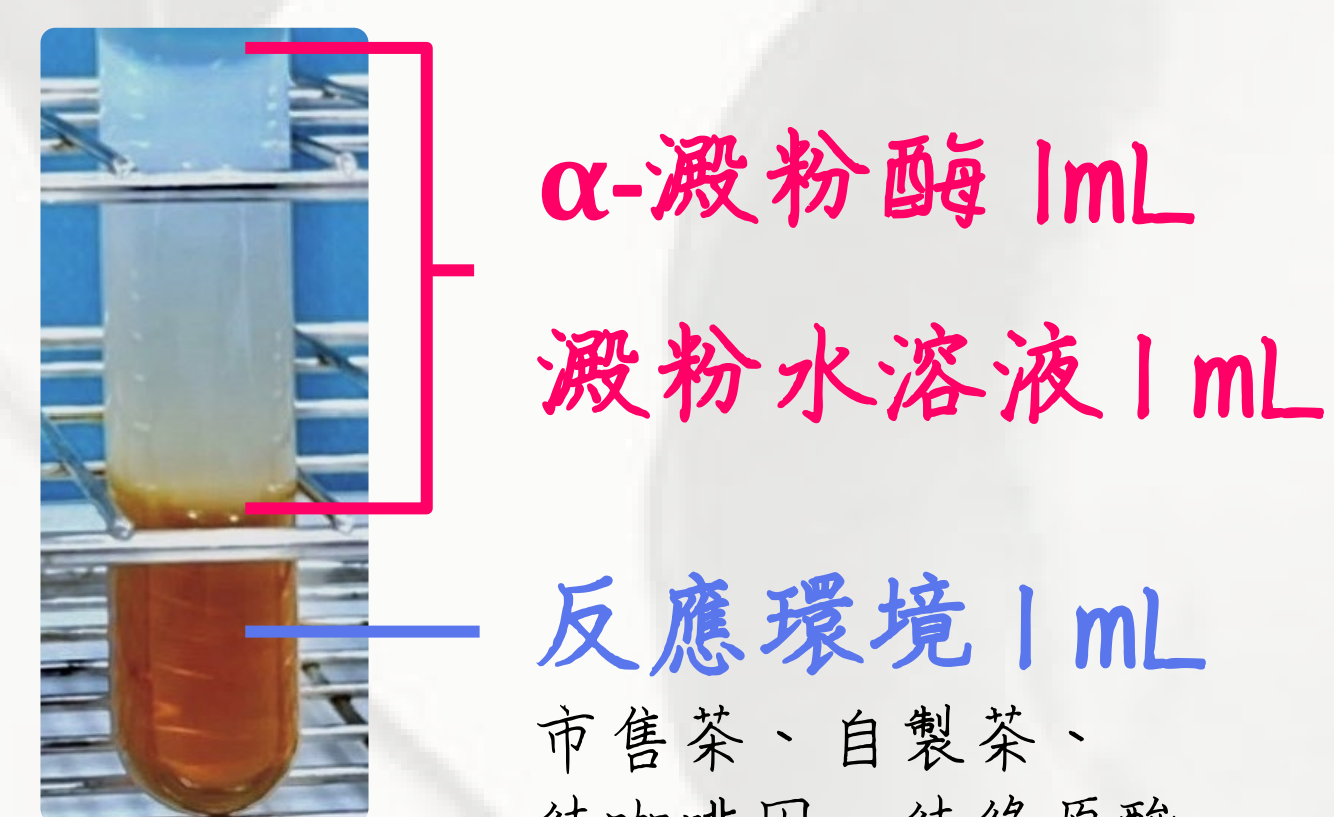
1 咖啡因濃度：2、4、6、8、10 mg/100 mL

2 綠原酸濃度：20、40、60、80、100 mg/100 mL

3 芒果苷濃度：6、8、10、20、40、60、80、100 mg/100 mL

4 槲皮素濃度：0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1、2、4、6 mg/100 mL

5 EGCG濃度：2、4、6、8、10 mg/100 mL

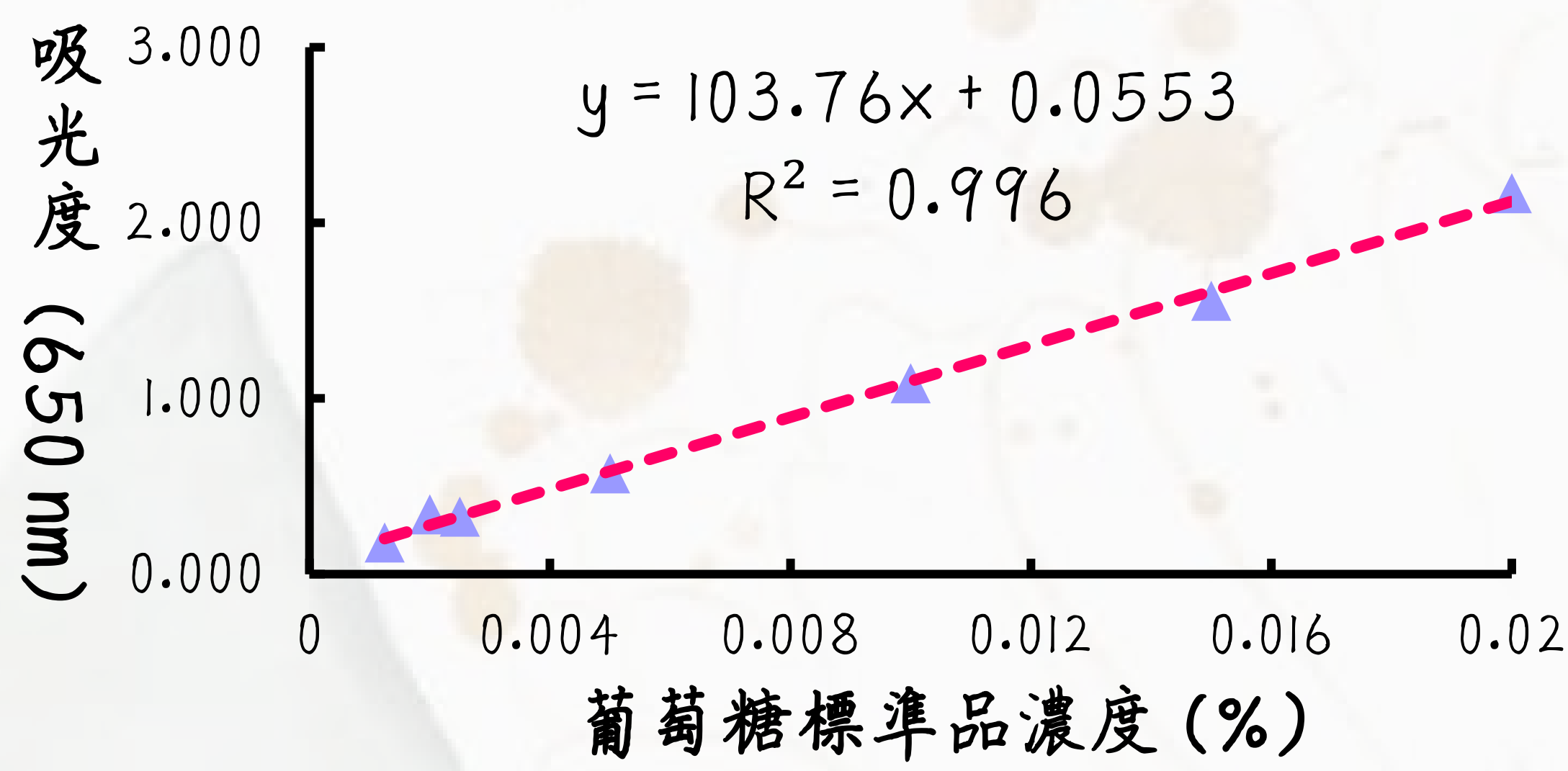


圖八、樣本配置圖

市售茶、自製茶、純咖啡因、純綠原酸、純芒果苷、純槲皮素、純EGCG

參、研究結果與討論

前置實驗：建立葡萄糖檢驗校正曲線

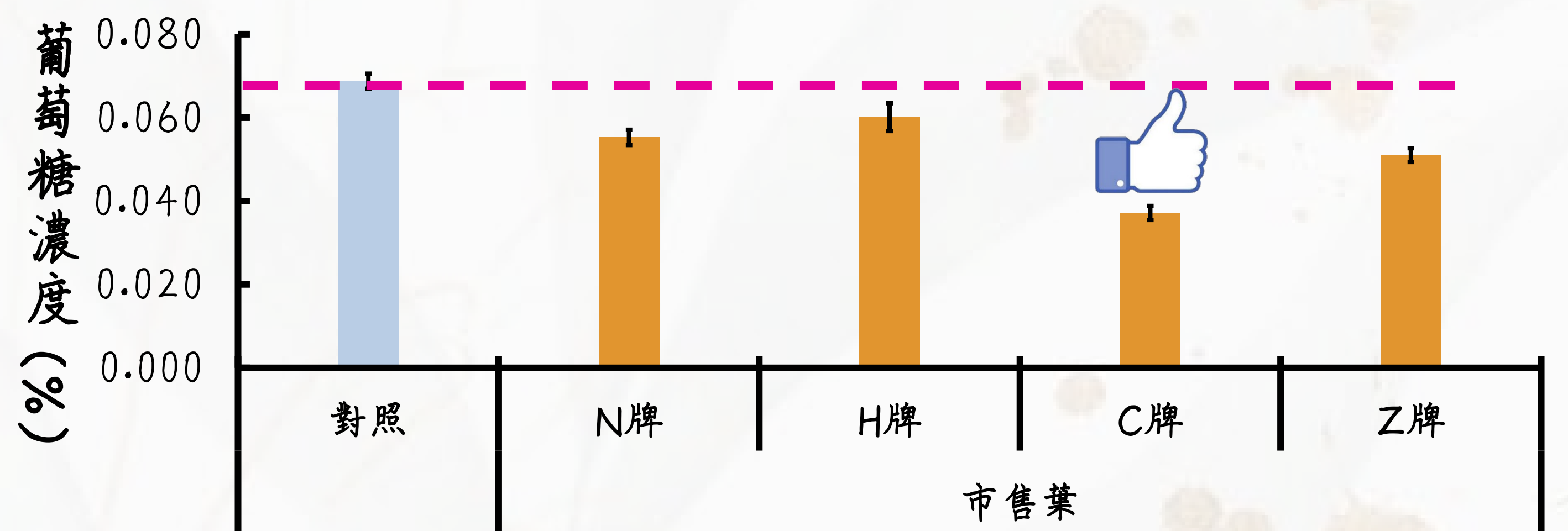


圖九、葡萄糖濃度與吸光度650 nm之線性關係圖

建立出葡萄糖檢驗校正曲線，其公式如下：
所測樣本之葡萄糖濃度 (%)

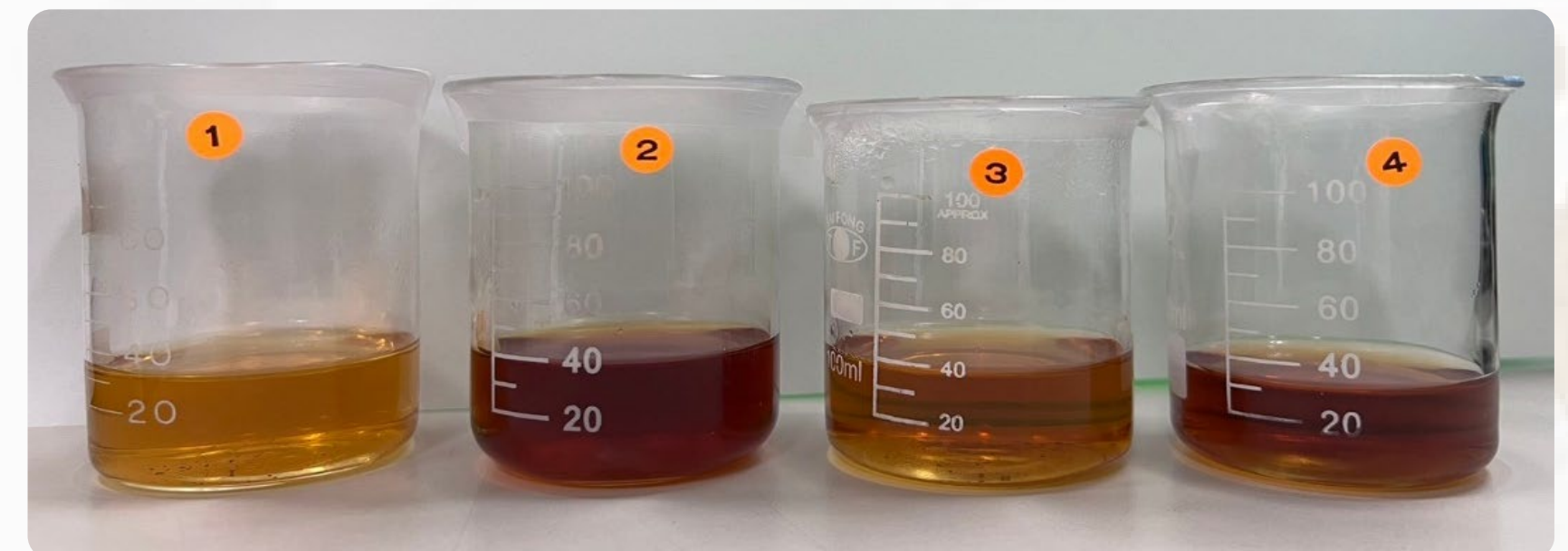
$$= \frac{\text{吸光度}_{650\text{ nm}} - 0.0553}{103.76} \times 100\%$$

實驗一：探討四種市售來源之咖啡葉萃取液環境中α-澱粉酶之活性



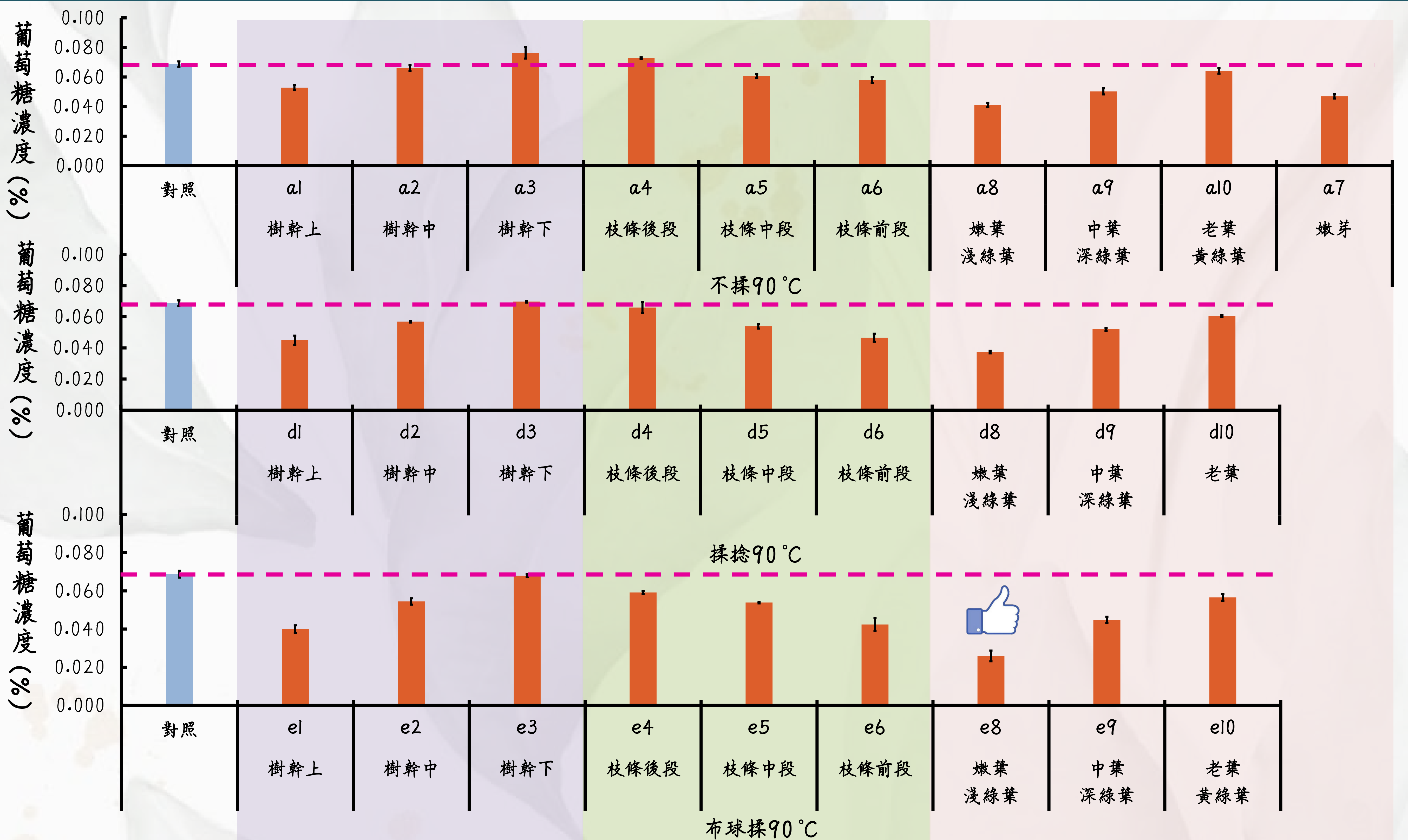
圖十、葡萄糖濃度與吸光度650 nm之線性關係圖

1. 四種咖啡葉萃取液均有抑制澱粉酶的效果。
2. 以C牌為最佳。



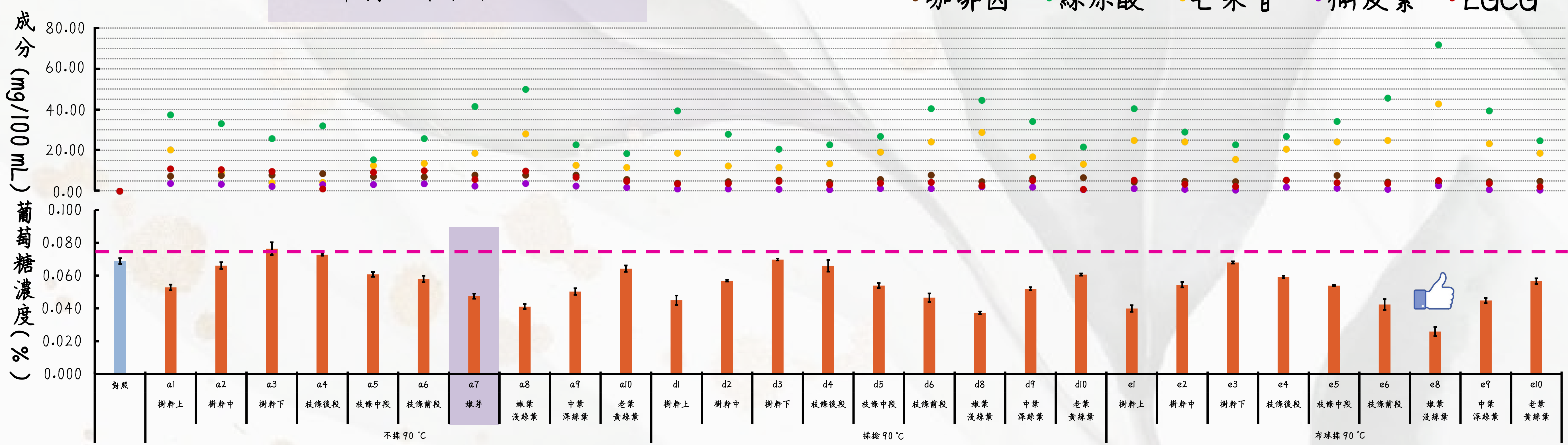
圖十一、四種來源市售咖啡葉茶之茶湯色

實驗二：探討自製茶葉之咖啡葉萃取液對α-澱粉酶活性之影響

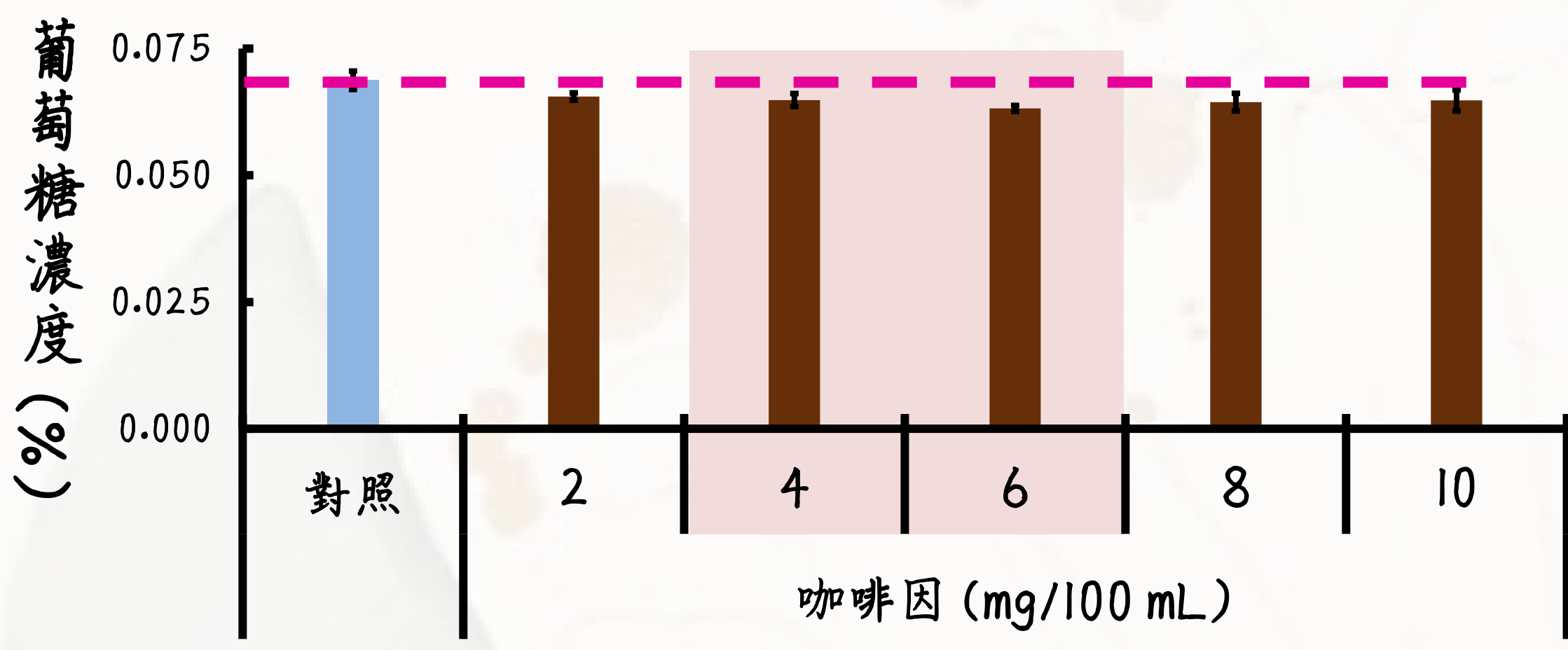


1. 無論是a不揉組、d輕揉組、e重揉組均呈現相同的趨勢。
2. 距離地面位置：**樹幹上方**的葉片對澱粉酶活性抑制效果較佳。
3. 枝條方面：**枝條前端**的葉片對澱粉酶活性抑制效果較佳。
4. 葉子成熟度：嫩芽對澱粉酶活性抑制效果不及淺綠葉。綜觀ade三組，**淺綠葉**對澱粉酶活性抑制效果均最佳。

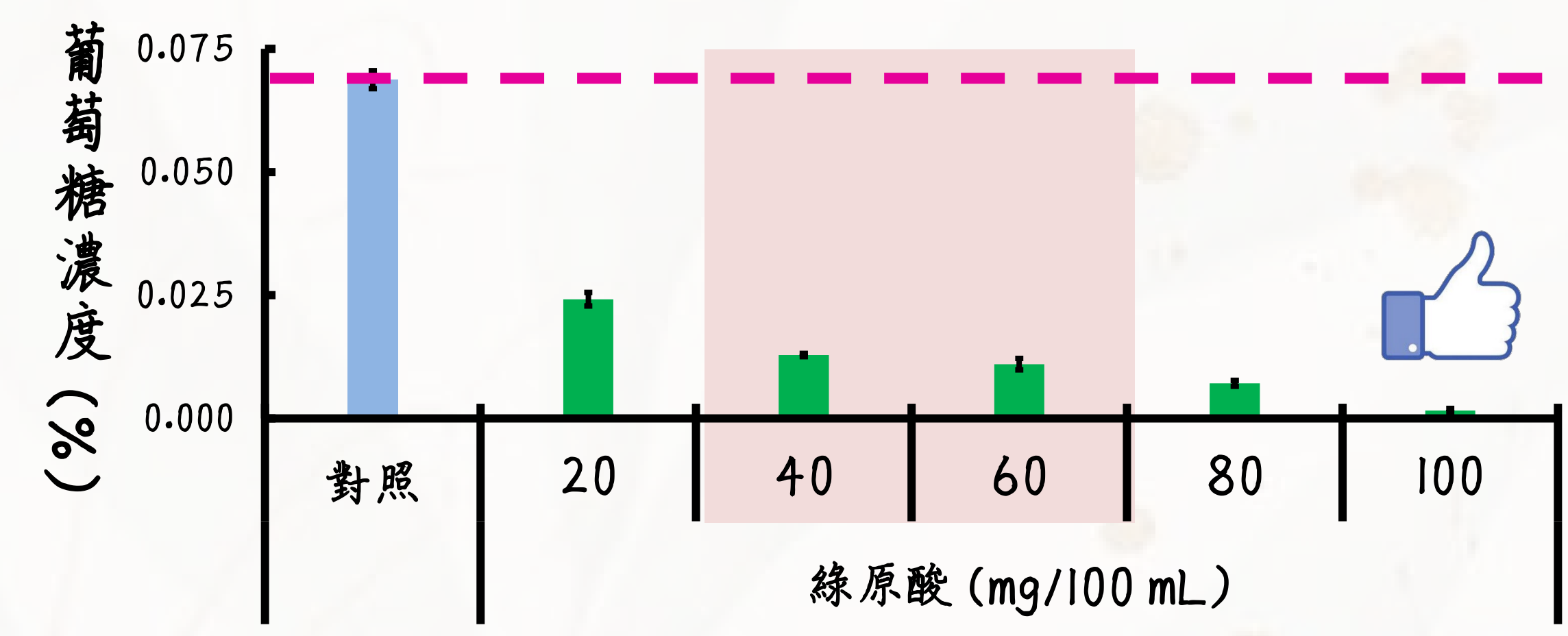
● 咖啡因 ● 綠原酸 ● 芒果苷 ● 槲皮素 ● EGCG



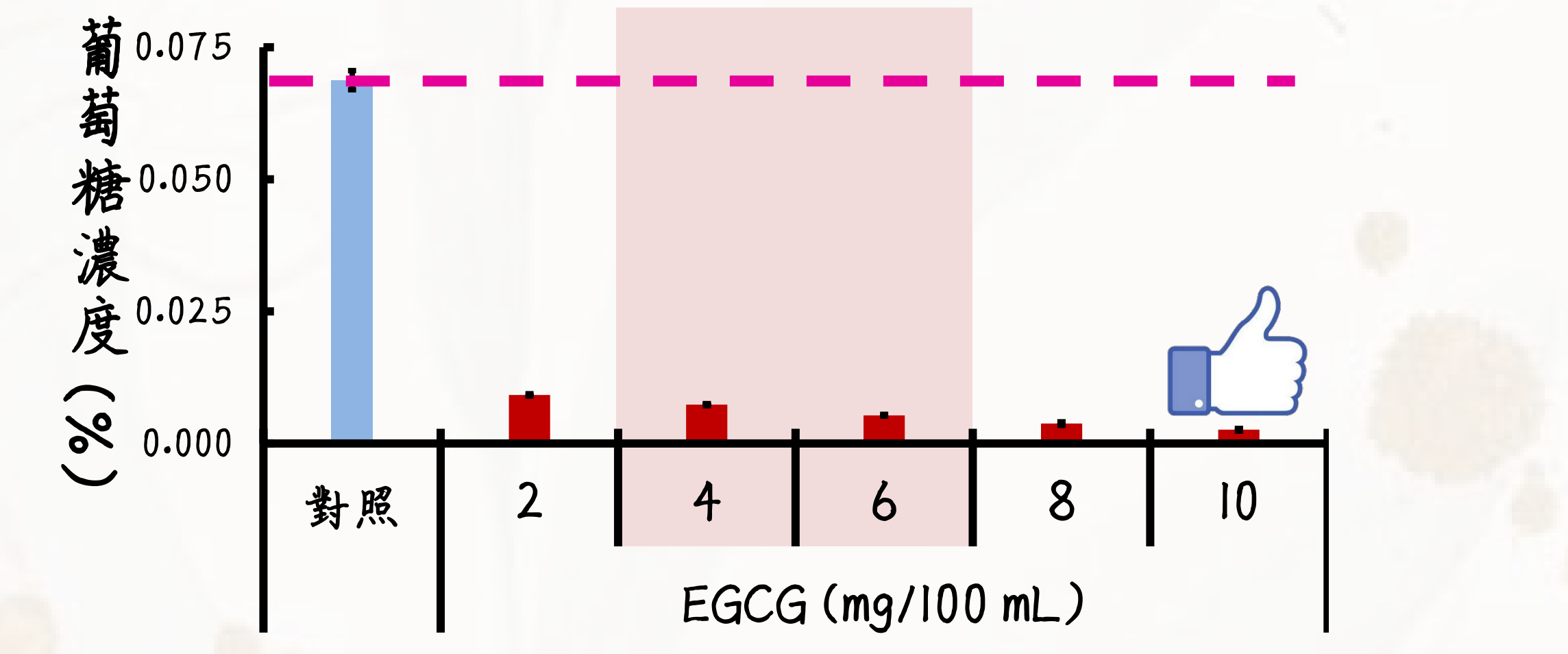
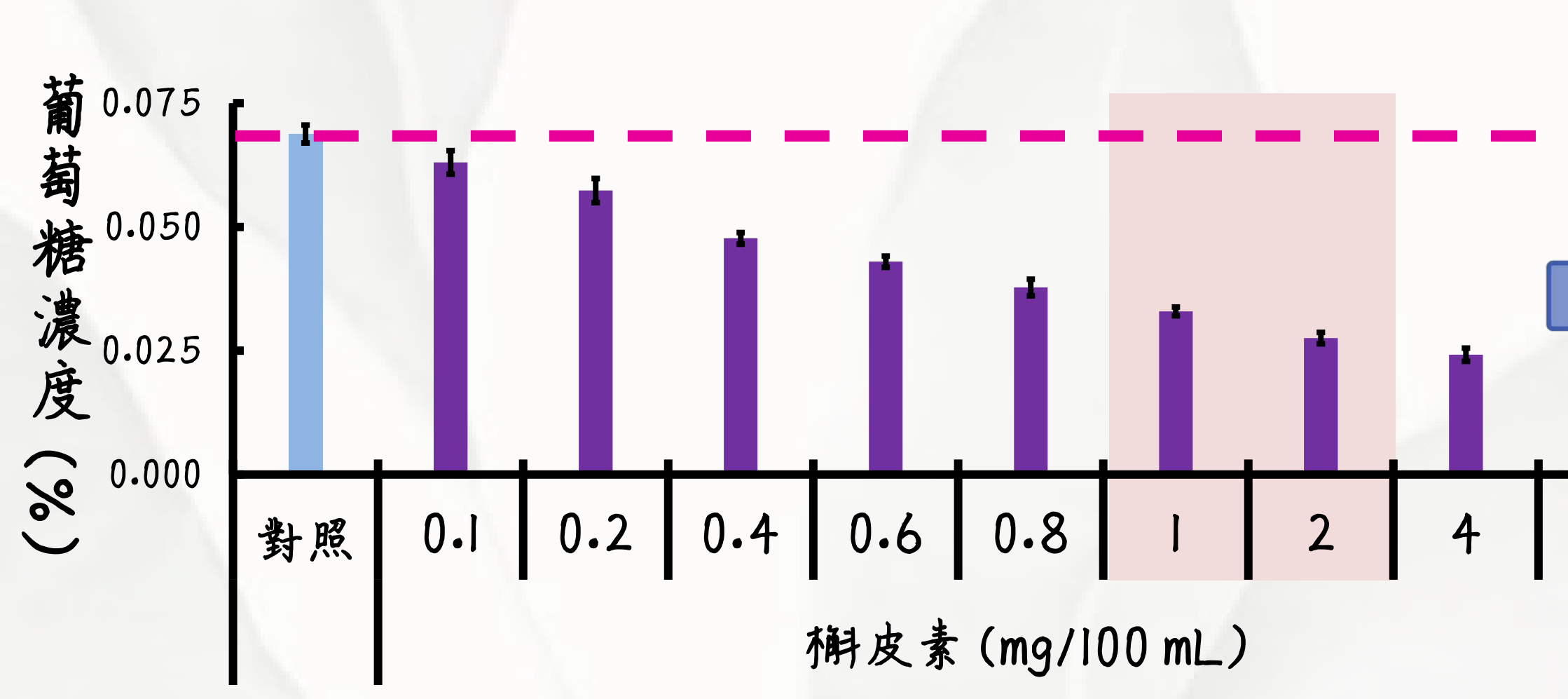
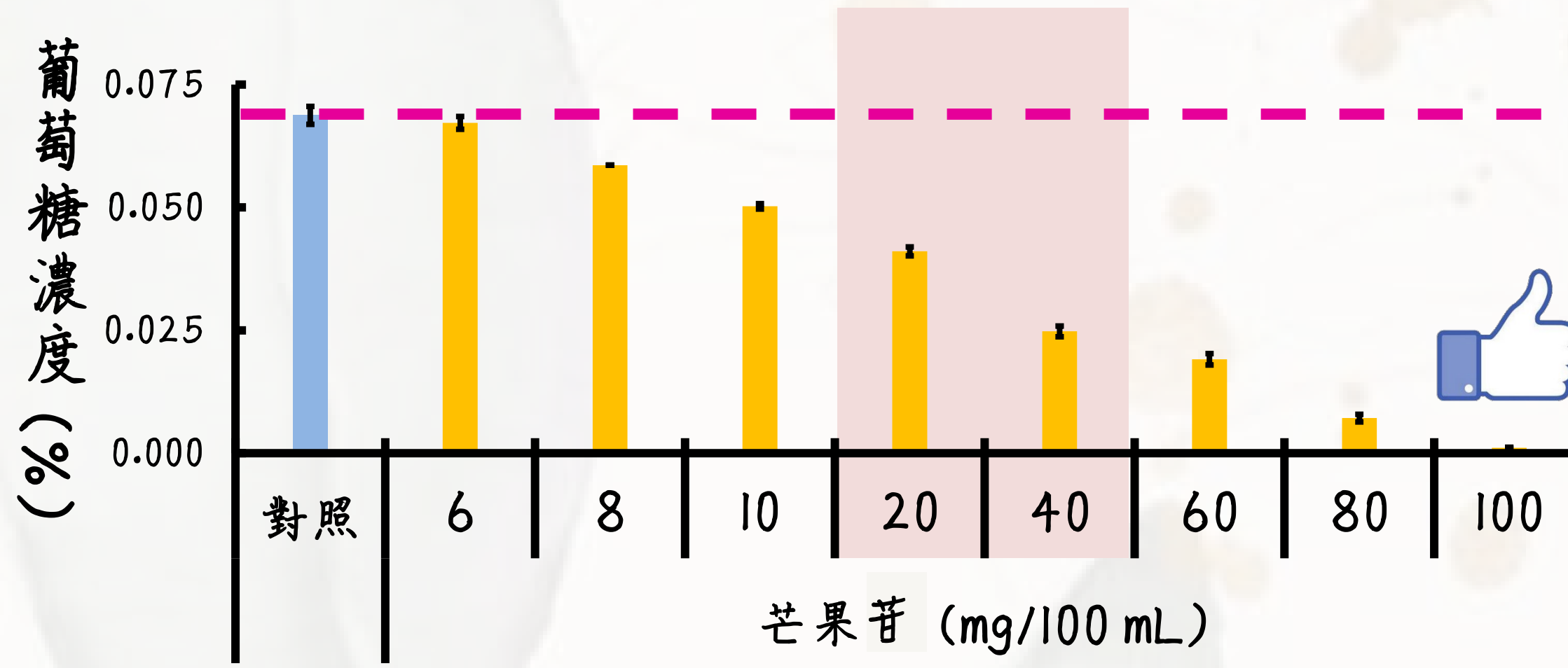
實驗三~七：探討不同純咖啡因、綠原酸、芒果苷、槲皮素、EGCG濃度對 α -澱粉酶活性之影響



實驗組葡萄糖產出量均顯著低於對照組，但在10 mg/100 mL濃度內，差異不大。

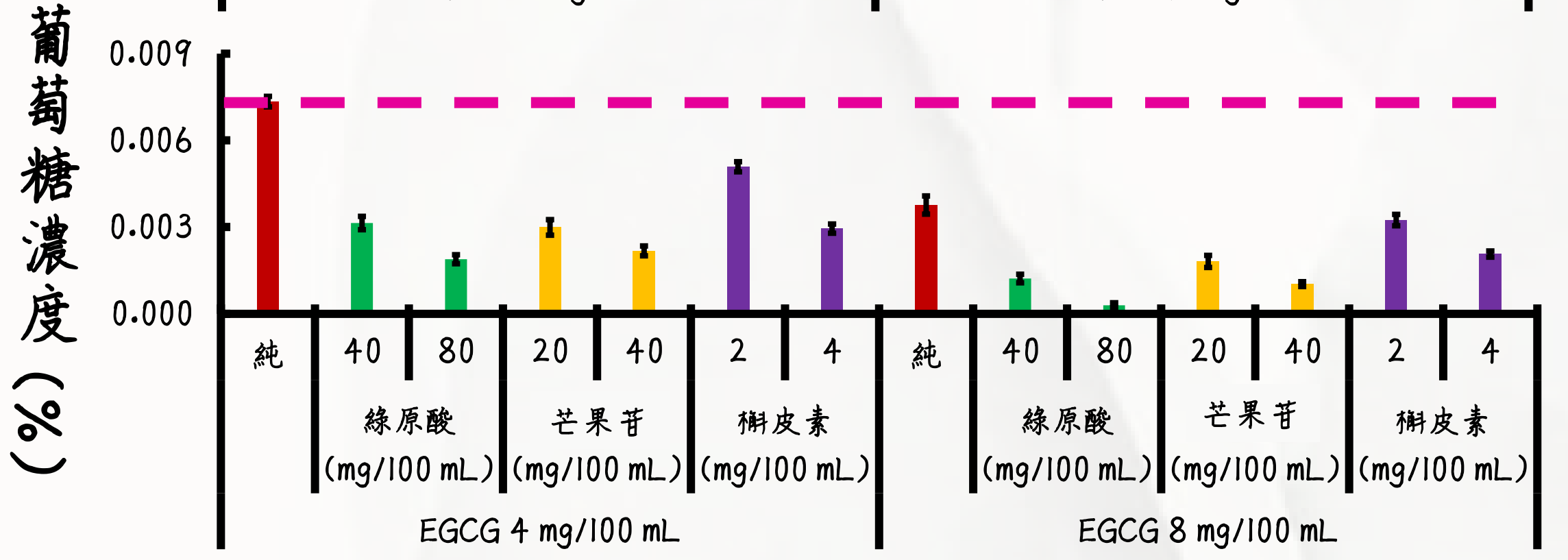
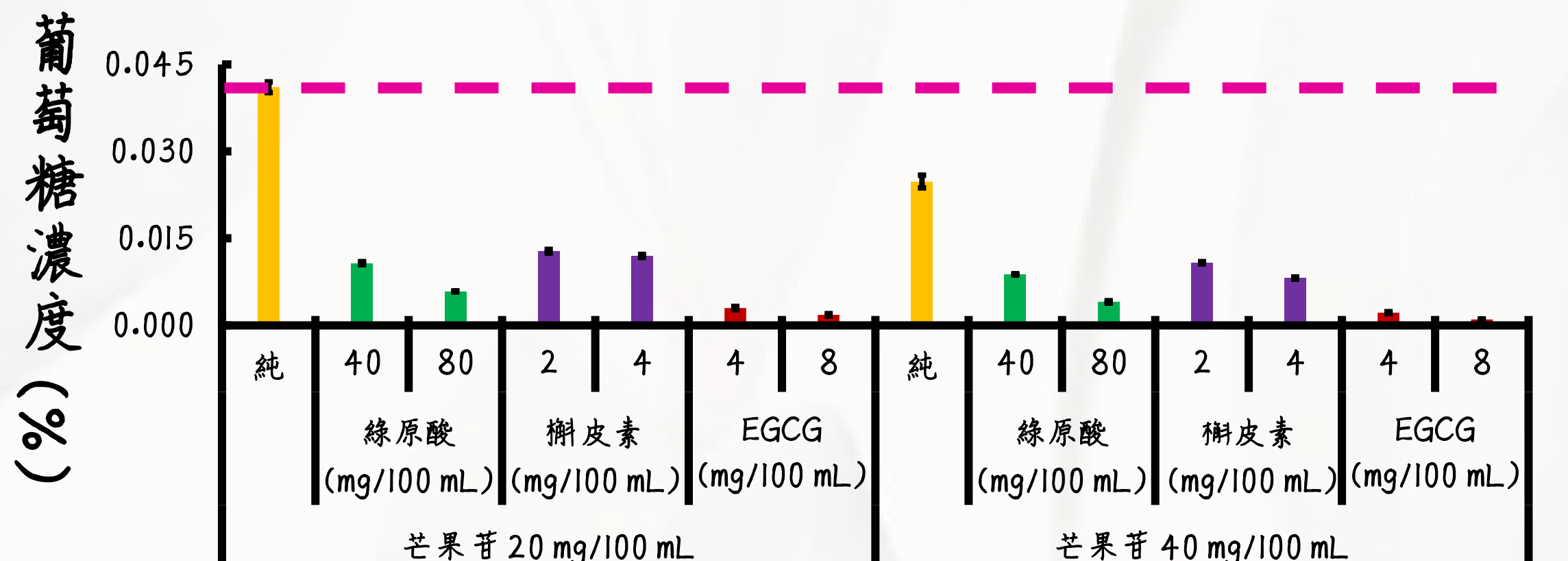
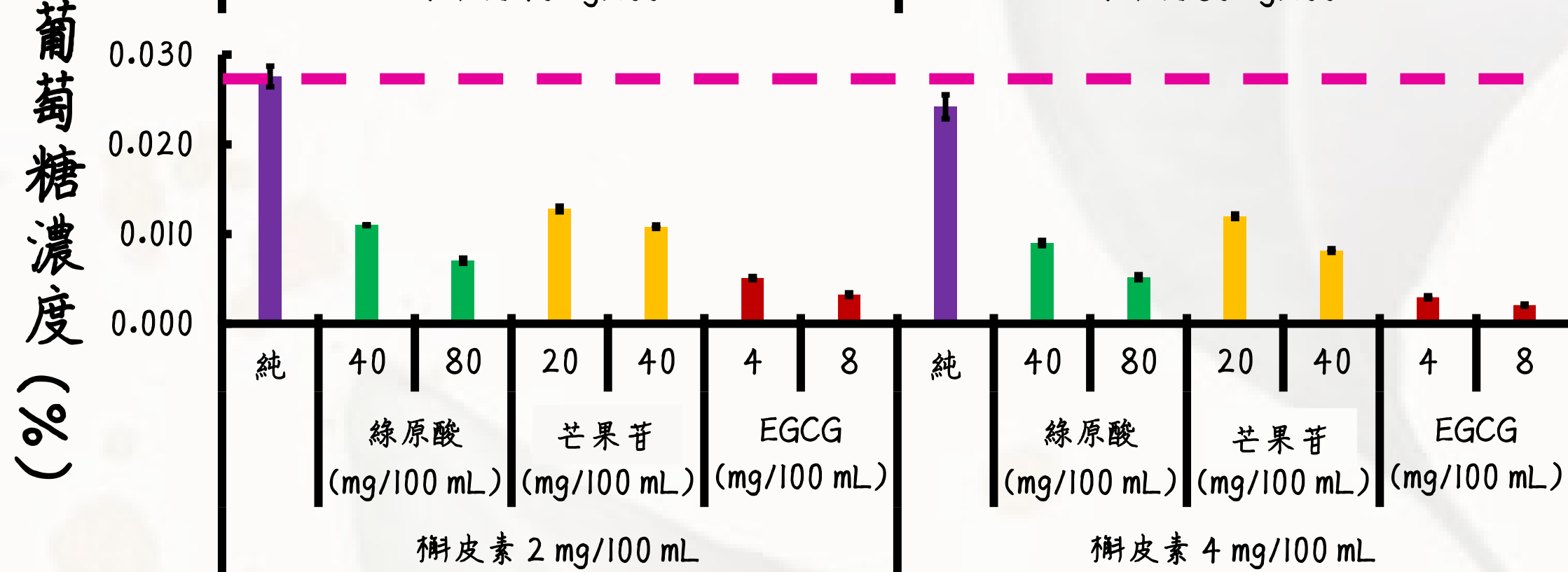
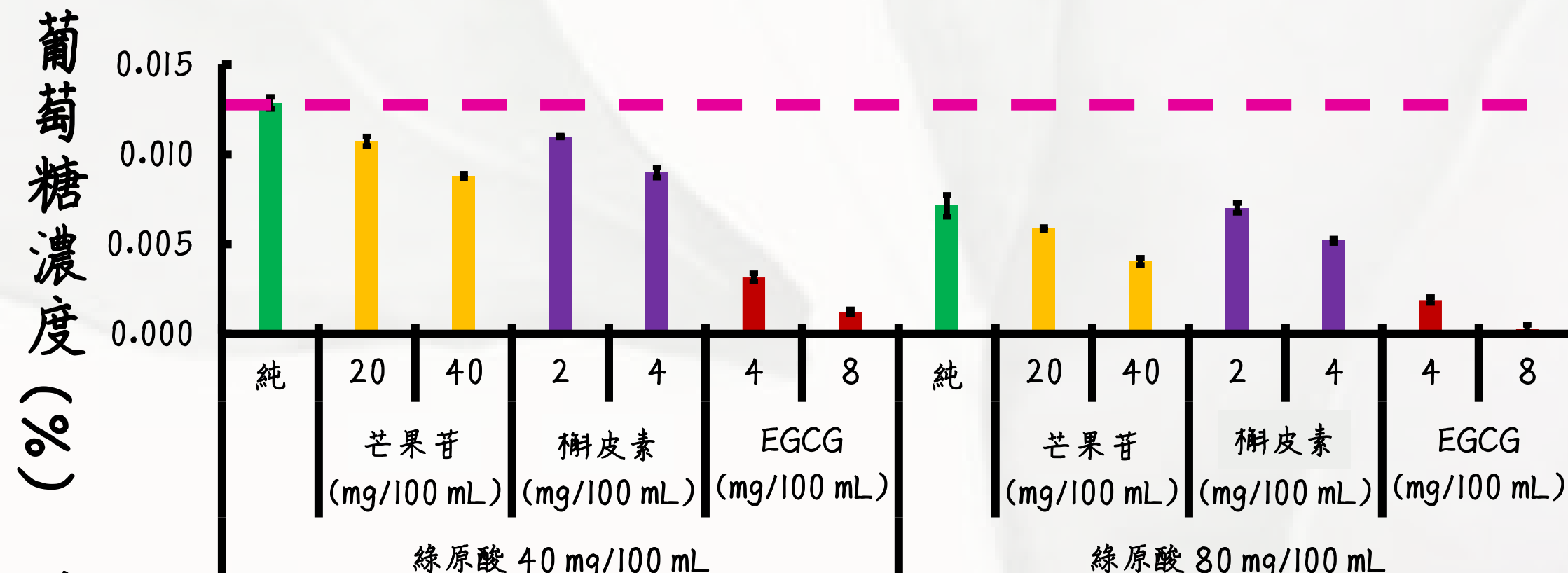


1. 實驗組葡萄糖產出量均顯著低於對照組。
2. 純綠原酸濃度與澱粉酶活性呈**負相關**。

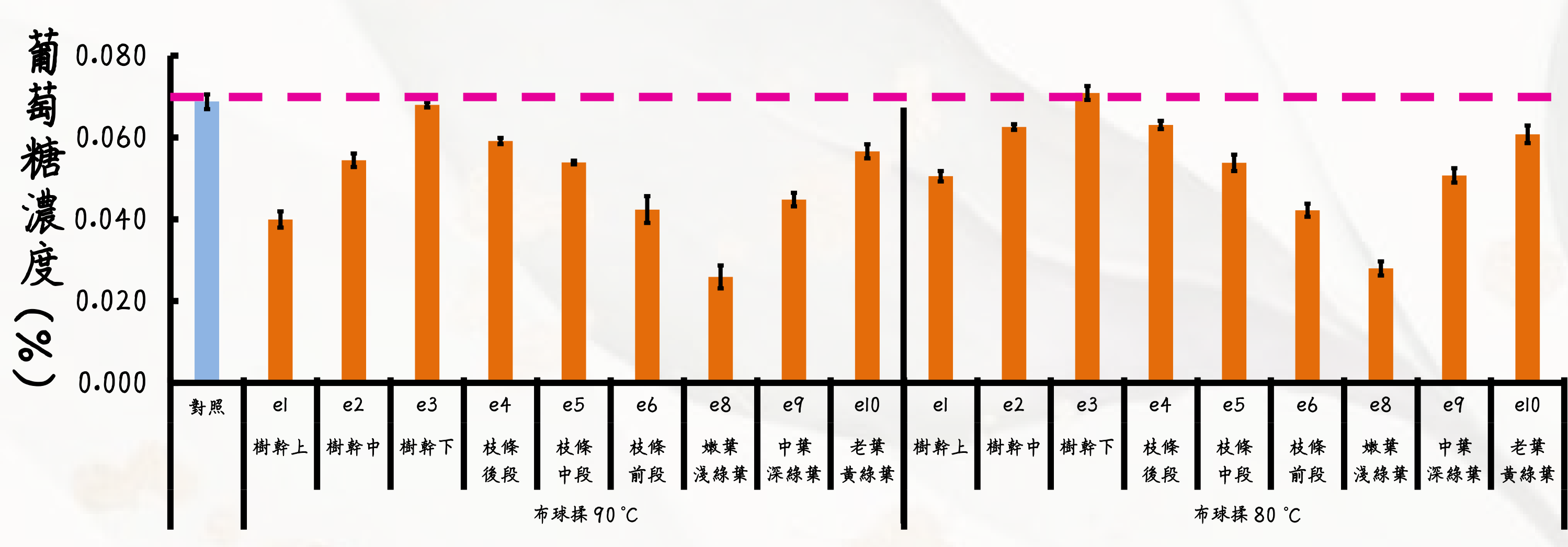


1. 純芒果苷濃度高於8 mg/100 mL具有抑制澱粉酶的效果。
2. 純芒果苷、槲皮素、EGCG濃度與澱粉酶活性呈**負相關**。
3. 同為濃度2 mg/100 mL，以EGCG抑制效果較佳。

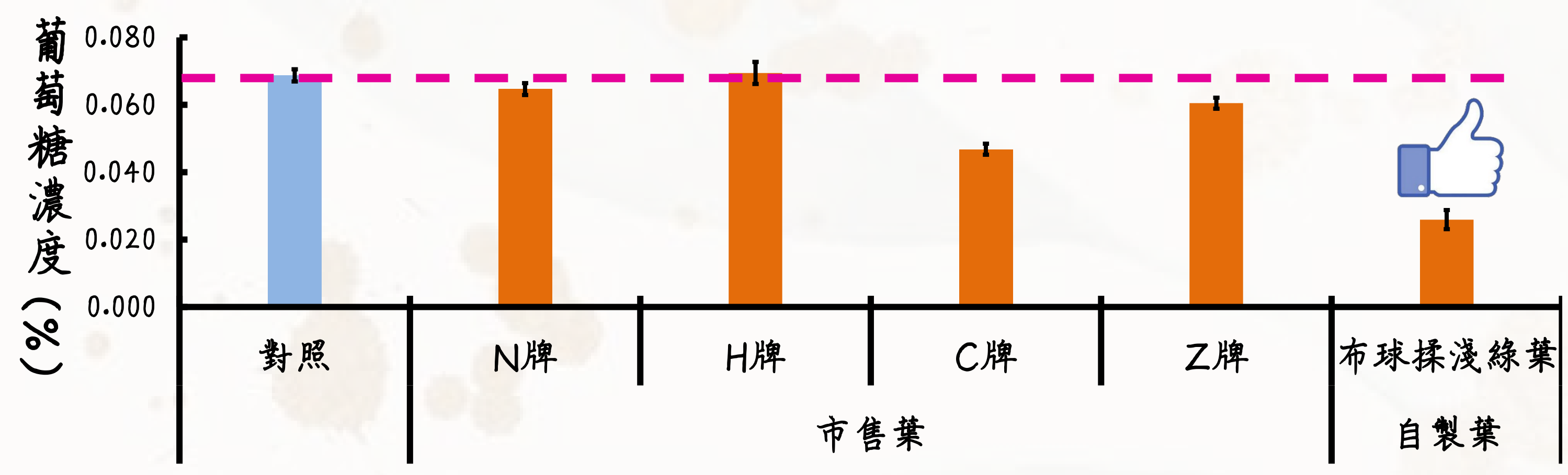
實驗八：探討咖啡葉萃取液中綠原酸、芒果苷、槲皮素、EGCG彼此間對 α -澱粉酶活性之交互作用



實驗九：探討不同沖泡溫度對 α -澱粉酶活性之影響



綜合討論



結論

- 1 C牌抑制澱粉酶效果最佳。
- 2 咖啡葉生長的位置及成熟度對澱粉酶活性有影響，其中以**布球揉淺綠葉抑制效果最佳**。
- 3 揉捻、布球揉、解塊有助於抑制澱粉酶。
- 4 芒果苷、綠原酸、槲皮素和EGCG均為**濃度越高**，抑制澱粉酶效果越好。
- 5 芒果苷、綠原酸、槲皮素和EGCG，都互具有**協同作用**。

應用

本研究推薦可將淺綠色咖啡葉曬乾泡茶作為飲品。若有盆栽，其實踐於日常也不難，倘若時間允許可搭配重揉工法效果更佳！



圖片來源：海報內所使用之照片、統計圖為作者們所拍攝或繪製，部分插圖引自公開授權免費使用之かわいいフリー素材集いらすとや (irasutoya.com)；另海報底圖來自Canva。