

中華民國第 61 屆中小學科學展覽會 作品說明書

高級中等學校組 工程學(二)科

052401

南橘北枳

學校名稱：國立嘉義高級工業職業學校

作者： 職二 蔡松樺 職二 洪秀旻 職二 張嘉倫	指導老師： 賴瓊玉 張維珊
---	-----------------------------

關鍵詞：椪柑、碘滴定、維他命 C

摘要

本實驗探討以椪柑果汁及果皮為主軸，分別於咖啡和牛奶中加入果汁和果皮萃取液，分別以不同的實驗方法測得維他命 C 含量的變化，以椪柑果汁的維他命 C 含量皆為最高；再者蛋白質水解酵素實驗中，發現牛奶中加入果汁和果皮萃取液時會使得牛奶的酪胺酸含量下降。當牛奶中加入果汁或果皮萃取液(2：1)時，對捕捉能力是最高的，而牛奶中加入果汁(4：1)時，對總酚含量是最高的。測量不同時間的 pH 值的變化時，發現在第 0 小時的 pH 值稍偏酸，但 24~72 小時後，漸趨穩定。吐司生菌實驗中發現牛奶或咖啡中分別加入果皮萃取液或果汁反而會增加霉菌的生長，因此能在牛奶或咖啡中加入果汁或果皮萃取液成為新的飲品。

壹、研究動機


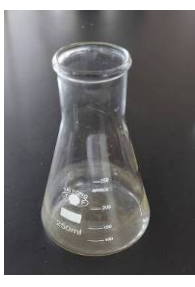



在高一下學期的課程內容學習到酸鹼中和反應，提到 pH 值運用以及有機化學，且學校的營養午餐常以椪柑作為水果，因此想瞭解椪柑的果汁與果皮萃取液對牛奶與黑咖啡的影響，間接地激發我們想窺知其中的奧秘，因此開始動手作實驗。

貳、研究目的

- 1、探討椪柑果汁及果皮萃取液分別與咖啡、牛奶混合時，在不同的條件下的維他命 C 含量變化。
- 2、瞭解牛奶和咖啡加入椪柑果汁、果皮萃取液與蛋白質溶液作用之變化。
- 3、探討椪柑果汁及果皮萃取液之抗氧化能力，分別與咖啡、牛奶混合時的抗氧化能力。
- 4、探討椪柑果汁和果皮萃取液分別添加於咖啡和牛奶中，於不同時間之 pH 值的變化。
- 5、藉由椪柑果汁及果皮萃取液分別與咖啡、牛奶混合時其生菌現象。

參、研究設備及器材

一、實驗器材

				
燒杯	錐形瓶	量筒	夾鏈袋	離心試管

				
定量瓶	球型吸量管	滴管	滴定管	試管架

			
加熱板	離心機	精密天平	恆溫水槽

	
分光光度計	pH計

二、實驗材料

椪柑、去離子水、碘酸鉀、碘化鈉、濃鹽酸、3.5%偏磷酸、0.5%澱粉溶液、酪蛋白溶液、蛋白質沉澱劑、碳酸鈉、磷酸鹽、2,6-二氯酚靛酚(DCPIP)、碳酸氫鈉、 $\text{HPO}_3\text{—HOAc}$ 溶液、50%福林酚(Folin-Ciocalteus reagent)。

肆、研究過程或方法

一、原理

(一) 椪柑果汁中的成分

椪柑果汁極富營養價值，富含蛋白質、脂肪、碳水化合物、膳食纖維和鈣、磷、鐵、鉀、維他命 B1、B2、B3 以及維他命 C 等營養物質。

表一 椪柑果汁成分（每百克椪柑果汁中）

蛋白質	0.804g	鐵	0.289mg
脂肪	0.155g	鉀	73.8mg
碳水化合物	10.0g	維他命 B1	0.0827mg
膳食纖維	1.47g	維他命 B2	0.0591mg
鈣	20.6mg	維他命 B3	0.274mg
磷	14.5mg	維他命 C	25.5mg

(二) 椪柑果皮的成分

椪柑果皮中富含大量的果膠物質、類黃酮素、類胡蘿蔔素、維他命 P、維他命 C、維他命 B1、B2 等。

(三) 黑咖啡中的成分

黑咖啡之咖啡豆裡包含了礦物質，約佔生咖啡豆乾物重的 4%，其中鉀的含量最多，約占礦物質質量的 40%，而咖啡豆裡亦包含了碳水化合物、果膠、木質素、含氮化合物(如植物鹼、葫蘆巴鹼(Trigonelline)、菸鹼酸、蛋白質、氯原酸(chlorogenic acid)、脂質、揮發性物質及有機酸等。

(四) 牛奶中的成分

牛奶主要成分包含水、乳固形物(含乳脂肪、乳糖、蛋白質)等，其中水約占 87~89%，而乳脂是複雜的三酸甘油脂混合物，佔牛乳中主成分 3~6%，乳糖佔 4.6%，

而牛奶中主要的蛋白質可分為酪蛋白(佔牛奶蛋白質總量 78.5%)及乳清蛋白(佔牛奶蛋白質總量 16%)。在維他命方面，牛奶內含有胡蘿蔔素、維他命 B1、B2、維他命 D、菸鹼酸等，但其中維他命 D 的含量不多。

(五) 蛋白質測定方法

1、主要分為以下兩種：

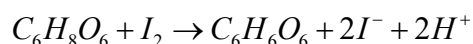
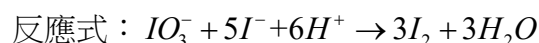
- (1) 藉由蛋白質本身之物性，利用紫外光吸收來測定。
- (2) 利用化學染劑顯色測定。

2、細分為以下五種：

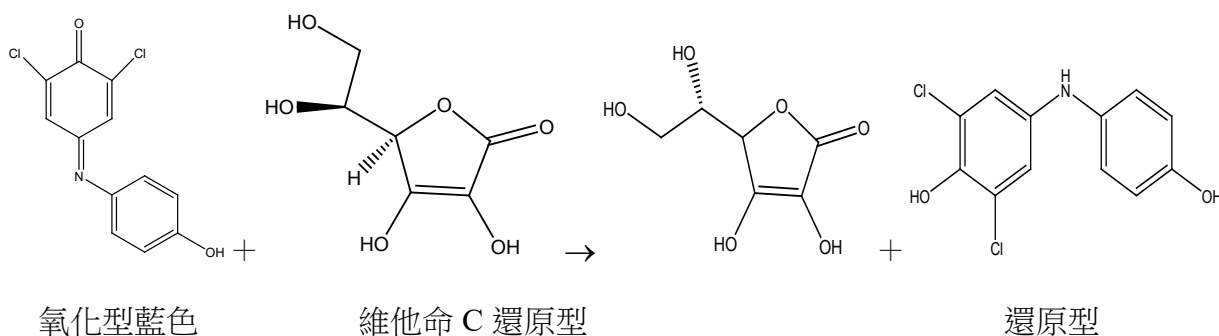
Biuret、Lowry、Bradford、BCA、UV 法。此次使用的 Bradford 法是測定總蛋白質濃度方式中，利用簡易的顏色變化的一種檢測法。標準檢驗時蛋白質濃度約在 200 $\mu\text{g/mL}$ 至 1500 $\mu\text{g/mL}$ 之間，微量檢驗時則適用蛋白質濃度介於 1 至 10 $\mu\text{g/mL}$ 。

(六) 維他命 C (Vitamin C, $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) 測定

- 1、維他命 C 又稱抗壞血酸，是多羥基化合物，結構類似葡萄糖，無臭，在水中易溶解，呈酸性。它具有很強的還原性，具有蛋白質合成，維持免疫等功能。
- 2、碘酸根離子和過量之碘離子於酸性下反應可生成碘，利用其與維他命 C 之氧化還原反應，可用以定量維他命 C。



- 3、還原型維他命 C 具有抗氧化作用，可將氧化型且呈藍色的 DCPIP 還原成無色，當維他命 C 耗盡時，因 DCPIP 無法被還原，因此呈現粉紅色為滴定終點。



(七) 捕捉 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)自由基能力：

DPPH 是一個穩定自由基生成系統，在抗氧化作用的研究上一般常用 DPPH 來評估抗氧化物的供氫能力。由於 DPPH 於低濃度之下仍具相當良好的靈敏度，因此許多學者常藉由此法進行篩選樣品對自由基的清除能力。

$$\text{捕捉能力(\%)} = [(A_{517\text{nm,blank}} - A_{517\text{nm,sample}}) / (A_{517\text{nm,blank}})] \times 100\%$$

DPPH 是屬於一種安定的自由基，實驗所採用的 DPPH 甲醇溶液於 517nm 下有較強的吸光值強，DPPH 甲醇溶液與抗氧化物結合時，會降低吸光值。而其吸光值越低，表示抗氧化物的供氫能力越強，清除 DPPH 自由基能力越佳。

清除 DPPH 自由基實驗，主要是測試樣品藉由提供氫離子，來清除脂質過氧化物自由基，進而達到抑制氧化連鎖反應之進行。若受測物質能提供氫原子給 DPPH 自由基，其顏色會變淡，吸收值會下降。

(八) 總酚含量測定

許多飲食來源中普遍存在有酚酸，包括小麥、玉米、米、番茄等，其中以羥基肉桂酸在飲食中含量最高。酚酸類化合物具有一些生理活性，如抗氧化傷害、抗發炎、降低心血管疾病、抗癌等生理功能。在食品中會影響食品穩定性、顏色、風味、營養價值。總酚含量是以沒食子酸之標準曲線對照，計算樣品中總酚之含量相當於每毫升樣品重相當多少毫克沒食子酸表示。總酚含量一般用比色法分析，利用福林酚將樣品裡如有酚類化合物反應呈色，以分光光度計測定在 760nm 之吸光度。

(九) pH 電極

pH 電極的測量原理，是將玻璃電極、參考電極和溫度補償電極合而為一的複合式電極。將此 pH 電極浸在待測溶液中，當待測溶液的氫離子濃度不同時，電極的電位 (emf) 即隨之改變。在測量前，必須先用兩種 pH 值緩衝溶液校正儀器，當待測溶液在酸性範圍時，以 pH 7.0 的緩衝溶液作為第一標準液，以 pH 4.0 的緩衝溶液作為第二標準液；當待測溶液在鹼性範圍時，以 pH 7.0 的緩衝溶液作為第一標準液，以 pH 10.0 的緩衝溶液作為第二標準液。使用完畢後，若須放置一旁等待下一溶液的測量，須將電極浸於蒸餾水中，若長時間不用，則需浸於 3M 的氯化鉀(KCl)溶液中。

二、實驗步驟

(一) 維他命 C 含量測定

1、原理

碘酸根離子和過量之碘離子於酸性下反應可生成碘，利用其與維他命 C 之氧化還原反應，可用以定量維他命 C。

2、步驟

(1)標準溶液(I₂)配製：

- A、精秤 0.12 克 KIO₃，倒入 250mL 燒杯，紀錄重量。
- B、秤 2 克 KI 倒入同一燒杯。
- C、再加入 100mL 蒸餾水，完全溶解後再加 2mL 濃 HCl。
- D、少量多次洗入 250mL 定量瓶，混合均勻。

(2)維他命 C 含量

- A、精秤約 0.3 克試樣到 250mL 燒杯，紀錄重量。
- B、加入 250mL 蒸餾水溶解，少量多次洗入 250mL 定量瓶中。
- C、取 25mL 試樣、30mL 水、1mL3.5%偏磷酸、1mL0.5%澱粉加入 250mL 錐形瓶中。
- D、利用 I₂ 滴至藍色 30 秒不褪色記錄體積。
- E、算出維他命 C 含量。

(3)試樣中維他命 C 含量

- A、若改用果汁壓榨成汁(簡稱果汁)或果皮萃取液，秤約 0.3~0.9 克樣品，定量成 100mL，以吸量管吸取 25mL 的果汁或果皮萃取液於 250mL 錐形瓶中，並加入 1mL3.5%偏磷酸、1mL 0.5%澱粉液。
- B、利用 I₂ 滴至藍色 30 秒不褪色記錄體積。
- C、算出維他命 C 含量。

2-1、步驟

(1)標準溶液(I₂)配製：

A、分別精秤 0.29 克 KIO₃ 和 5 克 KI，倒入 500mL 燒杯，紀錄重量。

B、再加入 200mL 蒸餾水，完全溶解，再加入 30mL 3M H₂SO₄，混合均勻，定量至 500mL。

(2)維他命 C 含量

A、精秤 0.250 克維他命 C，紀錄重量，並定量至 250mL 定量瓶。

B、取 25mL 維他命 C 和 1mL 0.5%澱粉液於 250mL 錐形瓶中。

D、利用 I₂ 滴至藍色 30 秒不褪色記錄體積，算出維他命 C 含量。

(3)試樣中維他命 C 含量

A、若改用果汁或果皮萃取液，以吸量管吸取 25mL 的果汁或果皮萃取液於 250mL 錐形瓶中，並加入 1mL 0.5%澱粉液。

B、利用 I₂ 滴至藍色 30 秒不褪色記錄體積。

C、算出維他命 C 含量。

(二) 食品中維他命 C 含量測定

1、Indophenol 標準溶液配製：

取 0.036 克碳酸氫鈉溶於溫水中，置於 250mL 燒杯中，再加入 0.04 克 DCPIP 振盪溶解，並定量至 200mL 定量瓶。

2、維他命 C 含量：

秤取 0.250 克維他命 C，紀錄重量，加入 HPO₃-HOAc 溶液並定量至 50mL。

3、測定 1mL Indophenol 標準溶液相當於維他命 C 的毫克數：

(1)精確量取 2mL 維他命 C 標準溶液，加入 5mL HPO₃-HOAc 溶液混合均勻，以 Indophenol 滴定，並記錄滴定體積。

(2)空白試驗以 7mL HPO₃-HOAc 溶液，以 Indophenol 滴定，並記錄滴定體積。

4、樣品中維他命 C 的測定：

(1)樣品取 6 mL，加入等量 HPO₃-HOAc 溶液，極為樣品液。

(2)精確量取 10 mL 樣品液，加入 5mL HPO_3-HOAc 溶液，以 Indophenol 滴定，並記錄滴定體積。

(3)空白組取 10 mL 蒸餾水，加入 5mL HPO_3-HOAc 溶液，以 Indophenol 滴定，並記錄滴定體積。

(三) 蛋白質之測定

1、1 克試樣加 10mL 水。

2、加 1.5mL 酪蛋白溶液靜置 10 分鐘，加 1.5mL 蛋白質沉澱劑離心靜置 30 分鐘。

3、取上清液 1mL 加 0.4M Na_2CO_3 2.5mL。

4、加 50%福林酚 0.5mL 靜置 10 分鐘。

5、波長為 660nm 之分光光度計(spectrophotometer)測定，並記錄吸光值。

(四) 捕捉 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)自由基能力：

1、將標準品(BHA)配製或樣品配製成適當濃度。

2、分別加入 DPPH，搖晃均勻後置於暗處 50 分鐘。

3、測於 517nm 下之吸光值，同時測定空白試樣，記錄吸光值。

(五) 總酚含量測定

1、分別配製沒食子酸和樣品適當濃度，分別加入 Na_2CO_3 ，靜置 4 分鐘，再加入 50%福林酚。

2、靜置 1 小時後，使用波長 760nm 的分光光度計，測出其吸光值，並記錄。

3、藉此繪出標準曲線，求得樣品中相當於沒食子酸的毫克數/升。

(六) pH 值測定

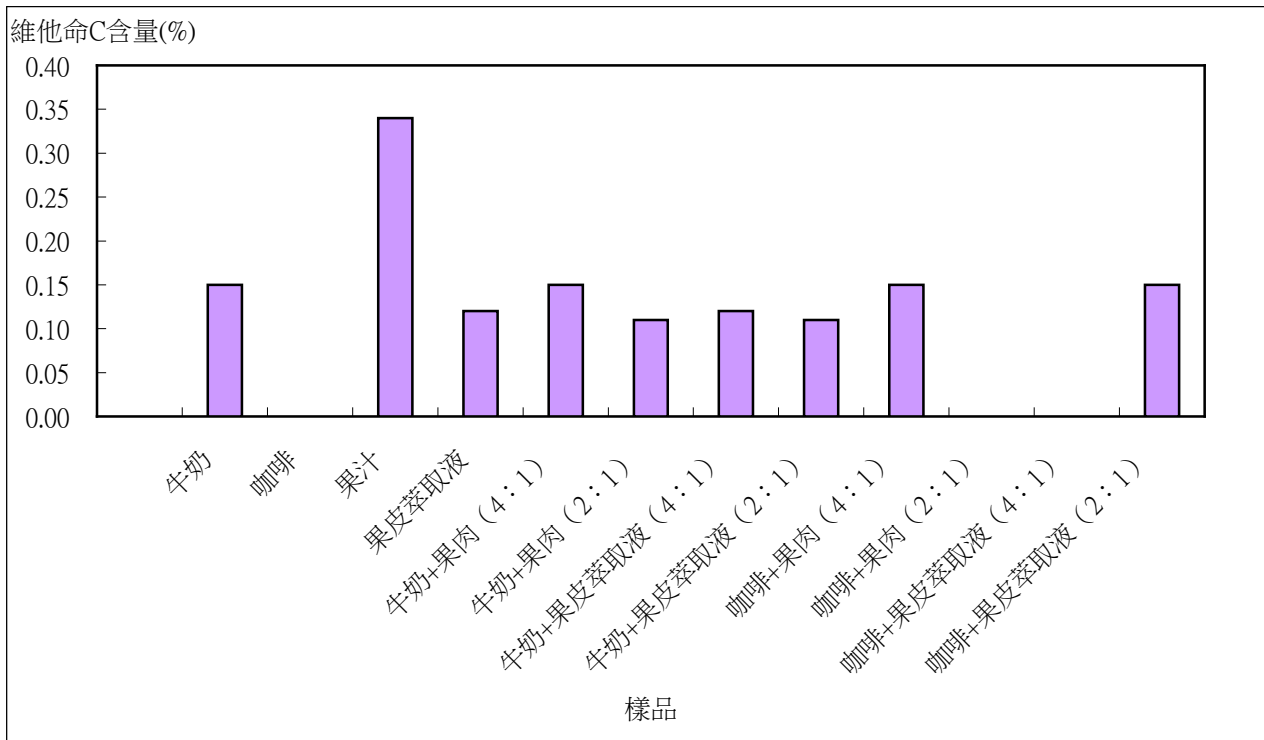
1、pH 校正。

2、測量樣品的 pH 值，並記錄數據。

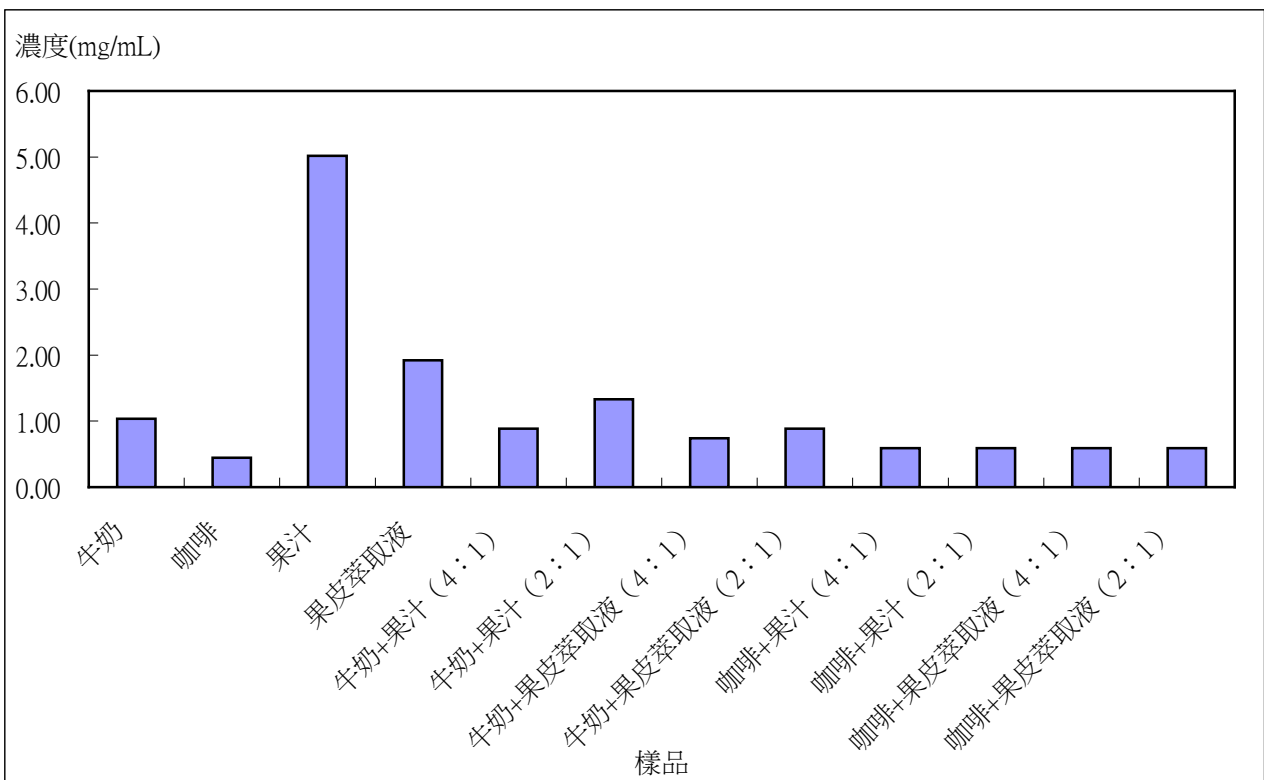
3、每 24 小時測所有樣品，連續測 3 天，觀察 pH 值變化，並記錄之。

伍、研究結果

一、維他命 C 之含量

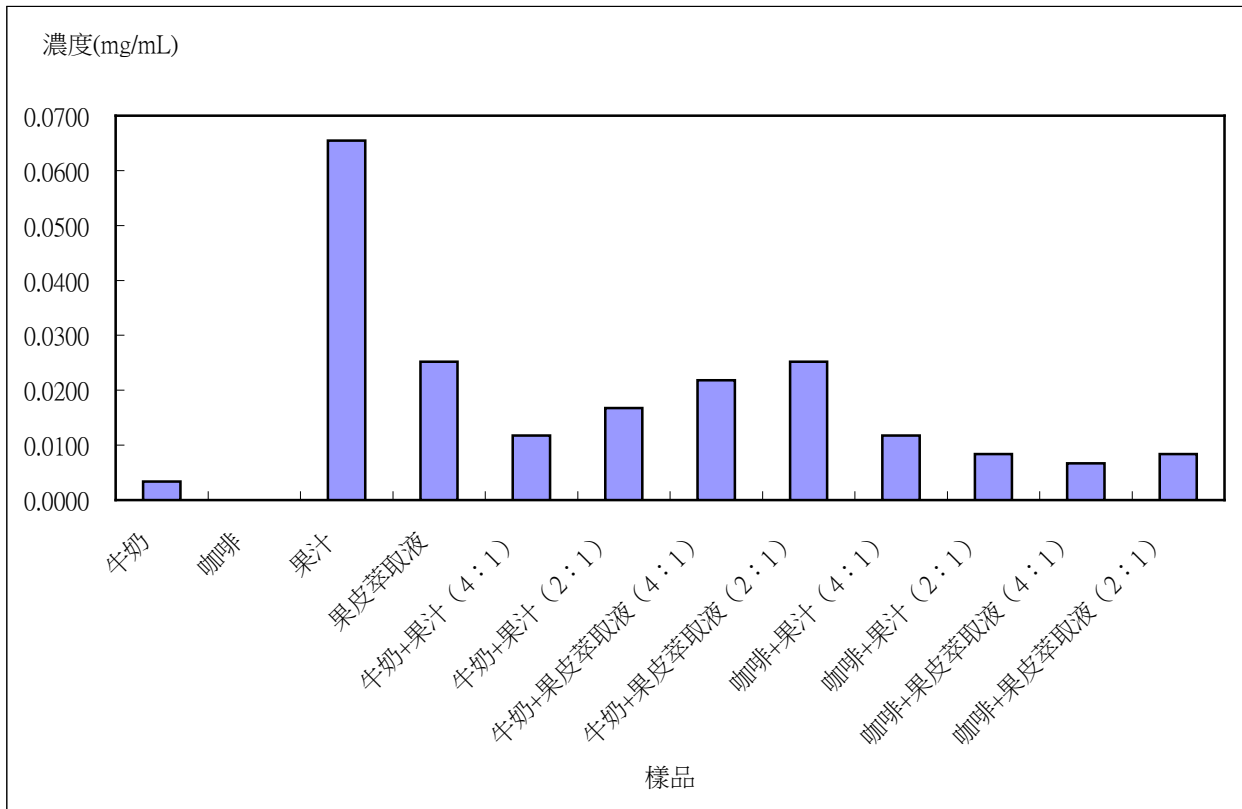


圖一 樣品的維他命 C 含量(%)比較



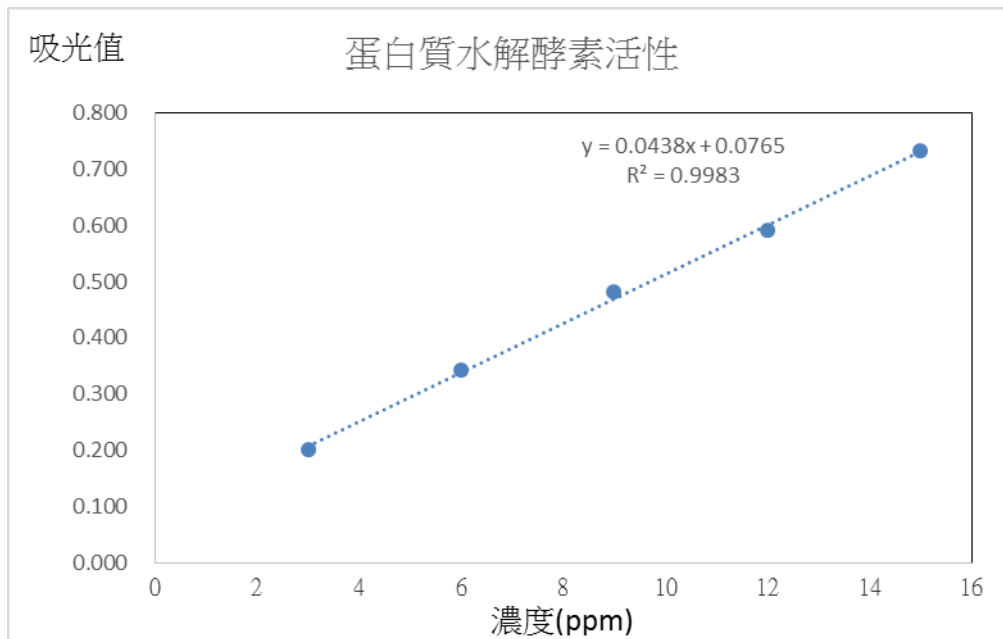
圖二 樣品的維他命 C 含量(mg/mL)比較

二、食品中維他命 C 含量測定



圖三 食品中維他命 C 含量比較

三、蛋白質水解酵素活性比較



圖四 蛋白質水解酵素活性標準曲線

表二 樣品中加入椪柑之酪胺酸的含量

種類	牛奶	牛奶與果汁	牛奶與果皮萃取液	咖啡	咖啡與果汁	咖啡與果皮萃取液
酪胺酸含量 (ppm)	43.00	15.33	19.78	0	0	0

四、捕捉 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)自由基能力：

$$\text{捕捉能力(\%)} = [(A_{517\text{nm,blank}} - A_{517\text{nm,sample}}) / (A_{517\text{nm,blank}})] \times 100\%$$

表三 樣品捕捉能力比較

種類	牛奶	咖啡	果汁	果皮萃取液	BHA(100ppm)
捕捉能力(%)	77.27	56.91	92.54	85.28	94.1

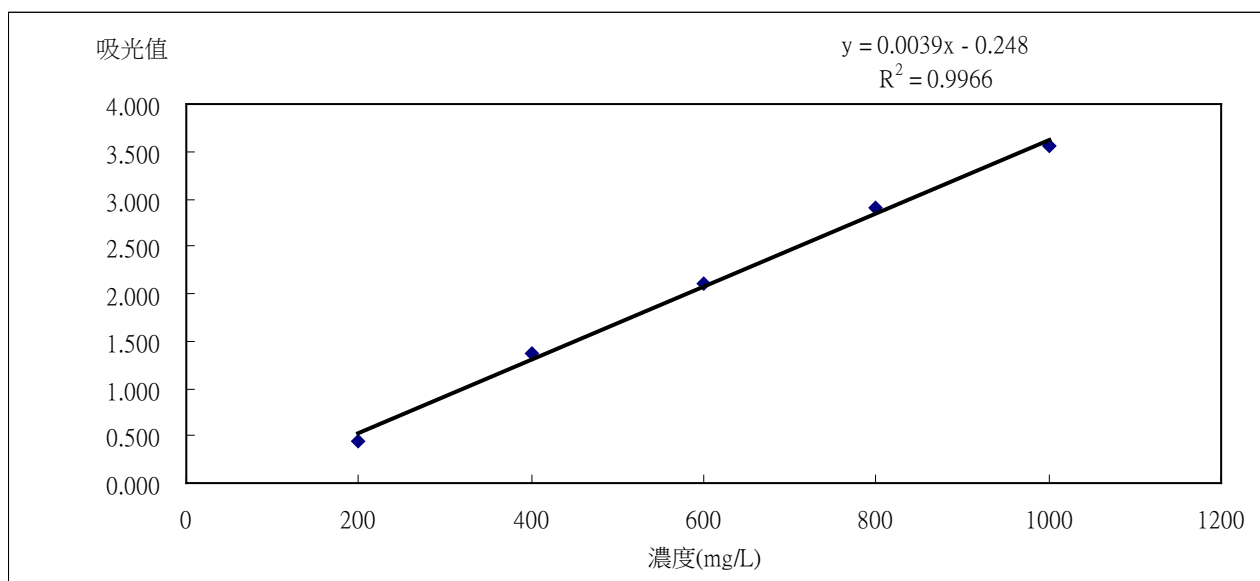
表四 椪柑於牛奶中捕捉能力比較

種類	牛奶加果汁 (4:1)	牛奶加果汁 (2:1)	牛奶加果皮萃取液 (4:1)	牛奶加果皮萃取液 (2:1)
捕捉能力(%)	74.22	79.81	77.86	79.90

表五 椪柑於咖啡中捕捉能力比較

種類	咖啡加果汁 (4:1)	咖啡加果汁 (2:1)	咖啡加果皮萃取液 (4:1)	咖啡加果皮萃取液 (2:1)
捕捉能力(%)	68.62	70.70	64.42	67.94

五、總酚含量測定：



圖五 總酚標準曲線

表六 樣品總酚比較

種類	牛奶	咖啡	果汁	果皮萃取液
相當於沒食子酸濃度(mg/L)	1715.38	1056.51	935.90	729.91

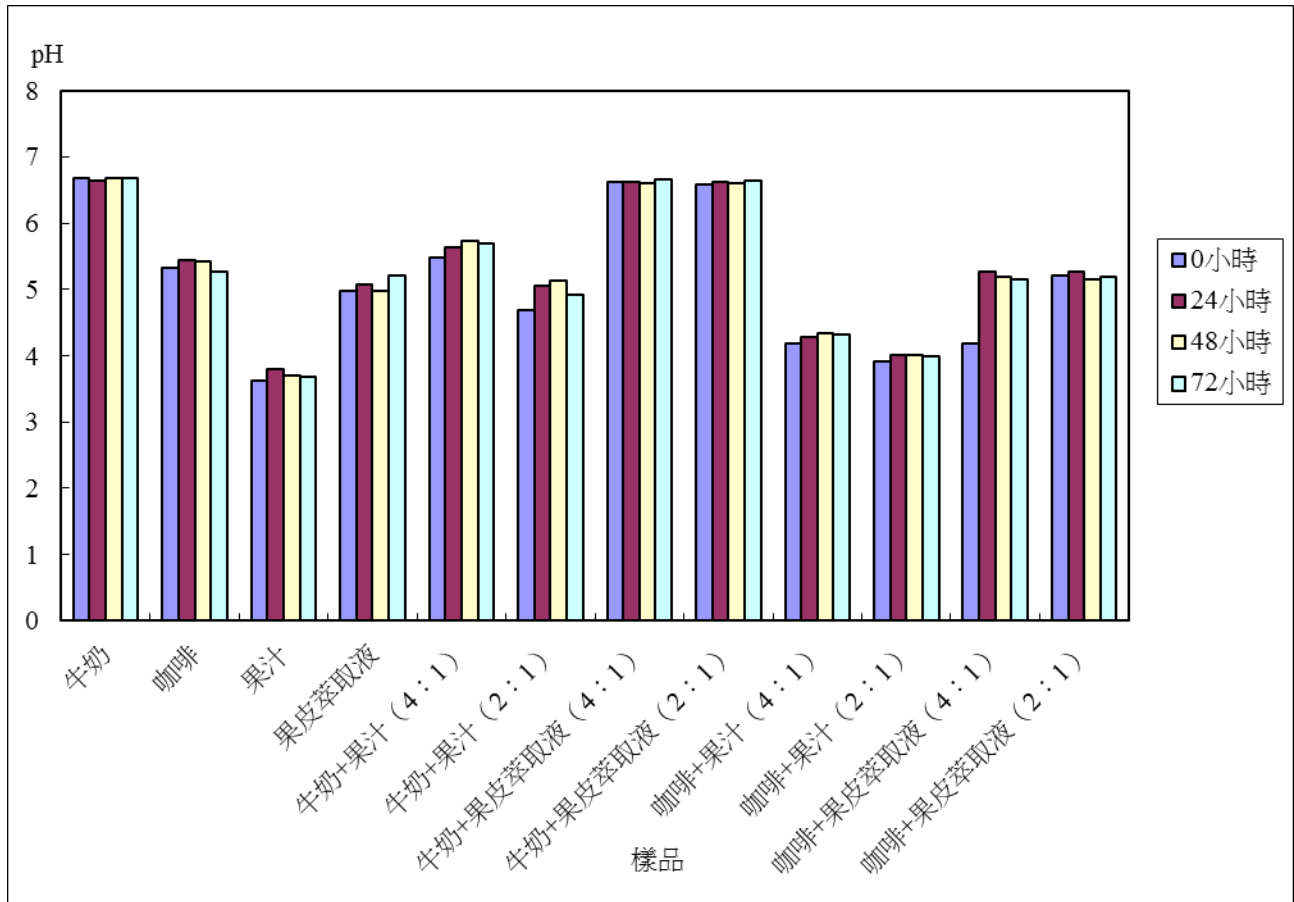
表七 極柑於牛奶中總酚比較

種類	牛奶加果汁 (4 : 1)	牛奶加果汁 (2 : 1)	牛奶加果皮萃 取液 (4 : 1)	牛奶加果皮萃 取液 (2 : 1)
相當於沒食子酸濃度(mg/L)	1782.48	1559.83	1794.02	1599.57

表八 極柑於咖啡中總酚比較

種類	咖啡加果汁 (4 : 1)	咖啡加果汁 (2 : 1)	咖啡加果皮萃 取液 (4 : 1)	咖啡加果皮萃 取液 (2 : 1)
相當於沒食子酸濃度(mg/L)	1081.20	1037.18	1019.23	939.32

六、椪柑於牛奶與咖啡中的 pH 值變化



圖六 椪柑於牛奶與咖啡中不同天數的 pH 比較



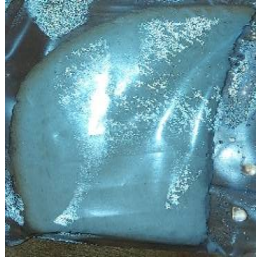

























七、各溶液滴入吐司的生菌情形













平均溫度：16.5°C

平均濕度：60.5%

表十二 椪柑於牛奶與咖啡的生菌現象比較

實 驗 品	第一天正面	第三天正面	實 驗 品	第一天反面	第三天反面
空 白 1			空 白 2		

					
果汁 1			果汁 2		
					
果皮 萃取液 1			果皮 萃取液 2		
					
咖啡 加果汁 1			咖啡 加果汁 2		
					

咖啡 加 萃 取 液 1			咖啡 加 萃 取 液 2		
牛奶 加 果 汁 1			牛奶 加 果 汁 2		
牛奶 加 果 皮 萃 取 液 1			牛奶 加 果 皮 萃 取 液 2		

陸、討論

一、維他命 C 的含量比較：

- 1、當試樣加入碘液時，維他命 C 被氧化，碘被還原成碘離子。當所有樣品維他命 C 被氧化後，加入的碘就與樣品中的澱粉反應，形成藍黑色的碘－澱粉錯合物，即為滴定終點。就可求得樣品中的維他命 C 含量多寡。由圖一可知椪柑的果汁維他命 C 含量(%)有 0.34%，相較於果皮萃取液高約 2.77 倍，維他命 C 含量(%)以椪柑的果汁 > 牛奶 > 果皮萃取液 > 咖啡。
- 2、由圖一可知當牛奶中加入果汁或果皮萃取液的維他命 C 含量(%)比較，以牛奶加入果汁(4:1) > 牛奶加入果皮萃取液(4:1) > 牛奶加入果汁(2:1) > 牛奶加入果皮萃取液(2:1)，由文獻可知牛奶含有豐富的維他命 B2 與維他命 C 結合時，會引起氧化還原反應，使維他命 B2 被還原，維他命 C 被氧化，因此當遇上維他命 C 含量較多時，容易進行氧化還原反應，因此由實驗證明牛奶與豐富維他命 C 樣品結合時，降低維他命 C 的含量。
- 3、由圖一可知當咖啡中加入果汁或果皮萃取液的維他命 C 含量(%)比較，以咖啡加入果汁(4:1) > 咖啡加入果皮萃取液(2:1) > 咖啡加入果皮萃取液(4:1) = 咖啡加入果汁(2:1)，推測咖啡本身的色澤影響滴定終點的判斷，據文獻資料得知咖啡無維他命 C 含量，故在咖啡中加入果汁或果皮萃取液皆可增加維生素 C 含量，但咖啡的色澤相對的影響滴定終點判斷。
- 4、圖二與圖一的差異，在配製的過程中，碘酸鉀與碘化鉀混合後加入的酸液，圖一的步驟 2 中加入濃鹽酸，圖二步驟 2-1 中加入 3M 硫酸，進行滴定實驗反應時，樣品為純的維他命 C 時，其滴定結果無明顯的差異性，但樣品為牛奶、咖啡、果汁和果皮萃取液時，有明顯的差異性，因此推測實驗加入的鹽酸，使碘標準液較不穩定，發生氧化還原反應的速率加快，導致滴定終點的判定無明顯區分，而加入硫酸其配製的碘標準液較為穩定，且滴定過程，對於試樣的維他命 C 含量(mg/mL)差異有顯著的差異性。
- 5、由圖二可知維他命 C 含量(mg/mL)以椪柑的果汁 > 果皮萃取液 > 牛奶 > 咖啡，椪柑的

果汁維他命 C 含量(mg/mL)有 5.0183 mg/mL，相較於果皮萃取液高約 2.62 倍，而高牛奶約 4.86 倍，咖啡測到數值經實驗推測因加入 4 倍的水，增加滴定終點的判斷造成的誤差。

6、由圖二可知當牛奶中加入果汁或果皮萃取液的維他命 C 含量比較，以牛奶加入果汁(2:1)>牛奶加入果皮萃取液(2:1)>牛奶加入果汁(4:1)>牛奶加入果皮萃取液(4:1)。

7、由圖二可知當咖啡中加入果汁或果皮萃取液的維他命 C 含量皆相同，無明顯的差異性，推測咖啡的色澤影響滴定終點的判斷，因此加入 4 倍的水稀釋，方便滴定終點的判讀。

二、食品中維他命 C 含量測定：

1、以 DCPIP 在酸性溶液和鹼性溶液中呈現不同的顏色，因加入 $\text{HPO}_3 - \text{HOAc}$ 使樣品呈現酸性，其所測得的維他命 C(mg/mL)比較為極柑的果汁>果皮萃取液>牛奶>咖啡。

2、由圖三可知當牛奶中加入果汁或果皮萃取液的維他命 C 含量比較，以牛奶加入果皮萃取液(2:1)>牛奶加入果皮萃取液(4:1)>牛奶加入果汁(2:1)>牛奶加入果汁(4:1)。

3、由圖三可知當咖啡中加入果汁或果皮萃取液的維他命 C 含量比較，以咖啡加入果汁(4:1)>咖啡加入果汁(2:1)=咖啡加入果皮萃取液(2:1)>咖啡加入果皮萃取液(4:1)。

三、蛋白質水解酵素比較得知，蛋白是一種主要的牛奶蛋白，乃是由一個個氨基酸所構成的。分解蛋白質的酵素會將 2 個氨基酸的鍵打斷，而釋出氨基酸。用來測試則是利用含酪蛋白的培養基，此培養基因含酪蛋白存在故為混濁狀，若菌會分解酪蛋白，則會有一個清晰的區域，若仍為混濁則為負反應，所以由表二實驗數據得知牛奶中加入極柑的果汁和萃取的果皮皆分別使酪胺酸的含量下降 64%和 54%。

四、清除 DPPH 自由基能力測定：

1、當 DPPH 與抗氧化物質作用時，抗氧化物提供氫原子的能力，而 DPPH 自由基本身會失去藍紫色的特性而造成吸光值下降，當 DPPH 自由基被清除越多，顏色越淺、吸光

值愈低，則表示樣品對 DPPH 自由基的清除能力越強。

2、由表三得知捕捉能力為果汁 > 果皮萃取液 > 牛奶 > 咖啡，且果汁的捕捉能力快接近於 100ppm 的標準品(BHA)，表示果汁對 DPPH 自由基的清除能力強。

3、由表四、五得知牛奶中分別加入果汁和果皮萃取液的捕捉能力皆高於 70%以上。而從表五推測咖啡的捕捉能力較牛奶低，因為咖啡的本身的自由基清除能力不佳，再加入果汁和果皮後提高捕捉能力到 64~70%之間。

五、總酚含量測定：

1、採用的是 Folin-Ciocalteu 比色法，以沒食子酸做為總酚相對含量的表示，並以此作為抗氧化力強弱判斷的依據。總酚測定方法為利用樣品與福林酚反應產生之顏色變化來測量總酚含量，能與福林酚反應之化學物質皆被納入酚類化合物，故此方法得到之數值僅能表示樣品的抗氧化能力，而非代表其中酚類化合物之含量。

2、由表六得知，牛奶的不透光性，影響吸光值，故實驗時牛奶需離心，減少牛奶的懸浮物影響吸光值，故測得牛奶的相當於沒食子酸濃度最高。

3、由表七得知，在總酚含量實驗中，總酚含量比較為牛奶加果皮萃取液(4：1) > 牛奶加果汁(4：1) > 牛奶加果皮萃取液(2：1) > 牛奶加果汁(2：1)，由此可知牛奶加入果汁的總酚相對含量最高，表示抗氧化能力越好。

4、由表八得知，在總酚含量實驗中，總酚含量比較為咖啡加果汁(4：1) > 咖啡加果汁(2：1) > 咖啡加果皮萃取液(4：1) > 咖啡加果皮萃取液(2：1)，由此可知咖啡加入果汁的總酚相對含量最高，表示抗氧化能力越好。

六、由圖六可知椋柑於牛奶與咖啡中的 pH 值變化，以每 24 小時測 pH 值變化，發現咖啡中加入果皮萃取液的比例為 4：1 時，第一天的 pH 值會比咖啡較酸，但第二天回升至接近咖啡的 pH 值約為 5.19，可知咖啡中加入果汁，可以成為另類的飲品。

七、各溶液滴入吐司的生菌情形可得知，因椋柑放置約兩星期後，整顆發霉，因此觀察麵包有黴菌生成時，用椋柑萃取液試圖抑菌，但發現反而生菌更多，因此將咖啡加果汁、咖啡加果皮萃取液、牛奶加果汁和牛奶加果皮萃取液，觀察生菌的多寡，發現三天後全部發霉，且以麵包正面產生霉菌量最高。

柒、結論

- 一、不同實驗方法測得維他命 C 含量可由圖一、二、三得知，牛奶、咖啡、果汁和果皮萃取液中，以果汁的維他命 C 含量最高。
- 二、不同實驗方法測得維他命 C 含量可由圖一、二、三得知，在咖啡或牛奶中加入果汁或果皮萃取液皆使維他命 C 含量皆相對的下降。
- 三、由圖二與圖三比較得知，因 DCPIP 與樣品中的維他命 C 結合時，其 DCPIP 顏色由藍色變粉紅色即為滴定終點，但圖二以產生藍黑色的碘-澱粉錯合物為滴定終點，因此由圖二、圖三相對比較出維他命 C 含量，以圖二牛奶加入果汁(2：1)測得較高的維他命 C 含量而圖三以牛奶加入果皮萃取液(2：1)測得的維他命 C 含量最高。
- 四、由表二在牛奶中加入果汁或果皮萃取液時，其酪胺酸含量有明顯的降低。
- 五、由表三中得知果汁的捕捉能力最好，而表四、五比較得知在捕捉 DPPH 自由基能力實驗發現牛奶中添加果汁和果皮萃取液，其比例在 2：1 時捕捉能力最佳。
- 六、由表六中得知牛奶的總酚相對含量最高，而表七、八可得知總酚含量以牛奶加入果皮萃取液(4：1)相當於沒食子酸含量最高，表示抗氧化能力最好。
- 七、在 pH 變化實驗中，發現檳柑果汁或果皮萃取液在牛奶或咖啡中不會因短時間混合，造成酸敗現象。
- 八、在吐司生菌實驗中，可發現牛奶或咖啡中加入含有維他命 C 的檳柑果汁或果皮萃取液時，不但不會抑菌反而增生更多的霉菌。

捌、參考資料及其他

【摘要及資料庫資料】分光光度計，取自

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Kinetics/02%3A_Reaction_Rates/2.01%3A_Experimental_Determination_of_Kinetics/2.1.05%3A_Spectrophotometry](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Kinetics/02%3A_Reaction_Rates/2.01%3A_Experimental_Determination_of_Kinetics/2.1.05%3A_Spectrophotometry)

【摘要及資料庫資料】黑咖啡，取自

<https://nature12152001.pixnet.net/blog/post/20029744-啡的化學組織及其變化>

【摘要及資料庫資料】蛋白質分離與定量，取自

<http://juang.bst.ntu.edu.tw/files%20BCX/BCX%20P1.pdf>

【摘要及資料庫資料】牛奶，取自

<https://kknews.cc/zh-tw/health/5386v32.html>

【摘要及資料庫資料】檳柑果汁，取自

<https://sites.google.com/site/nutrientranking/analysis/tangerine>

【摘要及資料庫資料】檳柑果皮，取自

<https://agrapp.afa.gov.tw/old/formupload/%E6%9F%91%E6%A9%98%E9%A1%9E%E6%9E%9C%E7%9A%AE%E5%8A%A0%E5%B7%A5%E5%88%A9%E7%94%A8%EF%BC%8D%E8%94%A1%E6%A6%AE%E5%93%B2.pdf>

【摘要及資料庫資料】碘滴定

https://chem.ntou.edu.tw/ezfiles/28/1028/attach/61/pta_5825_8721830_31585.pdf

【摘要及資料庫資料】碘滴定

http://www.hkedcity.net/res_data/edbltr-sci/1001-2000/997ef44a2b408e0c9e5fbf6c8e45653a1279/Vitamin_C_c.pdf

【摘要及資料庫資料】碘滴定

<http://www.seafood.nkmu.edu.tw/readimage.php?file=file/3626/%E8%AC%9B%E7%BE%A9/102-2%E7%B6%AD%E7%94%9F%E7%B4%A0C%E7%9A%84%E6%B8%AC%E5%AE%9A.pdf>

【摘要及資料庫資料】DCPIP

<http://www.seafood.nkmu.edu.tw/readimage.php?file=file/3626/%E8%AC%9B%E7%BE%A9/102-2%E7%B6%AD%E7%94%9F%E7%B4%A0C%E7%9A%84%E6%B8%AC%E5%AE%9A.pdf>

【書籍】

張家銘 歐秉原 曾憲平 蔡永昌《分析化學實習上》•新北市：台科大

【書籍】

湯惠光《普通化學下》•新北市：台科大

【書籍】

劉麗雲《食品分析實驗操作指引》•台北：秀威出版

【評語】 052401

本作品分別於咖啡和牛奶中加入不同比例的果汁或果皮萃取液，利用不同的實驗方法測得維他命 C 含量的變化、捕捉 DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 自由基能力和總酚含量等，探討椪柑果汁及果皮萃取液對抗氧化能力的影響。藉由簡易實驗量測結果與比較，得知果汁維他命 C 含量最高、果汁與果皮萃取液皆使得牛奶之酪胺酸含量下降、pH 值隨時間漸趨穩定、果汁果皮萃取液使得霉菌增長等現象，本作品有趣且實用，同學熱情完成多項實驗，值得鼓勵。惟實驗設計可以更完整，例如：牛奶或黑咖啡與果汁或果皮萃取液之比例僅考慮 2:1 或 4:1 兩種，若多增加幾組不同比例，可能會獲得更有意義的結果。又如實驗數據若能統計平均值與誤差值，可以獲得更令人信服之詮釋。希望同學再接再厲。

作品簡報

中華民國第61屆中小學科學展覽會

科 別：工程學科(二)(含材料、能源、化工、土木)

組 別：高級中等學校組

作品名稱：南橘北枳

關鍵詞：椪柑、碘滴定、維他命C

研究目的

維生素C
含量變化

以椪柑果汁
的維他命C含
量為最高。

蛋白質
水解酵素

牛奶加果汁
及果皮萃取
液後，皆使
其酪胺酸含
量下降。

捕捉DPPH
自由基能力

以牛奶加入果
汁或果皮萃取
液(2:1)時，其
捕捉能力為最
佳。

總酚含量

牛奶、咖啡各
別加入果皮
(4:1)及果汁(4
:1)時，個別
之總酚相對含
量為最高。

pH值測定

咖啡於不同時
間下靜置，其
pH值變化趨於
穩定，故可作
為另類飲品。

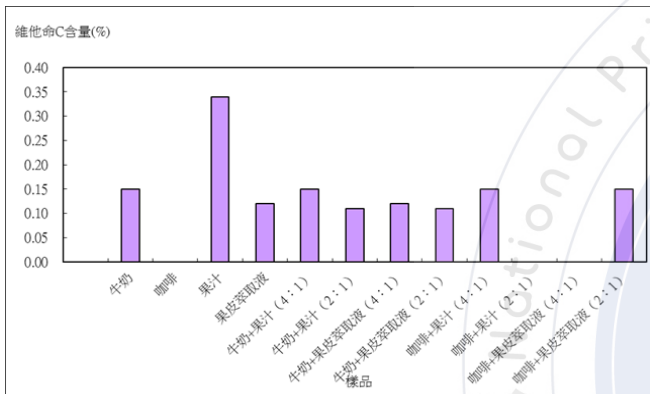
生菌實驗

牛奶、咖啡中
加入果汁或果
皮萃取液，無
抑菌效果。

- 本實驗探討以椪柑果汁及果皮為主軸，分別於咖啡和牛奶中加入果汁和果皮萃取液，各以不同的實驗方法，研究其本身與混合時的性質變化及差異，且淺談性質於應用層面之可行性。
- 維他命C含量變化、與蛋白質溶液作用之變化、抗氧化能力、pH值之變化、生菌現象。

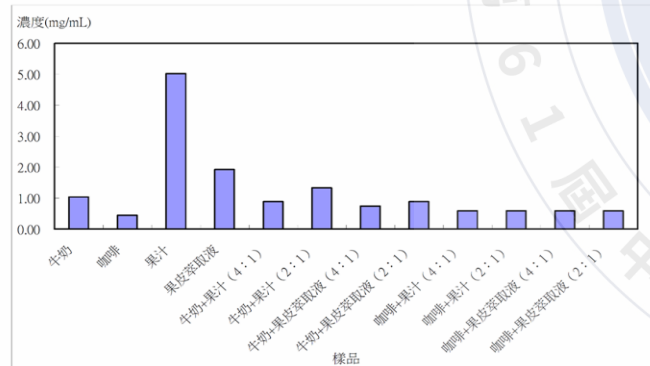
研究結果

一、維他命C之含量測定：



→ 牛奶中加入果汁或果皮萃取液的維他命C含量(%), 以牛奶加入果汁(4:1) > 牛奶加入果皮萃取液(4:1) > 牛奶加入果汁(2:1) > 牛奶加入果皮萃取液(2:1)。

→ 咖啡中加入果汁或果皮萃取液的維他命C含量(%), 以咖啡加入果汁(4:1) > 咖啡加入果皮萃取液(2:1) > 咖啡加入果皮萃取液(4:1) = 咖啡加入果汁(2:1), 推測咖啡本身的色澤影響滴定終點的判斷。據文獻資料得知咖啡無維他命C含量, 故於咖啡中加入果汁或果皮萃取液皆可增加維生素C含量, 但咖啡的色澤亦相對影響滴定終點判斷。



→ 維他命C含量(mg/mL)以極柑的果汁 > 果皮萃取液 > 牛奶 > 咖啡。極柑的果汁維他命C含量(mg/mL)為 5.0183 mg/mL, 各高於果皮萃取液、牛奶約2.62倍及4.86倍。咖啡所得之數值經實驗推測, 因加入4倍的水, 故增加判斷滴定終點之誤差。

→ 牛奶中加入果汁或果皮萃取液的維他命C含量(mg/mL), 以牛奶加入果汁(2:1) > 牛奶加入果皮萃取液(2:1) > 牛奶加入果汁(4:1) > 牛奶加入果皮萃取液(4:1)。

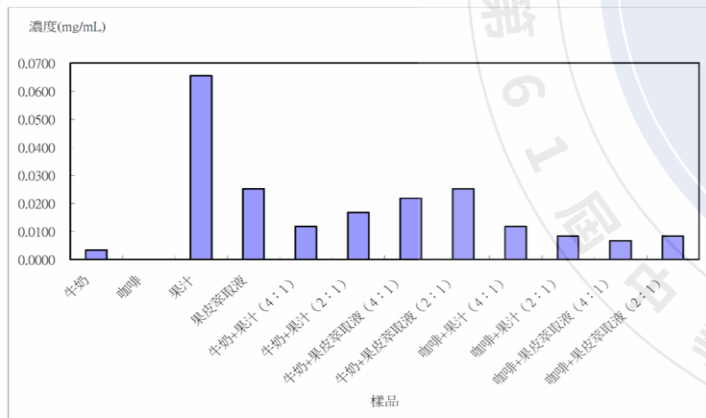
圖二 樣品的維他命C含量(mg/mL)比較

二、維他命C 含量比較：

- 當試樣加入碘液時，維他命C 被氧化，而碘被還原成碘離子。當所有樣品的維他命C 被氧化後，加入的碘與樣品中的澱粉反應，形成藍黑色的碘—澱粉錯合物，即為滴定終點，進而求得樣品中的維他命C 含量。
- 咖啡中加入果汁或果皮萃取液的維他命 C 含量(mg/mL)，皆相同，無明顯的差異，推測咖啡的色澤影響滴定終點的判斷，故加入4 倍的水稀釋，以便判讀滴定終點。
- 經實驗發現，實驗中加入的鹽酸，會使碘標準液較不穩定，加快氧化還原反應之速率以致不易判斷滴定終點；而加入硫酸所配製的碘標準液較為穩定，且滴定過程中之於試樣的維他命 C 含量(mg/mL)有顯著差異。

三、食品中維他命C含量測定：

- DCPIP 在酸性溶液和鹼性溶液中會呈現不同的顏色，然而加入 HPO_3-HOAc 會使樣品呈現酸性，且其測得的維他命 C(mg/mL)含量比較為極柑果汁 > 果皮萃取液 > 牛奶 > 咖啡。
- 當牛奶中加入果汁或果皮萃取液的維他命 C 含量比較，以牛奶加入果皮萃取液(2 : 1) > 牛奶加入果皮萃取液(4 : 1) > 牛奶加入果汁(2 : 1) > 牛奶加入果汁(4 : 1)。
- 當咖啡中加入果汁或果皮萃取液的維他命 C 含量比較，以咖啡加入果汁(4 : 1) > 咖啡加入果汁(2 : 1) = 咖啡加入果皮萃取液(2 : 1) > 咖啡加入果皮萃取液(4 : 1)。



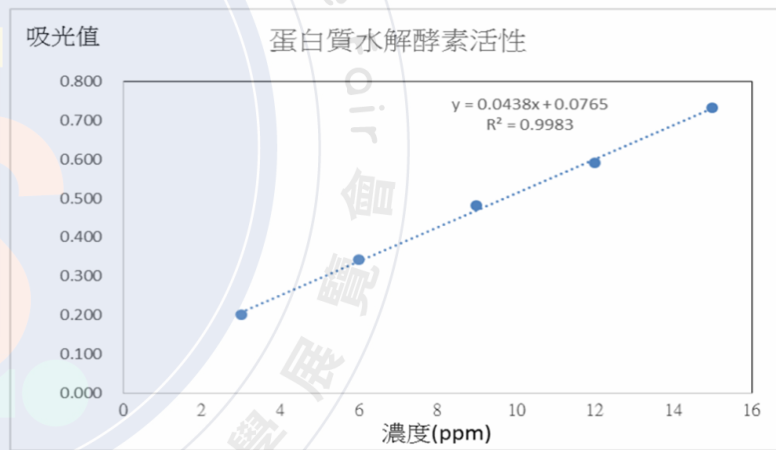
圖三 食品中維他命 C 含量比較

四、蛋白質水解酵素比較：

→ 蛋白是一種主要的牛奶蛋白，由氨基酸所構成。分解蛋白質的酵素會將2個氨基酸的鍵打斷而釋出氨基酸，利用含酪蛋白的培養基以進行測試。若酪蛋白存在則培養基為混濁狀，而菌若分解酪蛋白，則會有個清晰之區域，如仍混濁則為負反應。

表二 樣品中加入椪柑之酪胺酸的含量

種類	牛奶	牛奶與果汁	牛奶與果皮萃取液	咖啡	咖啡與果汁	咖啡與果皮萃取液
酪胺酸含量 (ppm)	43.00	15.33	19.78	0	0	0



圖四 蛋白質水解酵素活性標準曲線

→ 牛奶中加入椪柑果汁及果皮萃取液皆分別使酪胺酸的含量下降64%和54%。

五、捕捉DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)自由基能力：

→ 當DPPH 與抗氧化物質作用時，抗氧化物提供氫原子的能力。作用時DPPH 自由基本身會失去藍紫色的特性而使吸光值下降，而DPPH 自由基被捕捉量與顏色、吸光值呈負相關。

表三 樣品捕捉能力比較

種類	牛奶	咖啡	果汁	果皮萃取液	BHA(100ppm)
捕捉能力(%)	77.27	56.91	92.54	85.28	94.1

→ 捕捉能力比較為果汁 > 果皮萃取液 > 牛奶 > 咖啡，且果汁的捕捉能力快接近於100ppm 的標準品(BHA)，故果汁對DPPH 自由基的捕捉能力強。

表四 極柑於牛奶中捕捉能力比較

種類	牛奶加果汁 (4:1)	牛奶加果汁 (2:1)	牛奶加果皮萃取 液(4:1)	牛奶加果皮萃取 液(2:1)
捕捉能力(%)	74.22	79.81	77.86	79.90

→ 牛奶中分別加入果汁和果皮萃取液的捕捉能力皆高於70% 以上。

表五 極柑於咖啡中捕捉能力比較

種類	咖啡加果汁 (4:1)	咖啡加果汁 (2:1)	咖啡加果皮 萃取液(4:1)	咖啡加果皮 萃取液(2:1)
捕捉能力(%)	68.62	70.70	64.42	67.94

→ 咖啡的捕捉能力較牛奶低，因為咖啡本身的自由基捕捉能力不佳，而加入果汁和果皮萃取液後，則捕捉能力提高到64~70%之間。

六、總酚含量測定：

表六 樣品總酚比較

種類	牛奶	咖啡	果汁	果皮萃取液
相當於沒食子酸濃度(mg/L)	1715.38	1056.51	935.90	729.91

→ 由表六中得知牛奶的總酚相對含量為最高。

表七 極柑於牛奶中總酚比較

種類	牛奶加果汁 (4:1)	牛奶加果汁 (2:1)	牛奶加果皮萃 取液(4:1)	牛奶加果皮萃 取液(2:1)
相當於沒食子酸濃度(mg/L)	1782.48	1559.83	1794.02	1599.57

→ 牛奶加果皮萃取液(4:1) > 牛奶加果汁(4:1) > 牛奶加果皮萃取液(2:1) > 牛奶加果汁(2:1)之總酚含量，則得知牛奶加入果皮萃取液(4:1)的總酚相對含量為最高，故表示抗氧化能力越佳。

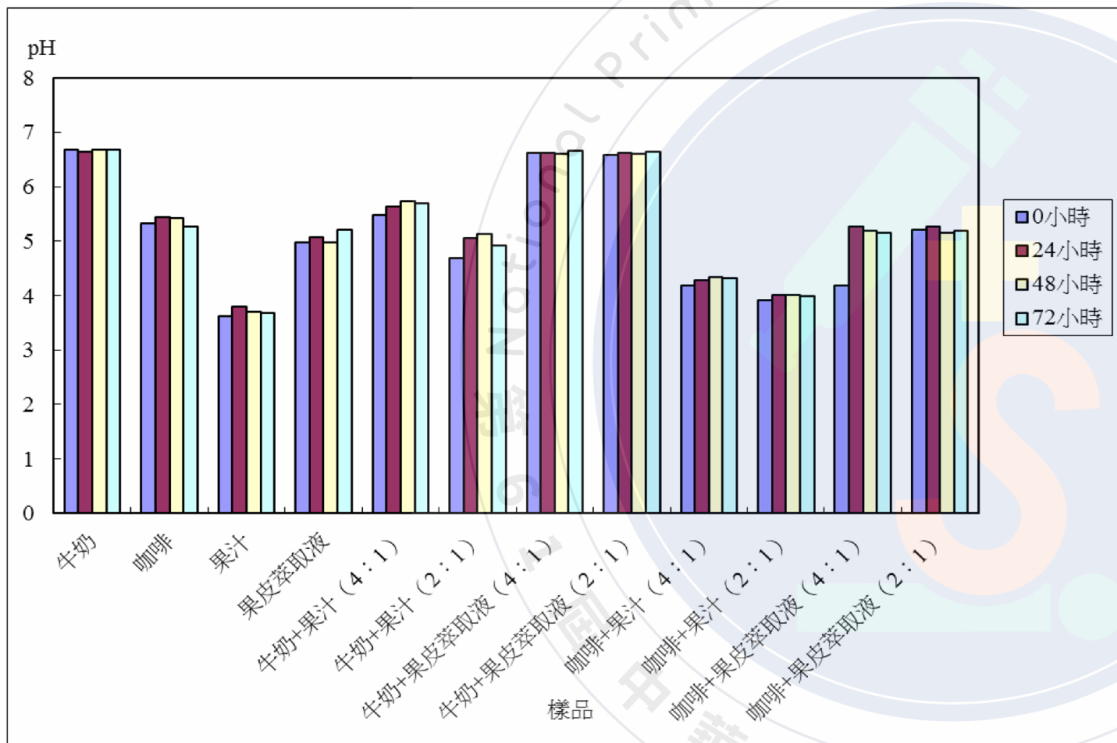
表八 極柑於咖啡中總酚比較

種類	咖啡加果汁 (4:1)	咖啡加果汁 (2:1)	咖啡加果皮萃 取液(4:1)	咖啡加果皮萃 取液(2:1)
相當於沒食子酸濃度(mg/L)	1081.20	1037.18	1019.23	939.32

→ 咖啡加果汁(4:1) > 咖啡加果汁(2:1) > 咖啡加果皮萃取液(4:1) > 咖啡加果皮萃取液(2:1)之總酚含量，則得知咖啡加入果汁(4:1)的總酚相對含量最高，故表示抗氧化能力越佳。

採用Folin-Ciocalteu 比色法，以沒食子酸做為總酚相對含量之表示，並以此作為抗氧化力強弱判斷之依據。總酚測定方法為利用樣品與福林酚反應所產生之顏色變化測量總酚含量，能與福林酚反應之化學物質皆被納入酚類化合物，故以此方法所得之數值僅能表示樣品的抗氧化能力，而無法作為酚類化合物之含量代表。

七、極柑於牛奶與咖啡中之pH值變化：



圖六 極柑於牛奶與咖啡中不同天數的 pH 比較

→ 以每 24 小時測得極柑於牛奶與咖啡中的 pH 值變化，得知咖啡中加入果皮萃取液(4:1)於第一天的 pH 值小於咖啡本身之 pH 值，但第二天回升至接近咖啡本身的 pH 值，其值約為 5.19，故可知咖啡的 pH 值變化趨於穩定。

八、生菌現象：

(平均溫度：16.5°C，平均濕度：60.5%)

表十二 椪柑於牛奶與咖啡的生菌現象比較

實驗品	第一天正面	第三天正面	實驗品	第一天反面	第三天反面
空白 1			空白 2		
果汁 1			果汁 2		
果皮萃取液 1			果皮萃取液 2		
咖啡加果汁 1			咖啡加果汁 2		
咖啡加果皮萃取液 1			咖啡加果皮萃取液 2		
牛奶加果汁 1			牛奶加果汁 2		
牛奶加果皮萃取液 1			牛奶加果皮萃取液 2		

→ 椪柑放置約兩星期後整顆發霉，因此當麵包有黴菌生成時，以椪柑萃取液抑菌，但發現生菌量不減反增，故改以咖啡加果汁、咖啡加果皮萃取液、牛奶加果汁和牛奶加果皮萃取液，觀察生菌的多寡，發現三天後皆發霉，且以麵包正面產生之霉菌量為最高，故無抑菌效果。

結論

圖一、二、三

在牛奶、咖啡、果汁及果皮萃取液中，以果汁的維他命C含量為最高。在咖啡、牛奶中加入果汁或果皮萃取液，維他命C含量皆相對下降。

圖二、三

圖二以牛奶加入果汁(2:1)測得較高的維他命C含量。圖三以牛奶加入果皮萃取液(2:1)測得的維他命C含量為最高。

表二

牛奶中加入果汁或果皮萃取液時，其酪胺酸含量明顯降低。

表三、四、五

表三可知果汁的捕捉能力最佳，而表四、五比較，可知牛奶中添加果汁、果皮萃取液以(2:1)含量比時，捕捉DPPH自由基能力為最佳。

表六、七、八

由表六中得知牛奶的總酚相對含量為最高，而表七、八可得知總酚含量以牛奶加入果皮萃取液(4:1)之相當於沒食子酸含量為最高，表示抗氧化能力最佳。

- pH值實驗中，椗柑果汁或果皮萃取液於牛奶或咖啡中，混合後，短時間內無酸敗現象。
- 吐司生菌實驗中，加入含維他命C的椗柑果汁或果皮萃取液之牛奶或咖啡並無抑菌效果。
- 富含維他命B2的牛奶與維他命C結合時，會引起氧化還原反應，使維他命B2與維他命C分別被還原與氧化，因此由實驗證明牛奶與豐富維他命C樣品結合時，降低維他命C的含量。

參考資料

一、資料庫資料

分光光度計，取自

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Kinetics/02%3A_Reaction_Rates/2.01%3A_Experimental_Determination_of_Kinetics/2.1.05%3A_Spectrophotometry](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Kinetics/02%3A_Reaction_Rates/2.01%3A_Experimental_Determination_of_Kinetics/2.1.05%3A_Spectrophotometry)

蛋白質分離與定量，取自<http://juang.bst.ntu.edu.tw/files%20BCX/BCX%20P1.pdf>

碘滴定，取自https://chem.ntou.edu.tw/ezfiles/28/1028/attach/61/pta_5825_8721830_31585.pdf

DCPIP，取自

<http://www.seafood.nkmu.edu.tw/readimage.php?file=file/3626/%E8%AC%9B%E7%BE%A9/102-2%E7%B6%AD%E7%94%9F%E7%B4%A0C%E7%9A%84%E6%B8%AC%E5%AE%9A.pdf>

二、書籍

張家銘 歐秉原 曾憲平 蔡永昌《分析化學實習上》.新北市：台科大

湯惠光《普通化學下》.新北市：台科大

劉麗雲《食品分析實驗操作指引》.台北：秀威出版