

中華民國第四十七屆中小學科學展覽會
作品說明書

高職組 農業及生物科技科

第二名

091402

抗氧化能力測定與應用

學校名稱：國立嘉義高級工業職業學校

作者：	指導老師：
職二 呂怡萱	黃勝明
職二 吳采懋	黃宗智
職二 羅伊伶	
職一 蕭亦琇	

關鍵詞：蔬果抗氧化 豆漿 維生素

抗氧化能力的測定及其應用

壹、摘要

我們創新一個方法，利用加入試樣的豆漿其腐敗速度，來比較各種試樣的抗氧化力。本方法再與還原力測定法相比較，來驗證此方法的可行性。利用此方法比較各種蔬果的抗氧化能力及在不同的酸鹼度、溫度下之影響，可進一步研究對人體有用的烹煮、食用方法。

實驗顯示豆漿腐敗法與還原力測定法結果相同，故可以證明豆漿腐敗法之可行性。在蔬果抗氧化力比較實驗中，取常見的 13 種蔬果比較之，可知抗氧化能力前五名分爲芭樂、蕃茄、九層塔、地瓜葉及空心菜。

從實驗發現抗氧化劑易存在於低溫、弱酸的環境下。蔬果加熱實驗發現，木瓜與蕃茄抗氧化力上升，但芭樂、花椰菜、九層塔、地瓜葉…等，抗氧化力皆減少。蕃茄烹煮實驗發現，蕃茄與油共煮，抗氧化力最強，而加小蘇打、米酒共煮時，抗氧化力下降。水果食用方法實驗發現，泡鹽的芭樂抗氧化力增加，加糖卻下降。

關 鍵 詞：蔬果抗氧化、豆漿、維生素。

貳、研究動機

『抗氧化』爲現今熱門話題。當我們進一步研究探討時，卻發現抗氧化的測定方法，皆需精密儀器、昂貴藥品，又步驟繁雜。我們想起日常食品常用抗氧化劑代替防腐劑，防止食物氧化，是否我們可以將食物加入豆漿中，利用豆漿腐敗速度，推測抗氧化能力，如此一來不需光學儀器，便能進行抗氧化能力研究。

參、研究目的

本實驗研究是否可由豆漿腐敗的速度，來判斷加入豆漿之蔬果抗氧化能力，在利用此方法，研究抗氧化劑在不同環境中所受的影響，進而在最有效益的狀況下攝取之。

研究流程依序爲：

1. 利用已知各茶葉抗氧化能力、還原力測定方法，來驗證創新方法的可行性。
2. 研究各蔬菜水果的抗氧化能力。
3. 研究抗氧化劑在不同酸鹼度及溫度下的變化。
4. 研究蔬果烹煮後，抗氧化劑的變化。
5. 研究蕃茄如何烹煮最好。
6. 吃水果沾什麼最好。

肆、研究設備及器材

表 1-1. 器材及其規格

器材		規格
1.	pH 計	METTLER TOLEDO
2.	離心機	
3.	吸量管	2、5、10ml
4.	騎碼天平	
5.	安全吸球	
6.	燒杯	100、250、500、1000ml
7.	定量瓶	100、250、1000ml
8.	量筒	25、100ml
9.	溫度計	
10.	石英管	
11.	果汁機	
12.	保鮮膜	
13.	離心管	10ml
14.	去離子水	
15.	分光光度計	SPECTRONIC 20D+ Spectrophotometer
16.	加熱板	

表 1-2. 樣品及試劑

樣品				試劑	
1.	豆漿	11.	木瓜	1.	甲醇(Methanol)
2.	綠茶茶葉	12.	柳丁	2.	磷酸三鈉(Trisodium Phosphate)
3.	紅茶茶葉	13.	橘子	3.	赤血鹽(Potassium Ferricyanide)
4.	烏龍茶茶葉	14.	蘋果	4.	氯化鐵(Ferric Chloride)
5.	pH7 校正液	15.	青椒	5.	DPPH(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)
6.	pH4 校正液	16.	花椰菜		
7.	芭樂	17.	綠花椰菜		
8.	空心菜	18.	九層塔		
9.	蕃茄	19.	西瓜		
10.	地瓜葉				

伍、研究過程與方法

〔實驗一〕實驗方法之驗證

以豆漿腐敗法和還原力測定法相比較，測其實驗結果是否相同，來驗證豆漿腐敗法是否可行。

【豆漿腐敗法】

(一) 原理：

以豆漿腐敗的速度為指標，加入樣品之豆漿，測其時間內 pH 值差，pH 值差越大，則表示腐敗速度越快。這麼一來就可得知各樣品的抗氧化力。

(二) 樣品配製：

1. 將四杯 100 ml 水煮沸後，分別加入 1 克紅、綠、烏龍茶茶葉泡 10 分鐘，其中一杯煮沸水作為空白試樣。

(三) 方法：

1. 將以上樣品取 10 ml 加入 90 ml 豆漿中
2. 置於 40°C 溫水中水浴，加速腐敗
3. 於 pH 計 (METTLER TOLEDO) 測 pH 值
4. 重複 1~3 步驟,做二次實驗
5. 每隔 2 小時測一次 pH 值
6. 將兩次數據取平均繪製數線圖
7. 取時間內之 pH 差值
8. 繪製成腐敗速度比的柱狀圖

【還原力測定法】

(一) 原理：

以普魯士藍 $[\text{Fe}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6)_3]$ 之生成量作為指標，將赤血鹽 $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 還原成黃血鹽 $[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ，黃血鹽再利用 Fe^{3+} 形成普魯士藍，藉由 700nm 處吸光值變化檢測還原力大小。

(二) 樣品配製：(同上)

(三) 方法：主要參考 Oyaizu (1986) 所述的方法

1. 取 2.5 ml 0.2M pH 6.6 之磷酸鈉緩衝液，加入 10ml 試樣
2. 加入 2.5 ml 1% 赤血鹽 $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ，於 50°C 水浴 20 分鐘
3. 取出冷卻，加入 2.5 ml 10% CCl_3 ，離心 (3000 轉 10 分鐘)
4. 取出上清液 5 ml，加入 5 ml 蒸餾水
5. 再加 1 ml 0.1% FeCl_3 顯色，放置 10 分鐘
6. 於分光光度計測 700nm 之吸光值
7. 為了避免誤差，樣品反應後之吸光值再扣掉樣品反應前之吸光值

〔實驗二〕蔬果抗氧化能力之比較

本實驗取用日常生活中常見之蔬果有空心菜、高麗菜、地瓜葉、青椒、花椰菜、綠花椰菜、九層塔、西瓜、芭樂、木瓜、柳丁、蘋果、橘子、蕃茄，共 13 種蔬果來比較其之間之抗氧化能力。

【豆漿腐敗法】

(一) 樣品配製：

1. 以清水仔細洗淨蔬果表皮
2. 取蔬果可食用部位稱重
3. 加入與蔬果等重之蒸餾水打汁，配置成質量比 1：1 之蔬果汁

(二) 方法：(同實驗一豆漿腐敗法之方法)

【還原力測定法】

(一) 樣品配製：(同上)

(二) 方法：(同實驗一還原力測定法之方法)

〔實驗三〕抗氧化劑受酸鹼度之影響

本實驗將芭樂泡入各 pH 值之溶液中 20 分鐘，取出後以蒸餾水洗淨，再加入等重的水打汁加入豆漿，觀察抗氧化劑在不同酸鹼度的變化。

(一) 樣品配製：

1. 以清水洗淨芭樂表皮
2. 去籽後稱重，將其分成 14 等份再切丁
3. 以鹽酸和氫氧化鈉配成 pH1、pH2、...、pH14 之溶液
4. 將芭樂泡入上述溶液中 20 分鐘
5. 將芭樂取出，以蒸餾水洗淨
6. 加入等重之蒸餾水打汁，配成重量 1：1 之芭樂汁

(二) 方法：(同實驗一豆漿腐敗法之方法)

〔實驗四〕抗氧化劑受溫度的影響

本實驗將芭樂泡入各溫度之蒸餾水，浸泡 20 分鐘後取出，加入等重之蒸餾水打汁，觀察抗氧化劑在不同溫度的變化。

(一) 樣品配製：

1. 以清水洗淨芭樂表皮
2. 去籽後稱重，將其分成 7 等份再切丁
3. 將芭樂泡入溫度為 0°C、15°C、30°C、45°C、60°C、75°C、90°C 之蒸餾水中 20 分鐘
4. 將芭樂取出後，加入等重之蒸餾水打汁，配成重量 1：1 之芭樂汁

(二) 方法：(同實驗一豆漿腐敗法之方法)

〔實驗五〕抗氧化劑受熱的影響

本實驗取用日常生活中，常見之蔬果有空心菜、地瓜葉、青椒、花椰菜、綠花椰菜、九層塔、西瓜、芭樂、木瓜、柳丁、蘋果、橘子、蕃茄，共 13 種蔬果。以 100°C 隔水加熱 20 分鐘之蔬果為實驗組，置於常溫下之蔬果為對照組，來比較各蔬果之抗氧化劑受加熱的影響。

（一）樣品配製：

1. 以清水仔細洗淨蔬果表皮
2. 取蔬果可食用部位稱重
3. 加入與蔬果等重之蒸餾水打汁，配成重量 1：1 之蔬果汁
4. 將上述蔬果汁各分成 2 份，其中一份於 100°C 沸水中，隔水加熱

（二）方法：（同實驗一豆漿腐敗法之方法）

〔實驗六〕蕃茄烹煮方法之研究

本實驗稱取等質量的糖、鹽、小蘇打、味精、醋、米酒、橄欖油、豬油，分別加入蕃茄汁中，置 100°C 水中隔水加熱 20 分鐘，來觀察其中抗氧化劑之變化。

（一）樣品配製：

1. 以清水仔細洗淨蕃茄表皮
2. 蕃茄去蒂頭後稱重，將其分成 9 等份再切丁
3. 加入等重之蒸餾水打汁，配成重量 1：1 之蕃茄汁
4. 分別加入糖、鹽、小蘇打、味精、醋、米酒、橄欖油、豬油各 5 克
5. 置於 100°C 水中，隔水加熱 20 分鐘

（二）方法：（同實驗一豆漿腐敗法之方法）

〔實驗七〕水果食用方法之研究

本實驗將芭樂泡入同濃度之甘草粉、梅粉、鹽、煉乳、糖、巧克力的水溶液中 20 分鐘，來研究其中之抗氧化劑是否受到影響。

（一）樣品配製：

1. 以清水洗淨芭樂表皮
2. 去籽後稱重，將其分成 7 等份再切丁
3. 將芭樂泡入濃度 8% 之甘草粉、梅粉、鹽、煉乳、糖、巧克力的水溶液中 20 分鐘
4. 將芭樂取出後，以蒸餾水洗淨
5. 加入等重之蒸餾水打汁，配成重量 1：1 之芭樂汁

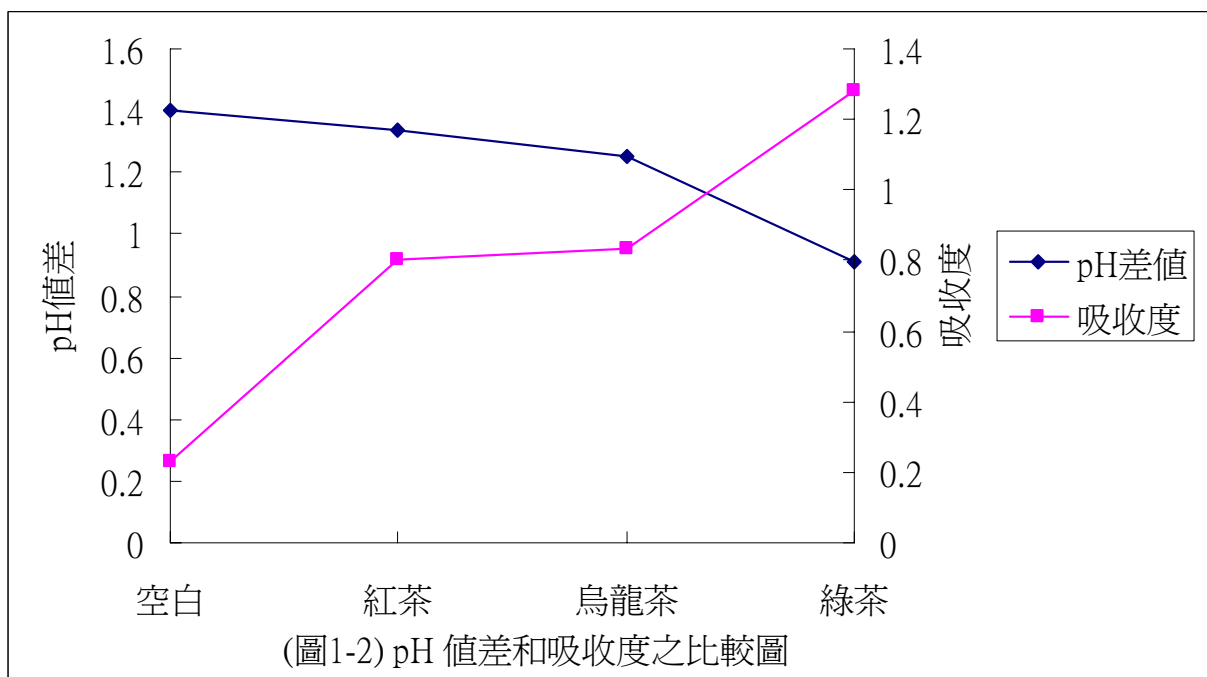
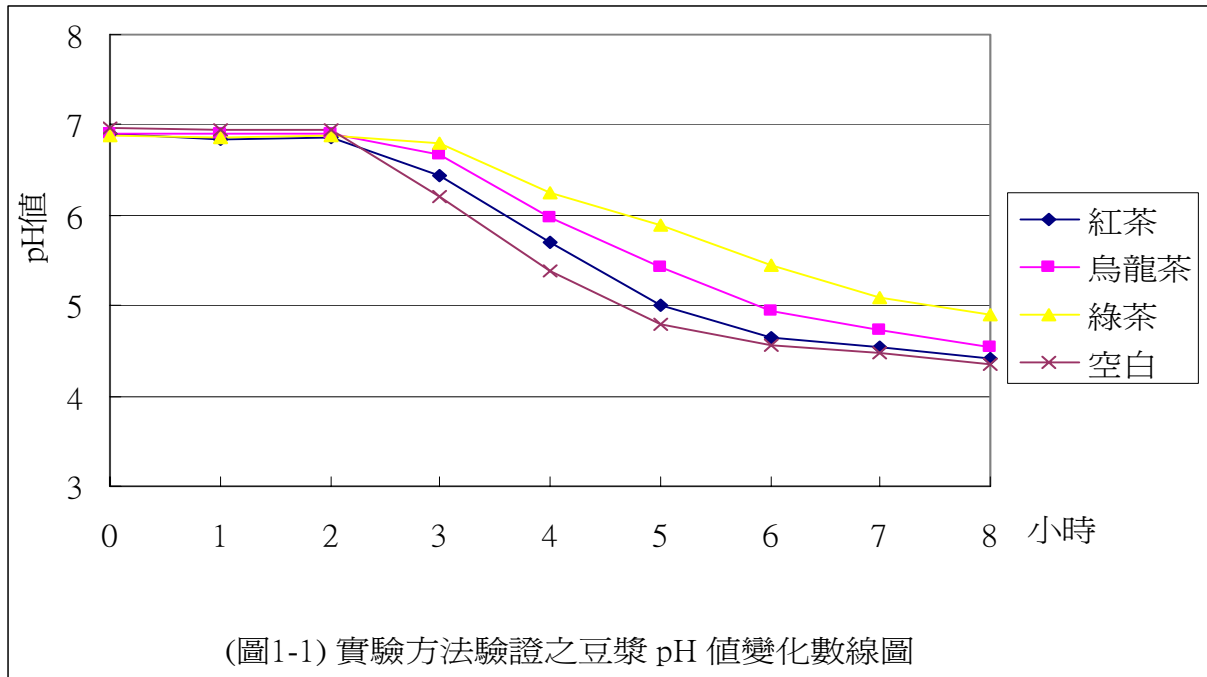
（二）方法：（同實驗一豆漿腐敗法之方法）

陸、研究結果

我們算取各試樣同一時間之 pH 值差，差值越大，表示其腐敗越快，再由腐敗速度推測各試樣中樣品的抗氧化能力。

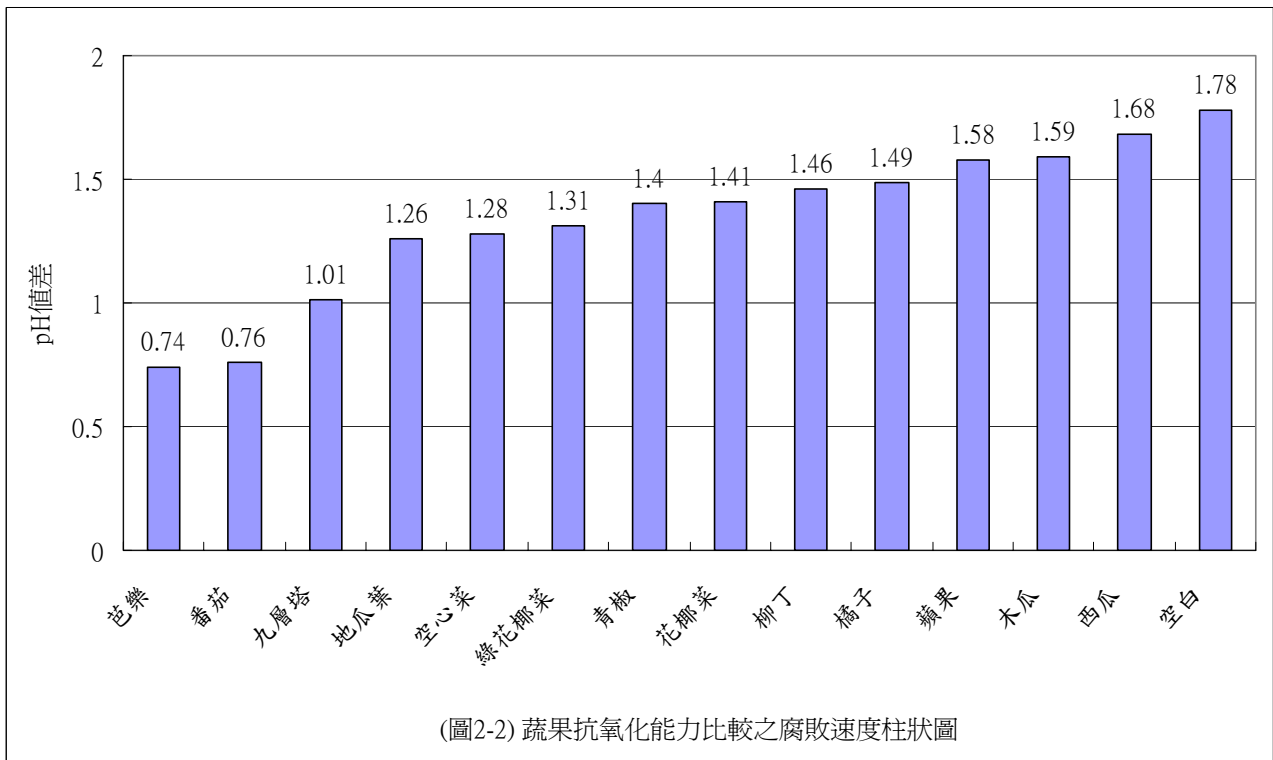
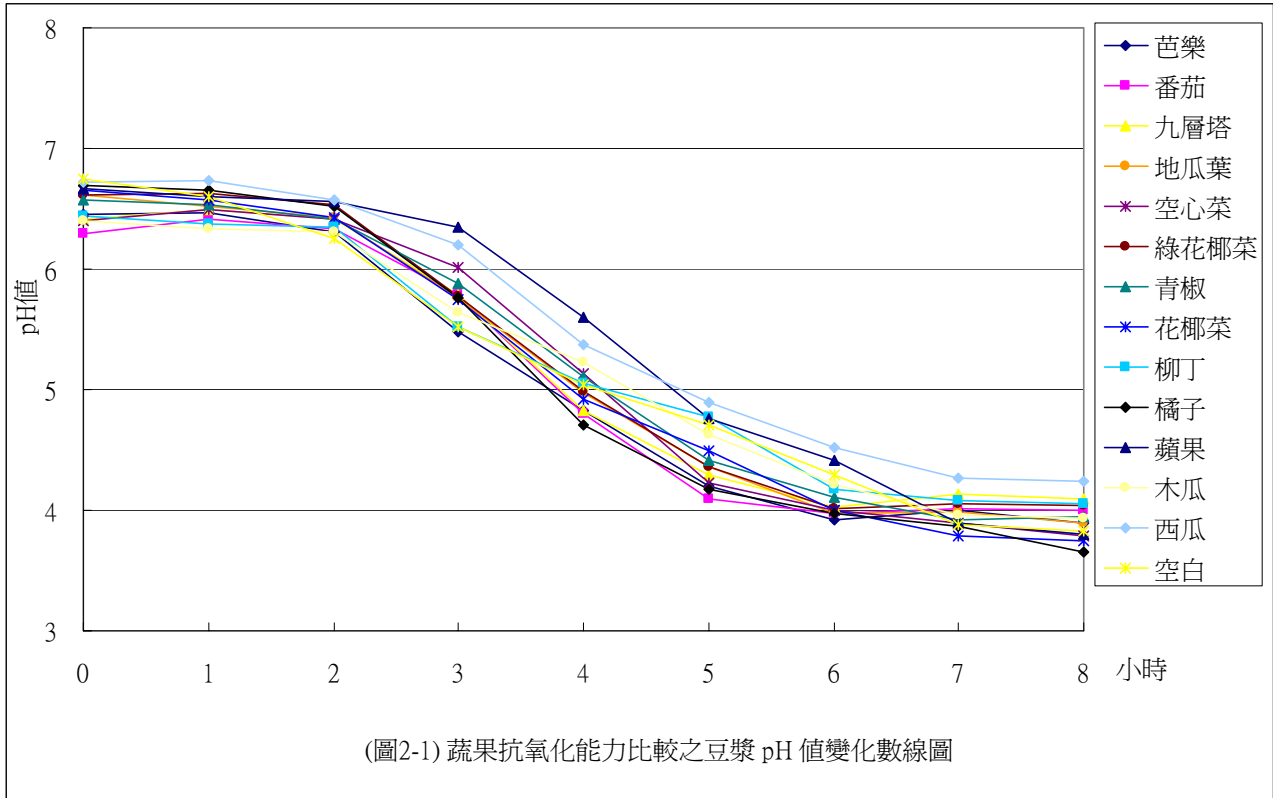
【實驗一】實驗方法之驗證

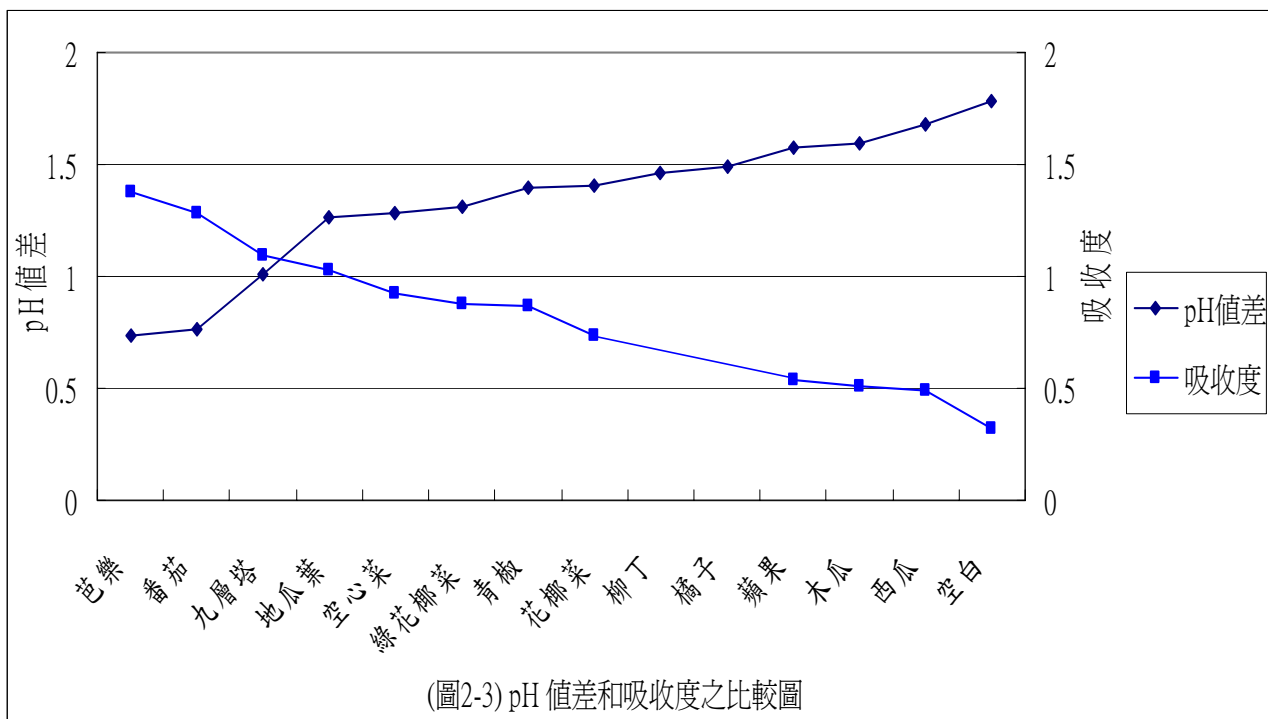
由豆漿 pH 值變化數線圖(圖 1-1)，各試樣於第 3 小時至第 5 小時 pH 值明顯變化，故取此時段的 pH 差值繪製數線圖(圖 1-2)，與還原力測定中之吸收度比較，發現兩者數相近，由此證明可利用豆漿腐敗速率判定樣品的抗氧化能力。



【實驗二】蔬果抗氧化能力之比較

由豆漿 pH 值變化數線圖(圖 2-1)，各試樣於第 3 小時至第 5 小時 pH 值明顯變化，故取此時段的 pH 差值繪製柱狀圖(圖 2-2)，實驗發現：試樣皆具有抗氧化能力，排名為芭樂 > 蕃茄 > 九層塔 > 地瓜葉 > 空心菜 > 綠花椰菜 > 青椒 > 花椰菜 > 柳丁 > 橘子 > 蘋果 > 木瓜 > 西瓜。由 pH 值差和吸收度之比較圖(圖 2-3)，豆漿腐敗法所測得知抗氧化力結果和還原力法所測得之結果相類似。

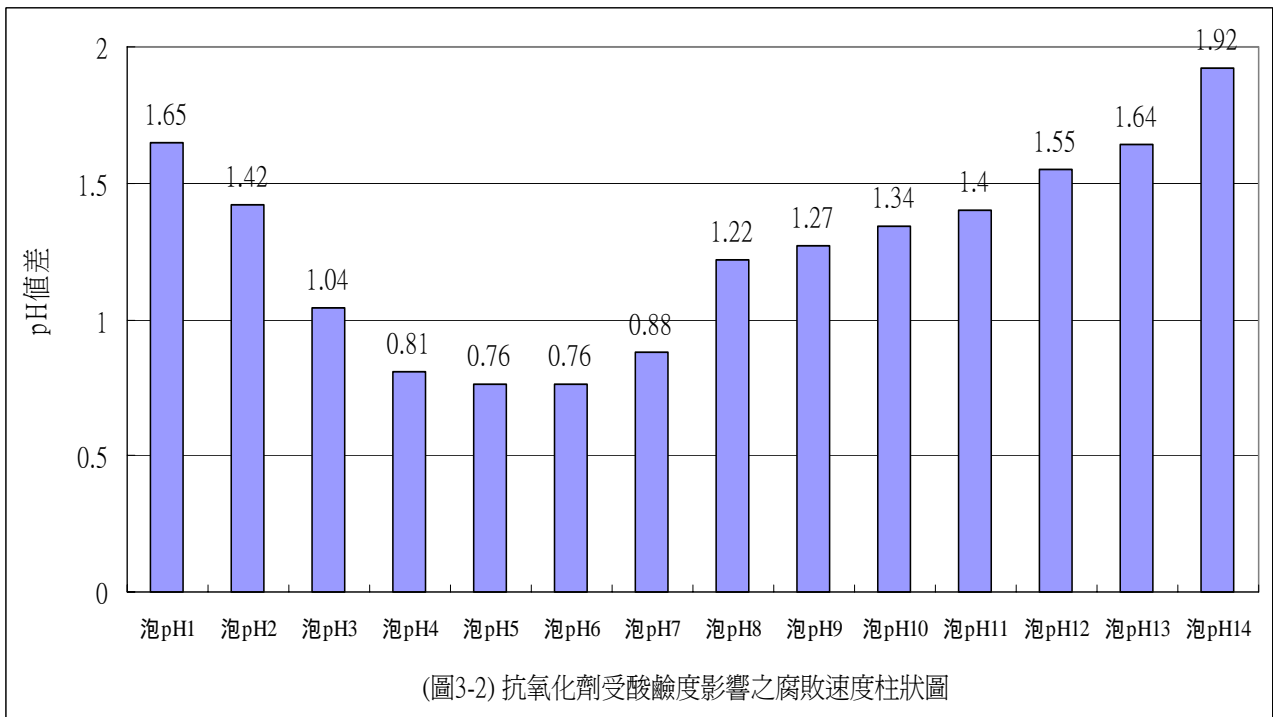
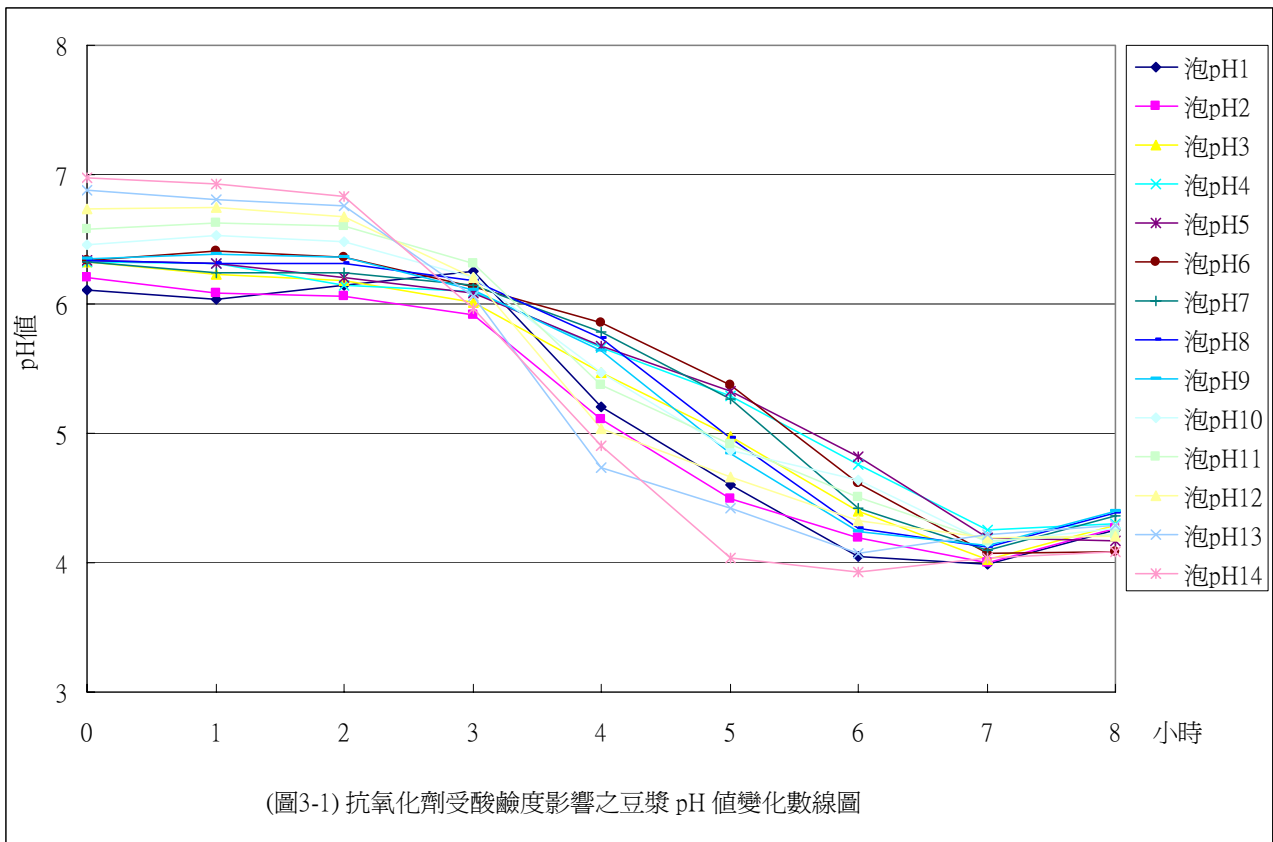




(圖2-3) pH 值差和吸收度之比較圖

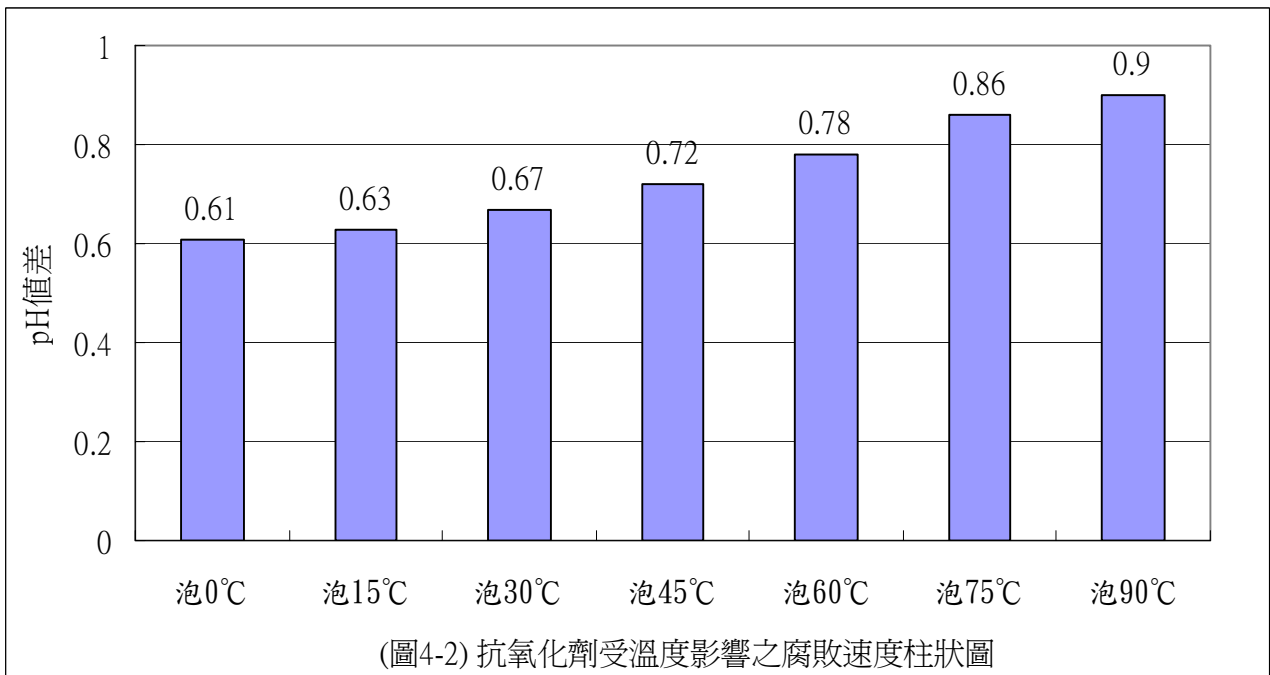
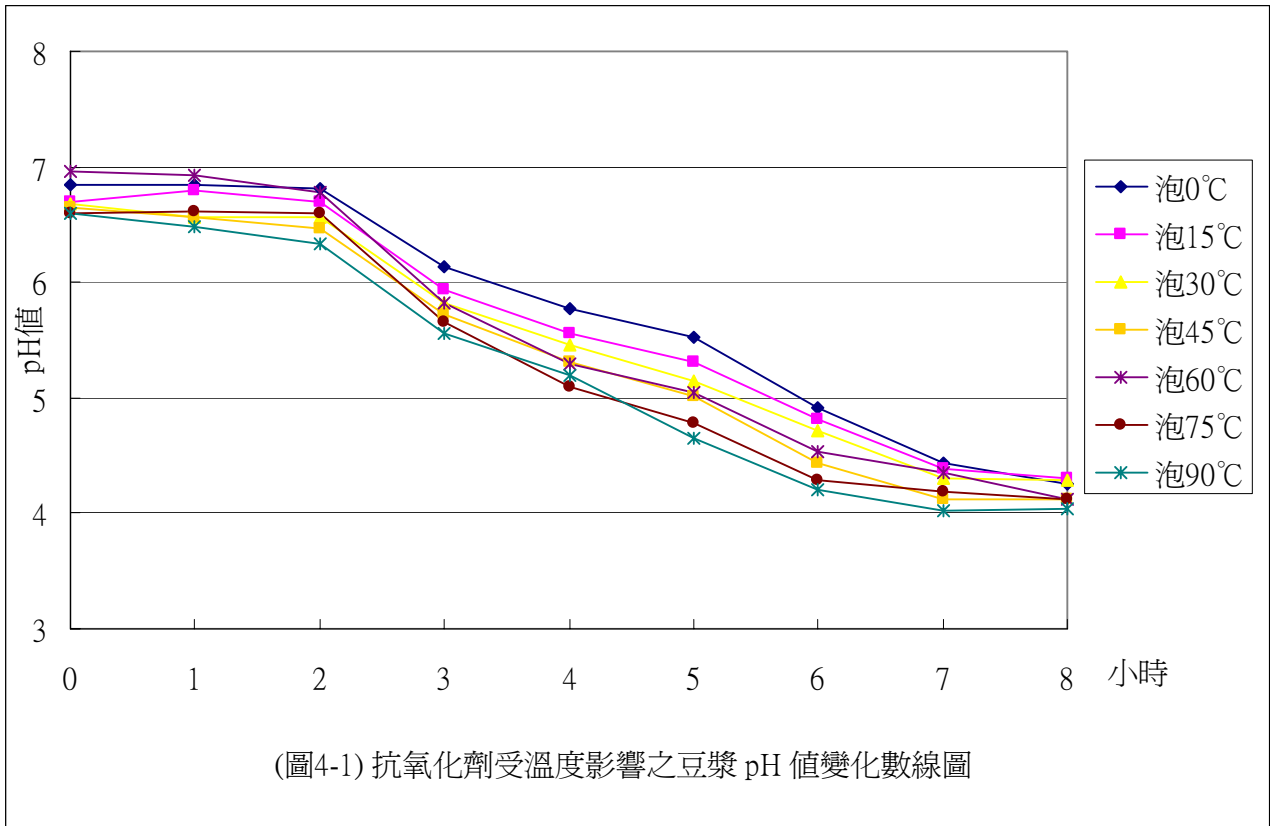
【實驗三】抗氧化劑受酸鹼度的影響

由豆漿 pH 值變化數線圖(3-1)，各試樣於第 3 小時至第 5 小時 pH 值明顯變化，故取此時段的 pH 差值繪製柱狀圖(圖 3-2)，實驗顯示抗氧化劑在鹼性的條件中，明顯下降，而易存於弱酸的條件下。



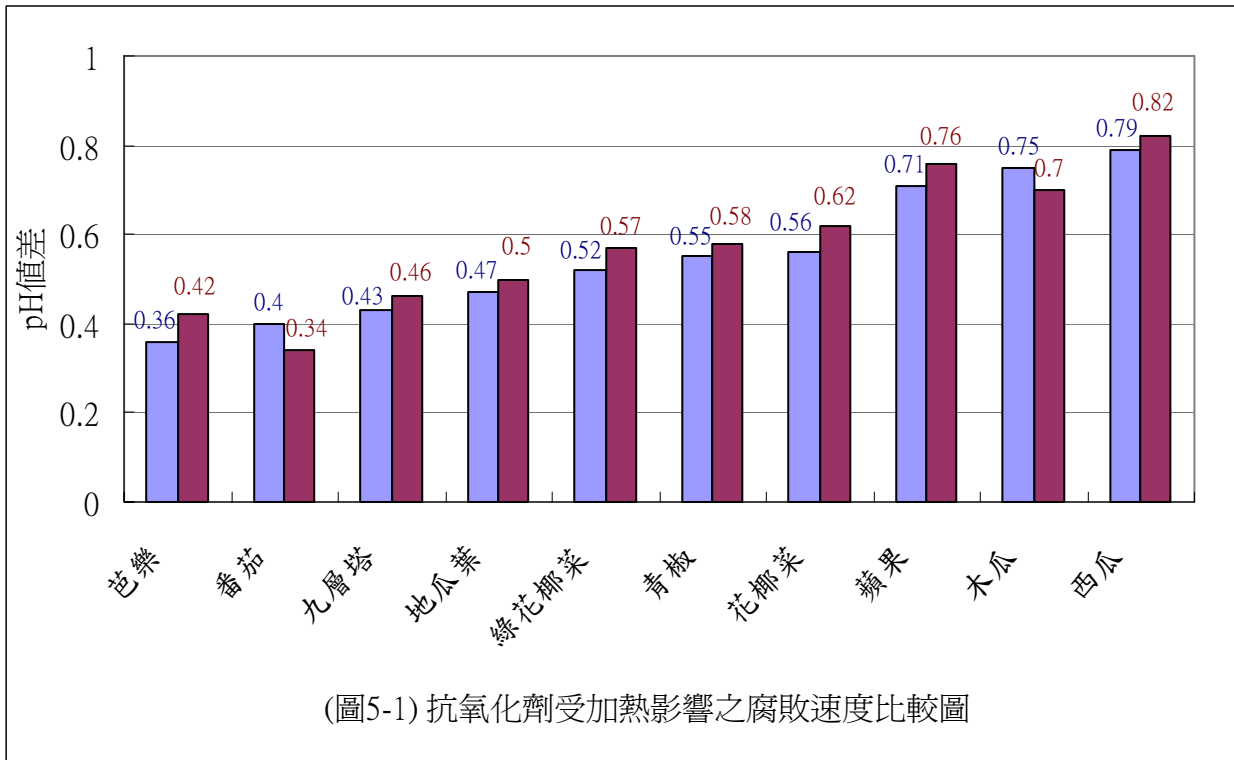
【實驗四】抗氧化劑受溫度的影響

由豆漿 pH 值變化數線圖(圖 4-1)，可看出其腐敗過程中明顯變化之時段，於第 3 小時至第 5 小時，故取上述時段之 pH 差值，繪製腐敗速度柱狀圖(圖 4-2)。實驗歸納出：溫度對抗氧化劑影響不大，而抗氧化能力在高溫下會輕微下降。



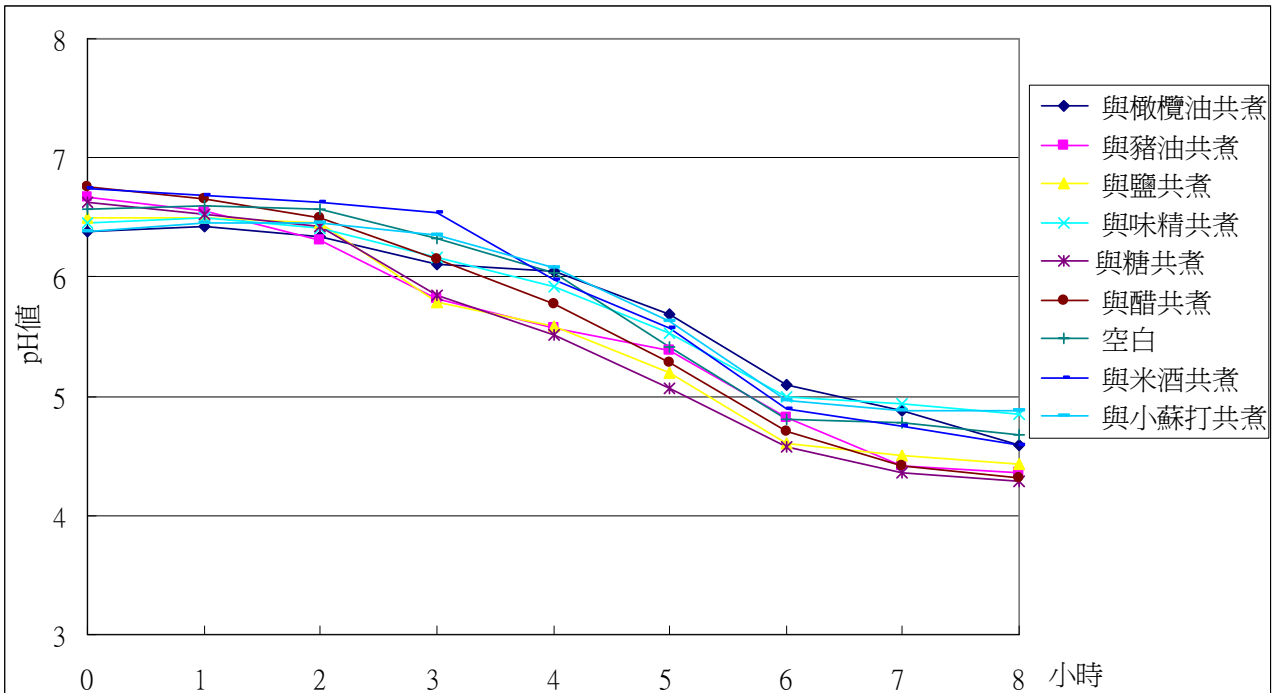
【實驗五】抗氧化劑受加熱的影響

繪製各試樣加熱前後之腐敗速度比較圖(圖 5-1)。實驗得知：番茄與木瓜加熱後，抗氧化能力上升，其餘蔬果加熱後，抗氧化能力皆下降，而九層塔、地瓜葉、青椒略減。

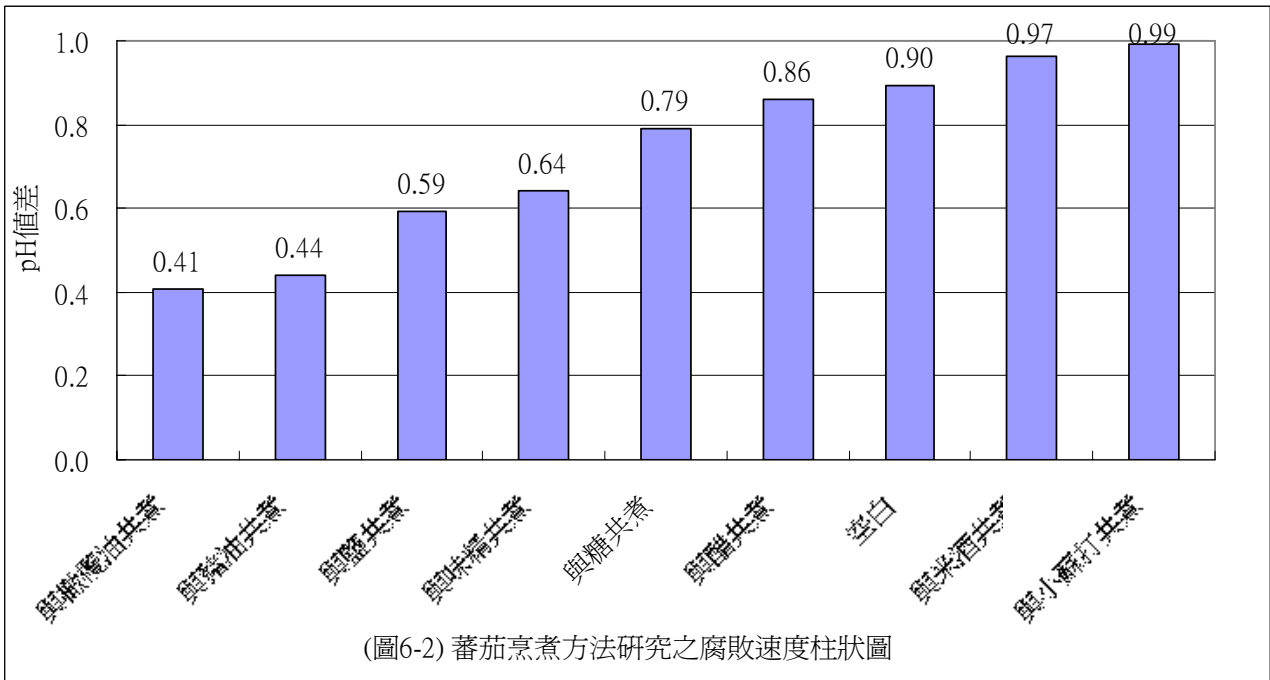


【實驗六】蕃茄烹煮方法之研究

由豆漿 pH 值變化數線圖(圖 6-1)，可看出其腐敗過程中明顯變化之時段，於第 3 小時至第 5 小時，再取上述時段之 pH 差值，繪製腐敗速度柱狀圖(圖 6-2)。實驗發現：可使蕃茄抗氧化能力上升最高的是與橄欖油、豬油共煮，其次為與鹽、味精、糖共煮，而醋不變，加入小蘇打、米酒則使其抗氧化能力下降。



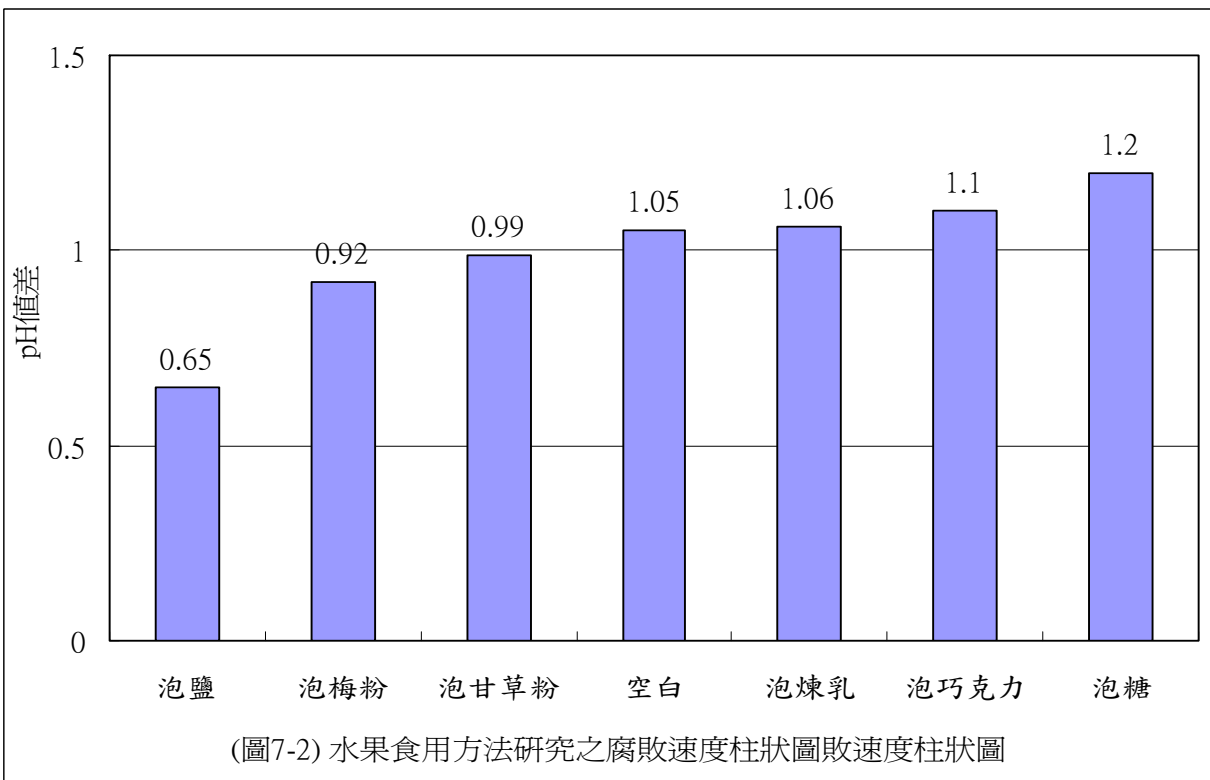
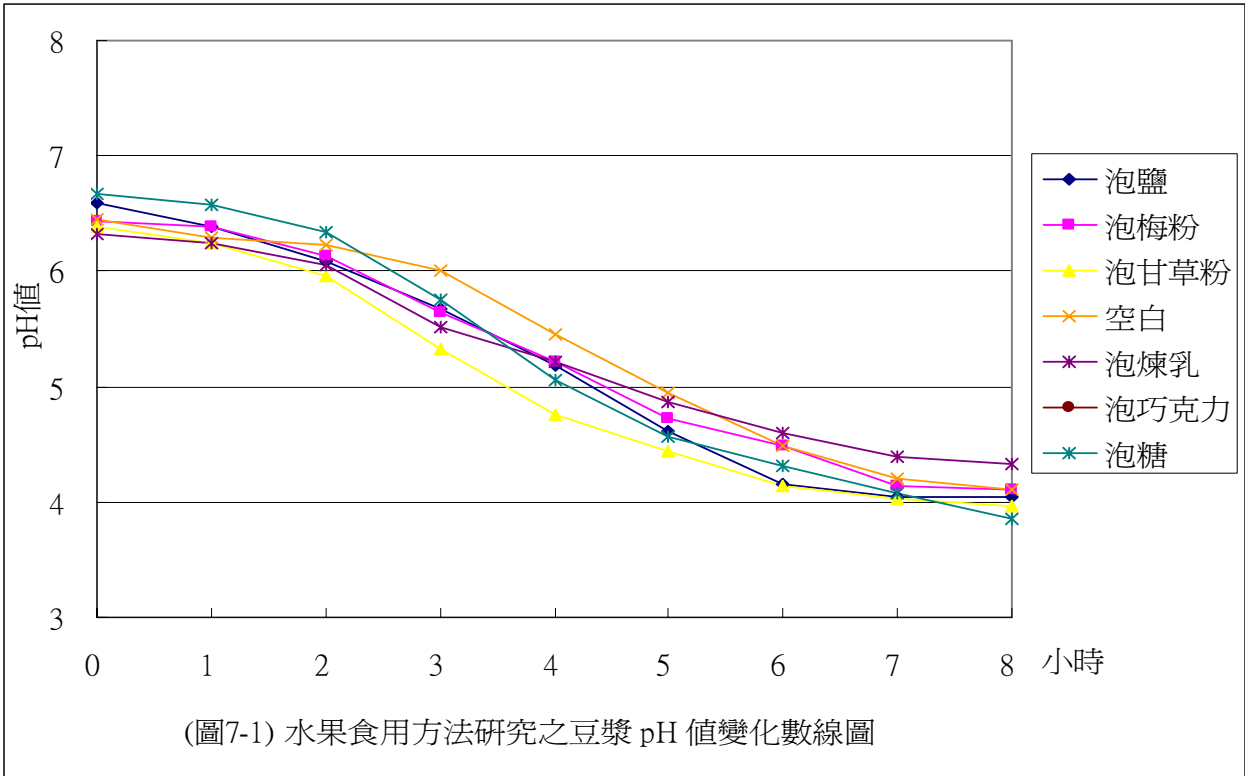
(圖6-1) 蕃茄烹煮方法研究之豆漿 pH 值變化數線圖



(圖6-2) 蕃茄烹煮方法研究之腐敗速度柱狀圖

【實驗七】水果食用方法之研究

由豆漿 pH 值變化數線圖(圖 7-1)中，各試樣於第 3 小時至第 5 小時 pH 值明顯變化，故取此時段的 pH 值差繪製柱狀圖(圖 7-2)，從(圖 7-2)發現：芭樂泡鹽、梅粉、甘草粉水溶液，抗氧化能力上升。



柒、討論

一、 實驗方法之驗證：

1. 由資料得知，綠茶經過高溫短時殺青，去除茶葉中酸化酵素，使茶葉不發酵。所以綠茶茶葉中的抗氧化物質未受破壞，而烏龍茶為半發酵茶，紅茶為全發酵茶，故抗氧化劑含量綠茶大於烏龍茶，而紅茶則無。
2. 抗氧化能力測定法有 (1)清除 DPPH 自由基能力測定 (2)螯合亞鐵離子之能力測定(3)還原力測定 (4)清除超氧陰離子能力測定，本實驗選用(1)和(3)對照，結果相同。另外，還原力測定法中，顯色劑三氯化鐵需冷藏，放置太久會變質，實驗時需注意時間的掌控。本實驗選用現泡茶，不適用本身已添加防腐劑的包裝飲用茶。

二、 蔬果抗氧化能力之比較：

此實驗中，還原力測定的實驗因為橘子和柳丁為季節性水果，後來因為缺乏樣品所以沒有此二樣品之還原力數據。而豆漿測定法，不適用 pH 值過低蔬果，如：檸檬，因酸度直接影響豆漿本身。而實驗中發現蔬果打汁後，若置放超過一小時會變質。

三、 抗氧化劑受酸鹼度的影響：

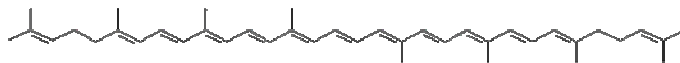
由於芭樂的抗氧化能力明顯且價格低廉，故以芭樂作為試樣代表。實驗中泡完酸鹼溶液的芭樂，須以蒸餾水仔細清洗，以避免表面殘留之物質影響實驗結果。並在此實驗中意外發現，芭樂在 pH1 時成黃色， pH14 時則成褐色。

四、 抗氧化劑受加熱的影響：

為了不增加實驗變因，果汁應先熱處理後加入豆漿。

五、 蕃茄烹煮方法之研究：

1. 番茄紅素 lycopene 的結構式：如下圖(圖 6-3)



茄紅素為直鏈狀的高度不飽和碳氫化合物，具有親油性，容易附著於油脂分子上，所以伴隨油脂食用會提高吸收率。

2. 小蘇打會破壞茄紅素結構,又維生素 C 不能處於鹼性的環境中,所以抗氧化劑較多的蔬果烹煮時不宜加入小蘇打

六、 水果食用方法之研究：

實驗中芭樂從溶液取出後需仔細清洗，因為鹽加入豆漿中，會使豆漿凝結，影響豆漿腐壞速率。而實驗時所使用的巧克力為巧克力粉水溶液，因巧克力不溶於水，故以巧克力粉水容易替代。

捌、結論

1. 在實驗一中豆漿腐敗法與還原力法對照，結果發現綠茶的吸收度最大，代表綠茶的還原力最好，與豆漿腐敗法中所測得綠茶在相同的時間內其 pH 值變化最小相符合，且其他兩項茶類的還原力強弱也與豆漿腐敗法所測得知 pH 值變化趨勢相符合，證明利用豆漿腐敗法來檢測蔬果汁抗氧化能力是可行的，可用於估略物品的抗氧化能力。
2. 在實驗二中，比較各蔬果加入豆漿後其腐敗速度與還原力檢測法所得各蔬果的還原力大小，得知在豆漿腐敗法中 pH 值變化差異較小的蔬果(如芭樂、蕃茄等)，其在還原力檢測中相對的吸收度也較大，代表其還原力也較強，利用豆漿腐敗法所測得蔬果的抗氧化力強弱與以還原法所測得各蔬果的還原力相類似，再次證明利用豆漿腐敗法來檢測蔬果抗氧化力的可行性。
3. 由實驗三和實驗六的結果得知抗氧化劑在酸性及鹼性的情況會下降，尤其在鹼性的環境，下降更明顯。生活中，有些餐廳在烹煮青菜時，爲了保持菜葉的翠綠會加入小蘇打，由實驗結果得知加入小蘇打實際上是降低蔬果的抗氧化能力。
4. 由實驗四和實驗五的結果得知抗氧化劑不因溫度高低而有顯著變化，只有高溫時抗氧化能力會下降，但影響並不強。因此，在乾燥地區無法正常食用蔬果，攝取適當的養分時，不妨使用沖泡式維生素，來補充營養。
5. 由實驗六得知番茄與油類搭配時，抗氧化能力最強，其次是鹽、味精、糖，醋不變，若加入小蘇打及米酒抗氧化能力則下降。所以料理蕃茄時，與油搭配的抗氧化效果，比直接水煮還好，且不建議與小蘇打或米酒一起烹調。
6. 維生素 C 加熱後抗氧化能力下降，而茄紅素加熱後反而增加，表示在料理富含維生素的蔬果，例如青椒、花椰菜、深色蔬菜是宜生吃或快炒，而富含茄紅素的蔬果如：蕃茄、胡蘿蔔、南瓜、蕃薯熟食最好。
7. 根據實驗七結果發現水果沾鹽抗氧化能力上升，因此在吃水果時，直接食用效用最佳，若是要擱置一段時間，可以抹上鹽巴，延緩蔬果中抗氧化物質被氧化速率。
8. 由實驗結果可以證明利用豆漿腐敗法也可以檢測蔬果的抗氧化力強弱，其優點爲價格便宜、步驟簡易、實驗樣品取得方便且實驗後沒有化學藥品污染的問題，所得之結果可視爲蔬果的總抗氧化能力，不像一般化學測定法僅侷限某一類抗氧化物質之檢測。但其缺點爲不適用於過酸的水果(如檸檬等)且無法較精確的訂出各類抗氧化物質的含量。

玖、參考資料

1. 王至正。2006。以氧自由基吸收能力法(ORAC)測定園產品之抗氧化能力。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
2. 李貽華、李國欽、徐慈鴻、陳明義。2005。植物葉片中多環芳香族碳氫化合物(PAHs)檢測方法之建立。
3. 岩亮順。茶—生活與健康。台北市。世茂出版社。1986。
4. 莊智傑。有機化學 I。二版。台南市。復文書局。2006。
5. 張玉琦。長春。台北市。台視文化事業股份有限公司。2001。
6. 張玉琦。長春。台北市。台視文化事業股份有限公司。2004。
7. 張玉琦。長春。台北市。台視文化事業股份有限公司。2006。
8. 張玉琦。長春。台北市。台視文化事業股份有限公司。2007。
9. 張景輝。2007。不同品種及不同乾燥方法對蕃茄抗氧化活性之影響。中興大學工學院化學工程系所博士論文。
10. 趙玫琚。實用營養學。台北市。華杏出版社。1990。
11. 蔡宗訓、蔡德華。基礎化工 I。二版。台北市。東大圖書股份有限公司。2005。
12. 歐陽英。歐陽英生機飲食 50 問。台北市。天下遠見出版社。2001。
13. 羅郁中。2003。台灣六種野生植物果實之抗氧化功能評估。中央研究院高中生命科學資優生培育計畫專題研究報告。

拾、照片



圖 8-1 茶類之試樣及空白



圖 8-2 配製試樣



圖 8-3 秤取蕃茄



圖 8-4 量取豆漿



圖 8-5 西瓜、芭樂、九層塔汁

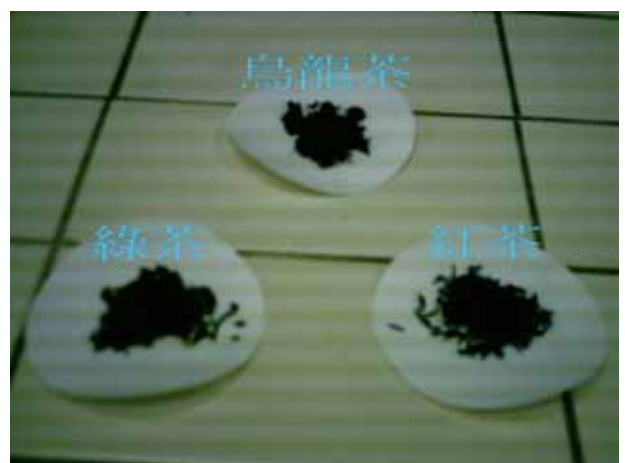


圖 8-6 紅、綠、烏龍茶茶葉



圖 8-7 煮豆漿



圖 8-8 pH 計



圖 8-9 三氯化鐵及試樣冷卻



圖 8-10 離心後之試樣



圖 8-11 上清液加水稀釋之試樣



圖 8-12 蔬果汁

【評 語】

091402 抗氧化能力測定與應用

1. 提出簡單，經濟的抗氧化力排序方法，具有創意與實際應用的可能性。
2. 建議要建立豆漿腐敗法與抗氧化力(化學還原方法)統計結果的相關性分析。