

嘉義市第 38 屆國民中小學科學展覽會

作品說明書

科 別：化 學

組 別：國中組

作品名稱：香草醛的萃取及其抗氧化特性研究

關 鍵 詞：香草醛、抗氧化、索氏法萃取

編 號：

目 錄

摘要	3
壹、 研究動機.....	3
貳、 研究目的.....	3
參、 研究設備及器材	3
肆、 研究過程及方法	5
一、 認識香莢蘭.....	5
二、 香草醛的萃取方法探究	6
三、 香草醛初萃取液的濃縮	7
四、 香草醛抗氧化特性探究	8
五、 香草醛在食品上的應用	10
伍、 研究結果.....	15
一、 認識香莢蘭.....	15
二、 香草醛的萃取方法探究	15
三、 香草醛抗氧化特性探究	16
四、 香草醛在食品上的應用	18
陸、 討論.....	18
一、 認識香莢蘭.....	18
二、 香草醛的索式萃取方法	19
三、 香草醛抗氧化特性探究	19
四、 香草醛在食品上的應用	20
柒、 結論.....	20
捌、 參考資料.....	20
玖、 致謝.....	20

香草醛的萃取及其抗氧化特性研究

摘要

本研究主要分為三部分：(一)香草醛的萃取。(二)香草醛的抗氧化特性。(三)香草醛在食品化學上的應用。我們將香草莢剪碎後，使用索氏萃取器以 95% 乙醇為溶劑萃取香草醛，做為本次的實驗研究。

研究初步得知，(一)在索氏萃取之香草醛等溶出物之抽取率有 2.57%(二)在檢測香草醛抗氧化特性方面，螯合亞鐵離子能力：40%香草醛濃度，螯合力為 40%；100%香草醛原液，螯合力為 82%及清除自由基 DPPH 能力：60%香草醛濃度，清除率為 64%；100%香草醛原液，清除力為 86%。由以上可知香草醛具有強抗氧化力特性。(三)香草醛在食品上的應用：香草醛不但具有良好的抗氧化特性，且香氣口味獨特，別具風味，我們動手做成香草精、香草奶酪及香草泡芙等糕點產品。

壹、研究動機

曾經看到一篇報導，桃園農業改良所成功的種植香莢蘭，並積極推廣農民種植，創造高經濟價值的香草醛產品。香草在台灣市面上不常出現，多仰賴進口，想必產量非常稀少，價錢昂貴。我們常吃香草冰淇淋，從不知道所添加的香草是怎麼來的，在好奇心的驅使下，便找了同學一起找資料，並請老師協助開始規劃實驗流程與內容，展開了這次的科展研究。

貳、研究目的

- 1.認識香莢蘭。
- 2.探討香草醛的萃取方法。
- 3.了解香草醛的抗氧化特性。
- 4.香草醛在食品上的應用。

參、研究設備及器材

香莢蘭、乙醇、索式萃取器、筒狀濾紙、恆溫水浴器、乙醇、DPPH、FeCl₂、Ferrozine、純水、燒杯、量筒、錐形瓶、分光光度計、微量吸管、電磁加熱攪拌器、抽濾漏斗、電子天平、高速粉碎機、真空減壓濃縮機。



a. 香草莢



b. 剪碎的香草莢



c. 分光光度計(波長 200~1100nm)



d. 磨粉機



e. 微量吸管



f. 圓筒狀濾紙



g. 索式萃取器



h. 低溫循環冷卻槽



i. 電子天平



j. 烘箱

▲圖 1. 研究設備及器材

肆、研究過程及方法

一、認識香莢蘭

(一)香草莢介紹:

1. 中文名:香草醛，英文名:Vanillin，別稱:甲氧基、羥基苯甲醛、香蘭素。化學式:C₈H₈O₃，熔點:81-84°C，沸點:170°C，水溶性:10g/L，密度:1.47°C。產地:馬達加斯加、印尼、墨西哥(原產地)為種植最多量。
2. 繁殖：梵尼蘭一直被泛稱為「香草」，其實它是屬於3年生的爬蔓類蘭花科植物，具有迴旋性的圓柱形莖蔓，在每個莖節上會有氣生根。葉片肥厚多肉為圓針形。花有芳香為黃綠色，而梵尼蘭開花授粉後的豆莢才是重要的部位。苗株培育3年需要人工授粉；掛果(結果實)採收後需經過發青、發酵、乾燥、陳化。
3. 應用部位：葉片肥厚多肉為圓針形。花有芳香為黃綠色，而梵尼蘭開花授粉後的豆莢才是應用部位，所以提到梵尼蘭的應用，一般指的就是它的豆莢，也就是香草莢。
4. 功用：是重要的香料並具補腎、開胃、除脹、健脾等醫學效果。有芳香性髮油、抗氧化劑、殺菌素，不僅可驅蚊蠅、美化環境、淨化空氣、美化居室，還廣泛用於美容、沐浴、飲食及醫療。從香料植物提取的香精油與乾燥香料物質，是食品、化妝品、香皂、醫藥工業的重要的添香劑。
5. 香草莢的選擇：一根優質的香草莢售價要215台幣。優質香草莢，顏色接近琥珀色，深褐黑色也可以。表面有些褶皺，色澤油量，摸上去質地柔軟，長度在18-20cm最好。



▲圖 2a.結在枝架上的香草豆莢



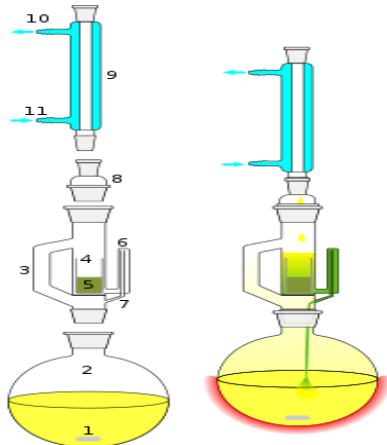
▲圖 2b.採收殺青乾燥陳放後的香草莢

二、香草醛的萃取方法探究

(一)索氏萃取器的構造(圖 3a-b)

索氏萃取器的示意圖：

- 1.攪拌磁石
- 2.燒瓶（燒瓶中的萃取溶劑宜七分滿）
- 3.蒸汽路徑
- 4.套管
- 5.固體 sample(裝入待萃取 sample 的筒狀濾紙)
- 6.虹吸管
- 7.虹吸出口
- 8.轉接頭
- 9.冷凝管
- 10.冷卻水入口
- 11.冷卻水出口



▲圖 3a.索氏萃取器的示意圖

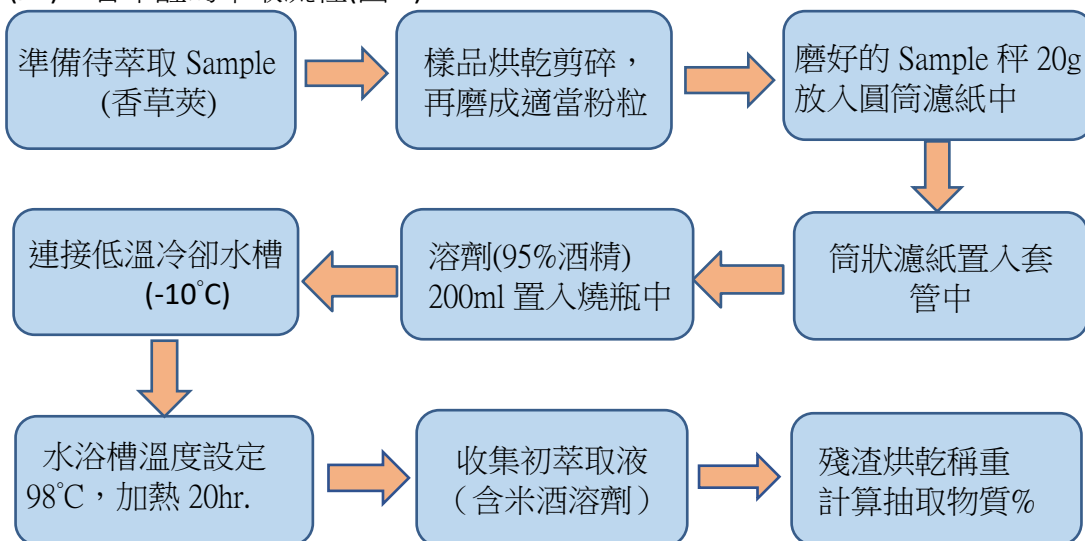
▲圖 3b.索氏萃取器(本次實驗用)

(二)索氏萃取器的萃取原理：

當萃取溶劑滴入提取器中，當液面超過虹吸管最高處時，即發生虹吸現象，溶劑回流入燒瓶，因此可萃取出溶於溶劑的 sample 中的部分物質。就這樣利用溶劑回流和虹吸作用，使固體 sample 中的可溶物收集到燒瓶內。

索氏萃取法是採用低沸點有機溶劑（甲醇、乙醇、乙醚或石油醚等）回流抽提，抽取樣品中可溶物(如香草醛或脂肪等)，計算樣品與殘渣重量之差，計算抽取物質之含量百分率。

(三)、香草醛的萃取流程(圖 4)



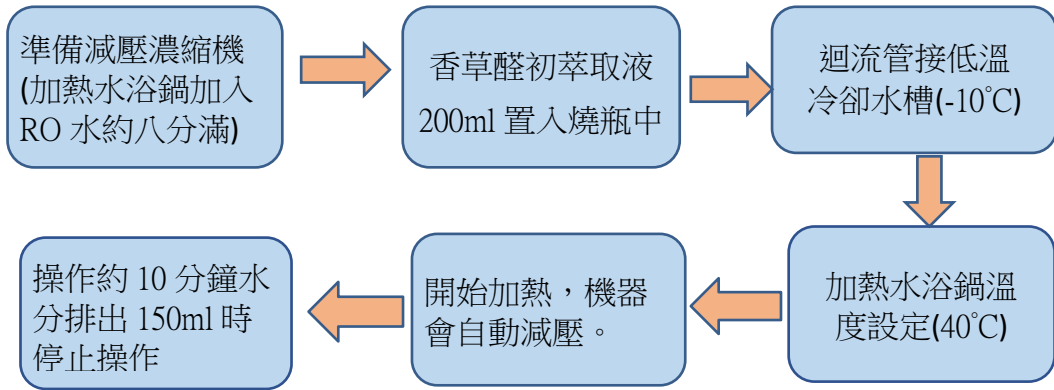
▲圖 4.香草醛的索氏萃取流程

三、香草醛初萃取液的濃縮


1. 實驗說明：香草醛初萃取液含酒精溶劑，需經減壓濃縮以除去部分酒精溶劑，即可得高純度香草醛溶液。

2. 濃縮流程：(圖 5)

3. 實驗操作：(圖 7)



▲圖 5.香草醛初萃取的濃縮流程

		
a. 準備香草豆莢	b. 樣品烘乾剪碎	c. 磨好的 Sample 稱 20g 放入圓筒濾紙中
		
d. 已裝好的三個樣品	e. 倒 95%酒精置入燒瓶	f. 筒狀濾紙置入套管中
		
g. 裝置完畢打開電源	h. 分別收集萃取液量體積	i. 香草醛初萃取液成品

▲圖 6.香草醛索氏萃取操作

		
a. 香草醛初萃取液 200ml	b. 萃取液倒入燒瓶中	c. 含萃取液燒瓶上機
		
d. 開電源開始濃縮	e. 濃縮後量測體積	f. 濃縮後體積為 50ml

▲圖 7.香草醛索氏萃取初萃取液的濃縮操作

四、香草醛抗氧化特性探究

方法一：螯合亞鐵離子之能力測定

(一)實驗原理：

利用 Fe^{2+} 與 Ferrozine 的複合物在 562nm 波長之呈色反應，可以測得檢樣對 Fe^{2+} 的螯合能力。當樣品與 Fe^{2+} 螯合時，會造成 562nm 吸光值的降低。

(二)實驗步驟：

1. 配製試劑

(1) 2mM FeCl_2 溶液：定量瓶加入 0.0400g FeCl_2 溶於純水中稀釋成 100mL。

(2) 5mM Ferrozine 溶液：定量瓶中加入 0.2463g Ferrozine，稀釋成 100mL。

2. 實驗步驟(圖 8)

(1) 以 95% 乙醇做為空白組。

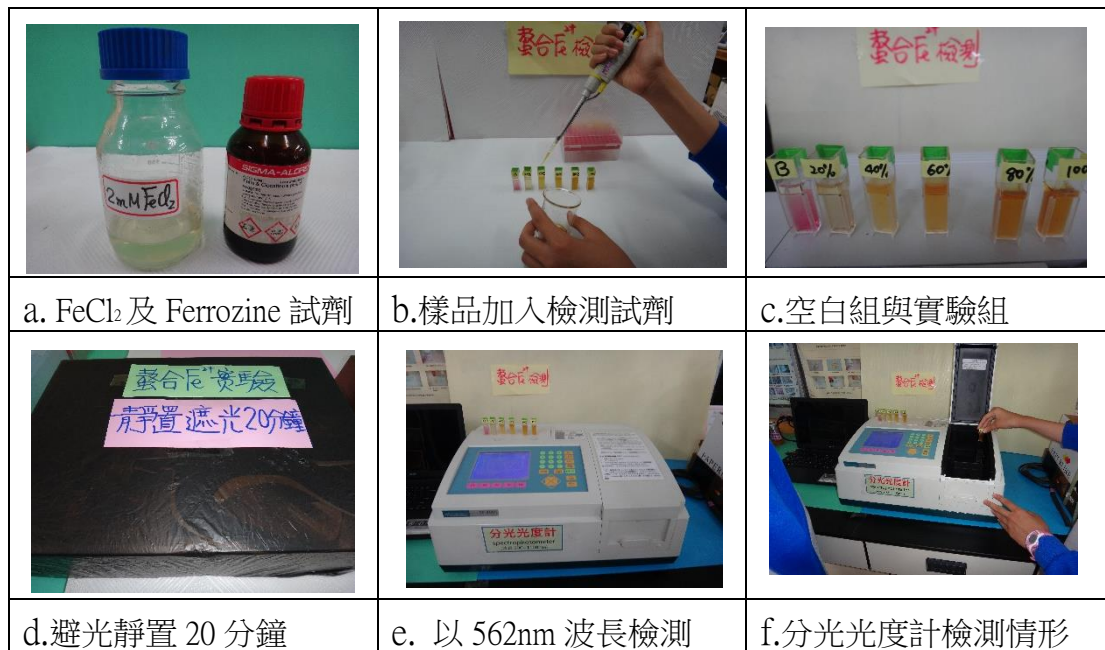
(2) 取香草醛濃縮萃取液(視為 100% 原液)稀釋為(v/v)20%、40%、60%、80%。

(3) 取 1000 μ 香草醛 95% 乙醇萃取液，加入 100 μ L 之 2mM FeCl_2 和 95% 乙醇 800 μ L，充分混合後靜置 30 秒。

(4) 再加入 100 μ L 之 5mM Ferrozine 後，充分混合後避光靜置 20 分鐘。

(5) 使用分光光度計檢測 562nm 之吸光值，重複實驗三次。

(6) 計算螯合亞鐵離子能力(chelating effects)%。



▲圖 8.螯合亞鐵離子之能力測定情形

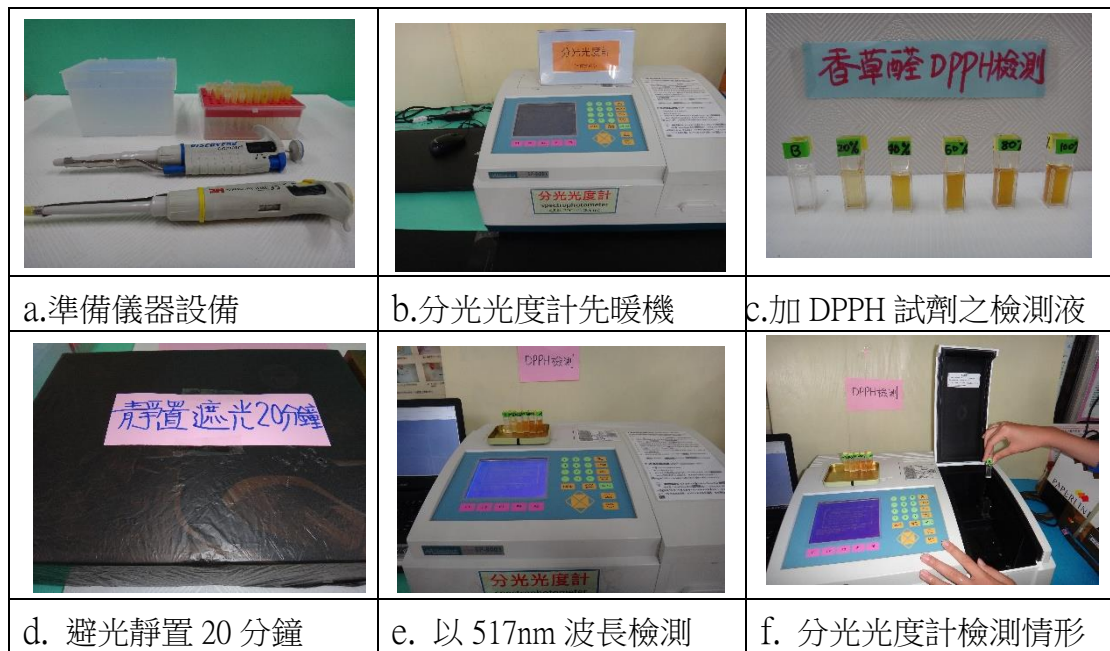
方法二、清除 DPPH 自由基能力測定

1. 實驗原理

DPPH 是較為安定的自由基，實驗所採用的 DPPH 純水溶液為紫羅蘭色，在 517nm 波長下，具有極高的吸光值。與香草醛酒精萃取液反應，吸光值會降低，其吸光值愈低，表示清除 DPPH 自由基能力愈強。

2. 實驗步驟(圖 9)

- (1) 以 95%乙醇做為空白組。
- (2) 用 95%乙醇為溶劑，配製 0.05mMDPPH 溶液。
- (3) 取香草醛濃縮萃取液(視為 100%原液)稀釋為(v/v)20%、40%、60%、80%。
- (4) 取 0.05mMDPPH 溶液 800 μ L、以及各濃度之試樣 800 μ L(每一個檢測品或標準品的體積為 1600 μ L)混合均勻，室溫下避光靜置 20 分鐘。
- (5) 以分光光度計，測定於 517nm 波長之吸光值，重複實驗三次。
- (6) 計算清除 DPPH 自由基能力。



▲圖 9.清除 DPPH 自由基能力測定情形

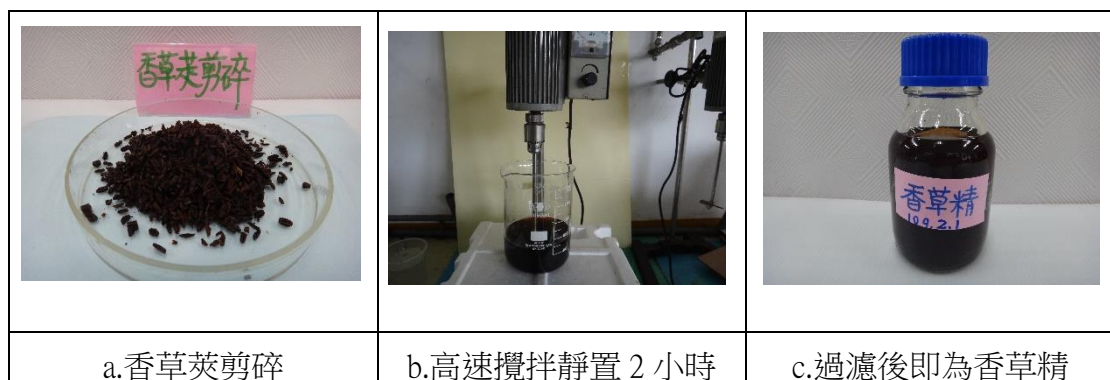
五、香草醛在食品上的應用

(一)香草精製作

1.製作步驟：

- (1)取乾燥香草莢剪碎。
- (2)放入高速磨粉機中，以 2500rpm.轉速，磨成粉末。
- (3)秤重 3.00g，加入 47.5%酒精 50mL，置入高速攪拌機中，以 500rpm.轉速，攪拌 60 分鐘後靜置 2 小時。
- (4).以抽濾漏斗過濾後，濾液即為香草精。

2.製作情形：圖 10



▲圖 10.香草精製作情形

(二)香草奶酪製作

1.製作原料：香草莢、鮮奶 500g、砂糖 75g、吉利丁 13g、水 63ml、鮮奶油 500g

2.製作方法：

(1)吉利丁先加水，攪拌均勻。

(2)把香草籽刮出。

(3)加進牛奶、香草籽、香草莢、砂糖小火煮沸。

(4)關火後加入吉利丁和鮮奶油

(5)倒入模具，放入冰箱冷藏至凝固，即為香草奶酪成品。

3.製作情形：圖 11

		
a. 香草奶酪原料	b.吉利丁加水攪拌	c.把香草仔刮出
		
d. 加進牛奶、香草籽、香草莢、砂糖小火煮沸	e.加入吉利丁與鮮奶油	f.倒入模具，放入冰箱冷藏

▲圖 11.香草奶酪製作情形

(三)香草泡芙

(A)【泡芙皮製作】

1.製作方法：圖 12

- (1)奶油加水煮沸。
- (2)將低筋麵粉過篩。
- (3)把蛋打進碗中打散。
- (4)奶油、水和麵粉混合，快速攪拌。
- (5)把打散的蛋分次加入麵糊中並攪拌，直到將麵糊挖起來時，程倒三角形。
- (6)將烤箱預熱 190°C。
- (7)將製作好的麵糊裝入擠花袋。
- (8)將麵糊擠在烤盤上。
- (9)把麵糊以 190°C 烤大約 40 分鐘，即可完成香草泡芙之泡芙皮成品。

(B)【香草餡製作】

1.製作方法：圖 13

- (1)將香草籽從香草莢內刮出；並將蛋黃和蛋白分離。
- (2)刮出的香草籽加入牛奶中煮沸；並將蛋黃加入細砂糖拌勻。
- (3)低筋麵粉和玉米粉過篩後加入拌勻；並把煮沸的牛奶和麵糊分次拌勻。
- (4)把拌勻的麵糊倒入鍋中加熱至濃稠狀。
- (5)把加熱完畢的麵糊放入盒中冷藏，即可完成泡芙之香草餡。

(C)【泡芙本體製作】

1.製作方法：圖 14

- (1)將香草餡從冰箱拿出並翻攪；把泡芙皮戳洞。
- (2)將香草餡裝入擠花袋中。
- (3)以畫圈的方式填滿泡芙皮，即完成香草泡芙。





2.製作情形：

		
<p>a.香草泡芙原料</p>	<p>b.奶油加水煮沸</p>	<p>c.低筋麵粉過篩</p>
		
<p>d.把蛋打進碗中打散</p>	<p>e.奶油、水和麵粉混合</p>	<p>f.把蛋分次加入麵糊中</p>
		
<p>g.把麵糊加入擠花袋</p>	<p>h.把麵糊擠在烤盤上</p>	<p>i. 以 190°C 烤 40 分鐘， 香草泡芙成品</p>

▲圖 12.泡芙皮製作情形

		
a. 香草餡原料	b. 把香草籽刮出	c. 將蛋黃和蛋白分離
		
d. 香草籽加入牛奶煮沸	e. 蛋黃加入細砂糖拌勻	f. 加低筋麵粉和玉米粉
		
g. 煮沸牛奶和麵糊拌勻	h. 麵糊加熱至濃稠狀	i. 冷藏後即為成品

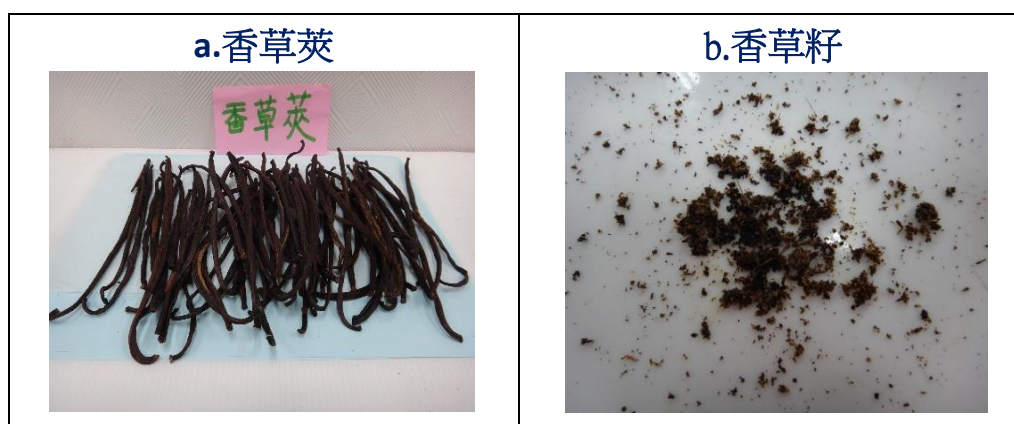
▲圖 13 香草餡製作情形

	
a. 翻攪香草餡。	b. 泡芙皮戳洞
	
c. 香草餡裝入擠花袋中	d. 填滿泡芙皮即為成品

▲圖 14. 泡芙本體製作情形

伍、研究結果

一、認識香莢蘭



二、香草醛的萃取方法探究

(一)實驗數據：表 1.

表 1.索氏萃取之香草醛等抽取物質%結果

實驗項目 實驗樣品	萃取前重量 (g)	萃取後重量 (g)	抽取物重量 (g)	抽取率 (%)
S1(樣品 1)	20.0000	19.4597	0.5403	2.70
S2(樣品 2)	20.0000	19.5170	0.4830	2.41
S3(樣品 3)	20.0000	19.4765	0.5235	2.61
平均	20.0000	19.4844	0.5156	2.57

(二)實驗結果

1.索氏萃取設定：

- (1)水浴水槽溫度 98 °C。
- (2)冷凝水浴槽溫度宜設定(零下 100C)
- (3)萃取時間為連續萃取 20hr.

2.香草醛等抽取物之抽取率：2.57%

3.每一燒瓶裝入 200ml，95%酒精，

索氏萃取 20hr.平均得：

香草醛酒精萃取液 190ml。(圖 15)



▲圖 15.香草醛酒精萃取液

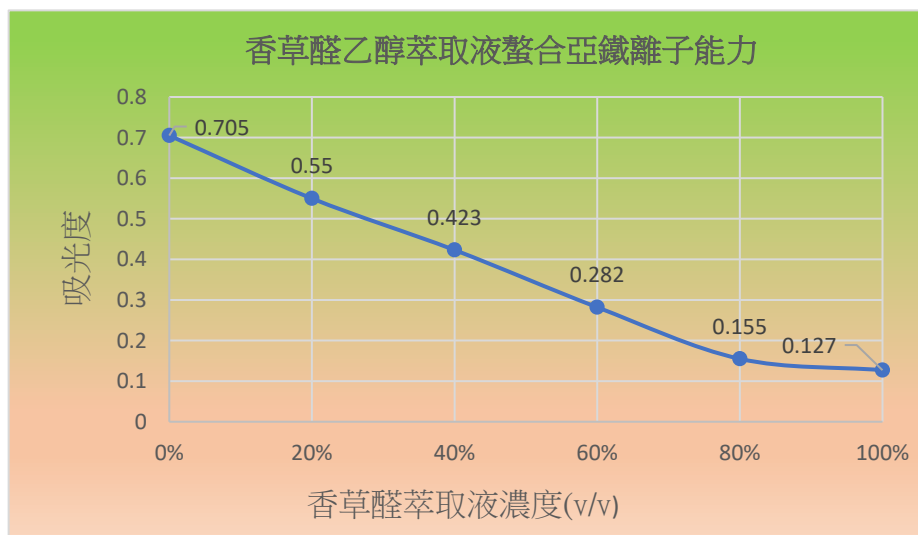
三、香草醛抗氧化特性探究

方法一：螯合亞鐵離子之能力測定

(一)實驗數據：表 2.

表 2.香草醛萃取液各濃度螯合 Fe^{2+} 之能力測定結果

實驗次數	1	2	3	平均吸光值	螯合 Fe^{2+} 能力
空白(乙醇)	0.708	0.706	0.701	0.705	
20%	0.543	0.551	0.556	0.550	22%
40%	0.420	0.422	0.423	0.423	40%
60%	0.280	0.284	0.283	0.282	60%
80%	0.150	0.160	0.155	0.155	78%
100%	0.127	0.126	0.128	0.127	82%



▲圖 16. 萃取液濃度與吸光值曲線圖

(二)實驗結果：圖 16

(1)螯合亞鐵離子能力(chelating effects)：

$$= (\text{空白組於 } 562\text{nm 吸光值} - \text{樣品反應後於 } 562\text{nm 吸光值}) / (\text{空白組於 } 562\text{nm 吸光值}) \times 100\%$$

(2)由檢測值計算，螯合亞鐵離子能力比較：

螯合力：100% > 80% > 60% > 40% > 20%

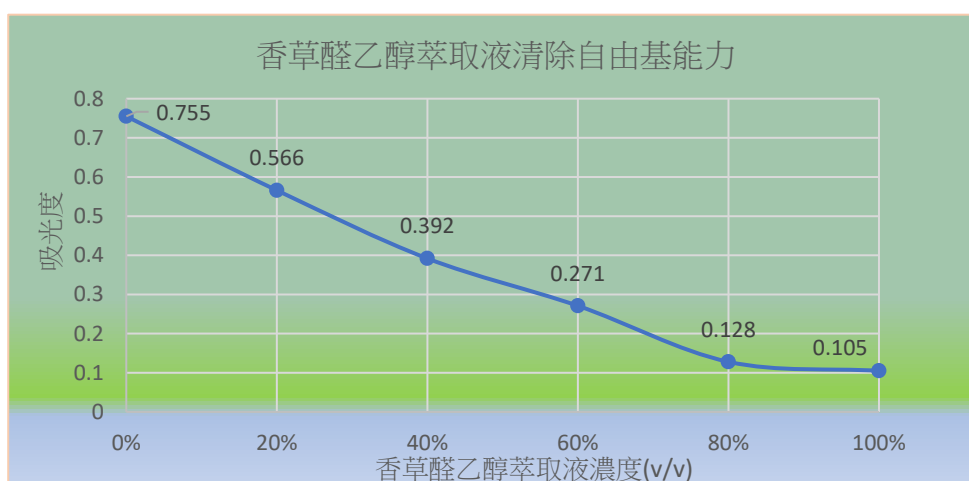
即萃取液濃度越高，吸光值下降量越多(圖 16)，螯合力越強。

方法二：清除 DPPH 自由基能力測定

(一)實驗數據：表 3.

表 3.香草醛萃取液各濃度清除 DPPH 自由基能力測定結果

實驗次數	1	2	3	平均吸光值	清除自由基能力(%)
空白(乙醇)	0.752	0.755	0.758	0.755	
20%	0.560	0.562	0.576	0.566	25%
40%	0.390	0.396	0.390	0.392	48%
60%	0.268	0.270	0.275	0.271	64%
80%	0.128	0.127	0.128	0.128	83%
100%	0.110	0.10	0.105	0.105	86%



▲圖 17.萃取液濃度與吸光值曲線

(二)實驗結果：圖 17

(1)清除 DPPH 自由基能力：

$$= \frac{(\text{空白組於 } 517\text{nm 吸光值} - \text{樣品反應後於 } 517\text{nm 吸光值})}{(\text{空白組於 } 517\text{nm 吸光值})} \times 100\%$$

(2)由檢測值計算，清除 DPPH 自由基能力(%)比較：

香草醛萃取液 100% > 80% > 60% > 40% > 20%

即香草醛萃取液濃度越高，吸光值下降量越多(圖 17)，

清除 DPPH 自由基能力越強。

四、香草醛在食品上的應用



陸、討論

一、認識香莢蘭

香草蘭主要的繁殖方式和一般的蘭花類似，用插枝的繁殖方式。首先選擇品種好的香草蘭，將莖以 25-30 公分的長度切斷，切斷後，放在盆子中以排水性好的物質(如落葉)覆蓋，經過一段時間的培育後，香草蘭會長出新的根，新的芽也會向上生長。當新的植株長到一定高度後，要將小苗移到農場去種植。

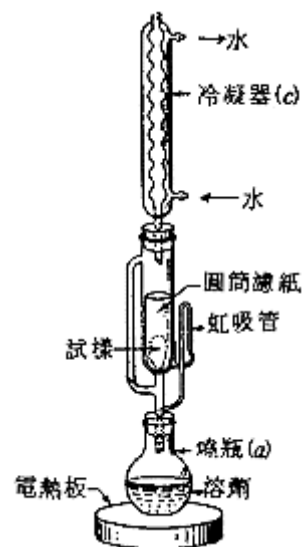
香草蘭種植的方式一般可以分成兩種：集中式種植，香草蘭依附在樹枝、竹子或其他人工物所搭建的棚架上生長。此方式可以達到較高的密度，亦較好管理。另一種方式是將香草蘭種植在原始森林或果園，循著自然已存在的樹幹向上爬。以這種方式種植，密度較低，亦較難管理。

香草蘭的花必須要經過授粉，才有可能結成香草莢，古代主要靠的是一種只出現在墨西哥的蜜蜂，自 19 世紀中期後，人工授粉的技術已相當發達。人工授粉的作業，就是由農夫使用小樹枝及草葉的尖端等簡單的工具，將雄蕊上的花粉沾到雌蕊上，香草蘭的花就可能授粉，結成香草莢。

香草莢是香草蘭的果實，是經過乾燥、陳放處理後的成品，從香草蘭之種植到成品的過程一般是：種植—培養成長—授粉—採收—殺青(蒸、煮、烤等方式)—乾燥陳放—產品分級—銷售。前後時間要 2~3 年，時間漫長，也因此增加種植成本，致使整個世界產量，目前仍是供不應求。

二、香草醛的索式萃取方法

須將香草莢剪碎樣品精秤 20g(小數後 4 位)置於濾紙筒中，記錄秤樣品重量，在中段抽取管與下端圓底燒瓶接好後，加入 250mL95%酒精時需緩慢加入避免樣品浮出濾紙筒，最後接上冷凝管，冷凝管上端需塞緊脫脂綿，避免系統外部有水分進入冷凝管中；冷凝管入水口必須要接在下端，出水口接上端，否則影響冷凝器冷水循環；萃取過程中整組系統維持直立，避免因溶劑液面傾斜造成溶劑留時間誤差，冷凝水浴槽溫度宜設定為 6~零下 10 度，下方圓底燒瓶加熱，水浴槽溫度設定 98°C。



由於水浴槽高溫因此水會持續蒸發，需在萃取過程中注意水浴槽水量，持續補水，索式萃取時，需觀察中段抽取管中溶劑顏色是否達到透明無色，以確定抽取完成。抽取完成後須將所有溶劑回收並且進行定量並記錄以確定溶質和溶劑容積的比例。酒精的沸點為 78.37°C，加熱溫度須至少使酒精維持沸騰狀態以加速萃取過程。

三、香草醛抗氧化特性探究

我們應用在課堂所學的氧化還原概念，可視抗氧化物質為一種還原劑。

螯合亞鐵離子之能力測定原理是當樣品螯合 Fe^{2+} 時，會造成 562nm 吸光值的降低，吸光值降低愈多，樣品之抗氧化力愈強。實驗時 Ferrozine 溶液和氯化亞鐵溶液使用時才配製，否則試劑未滴定前，即已變質會影響實驗準確度。

DPPH 自由基，DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)是一種較穩定的自由基，當 DPPH 自由基與抗氧化物質作用時，抗氧化物質提供電子或氫質子而可清除自由基，因而 DPPH 自由基就會失去本身藍紫色的特性而造成吸光值的下降；當 DPPH 自由基被清除愈多時，其吸光值下降也愈多，利用吸光值減少百分率可判斷檢測樣品清除 DPPH 自由基能力之強弱。另實驗之香草醛檢樣，萃取後宜盡快檢測其抗氧化活性，檢樣放置久了其與空氣接觸會降低抗氧化效能，造成實驗的誤差。另香草莢內的香氣成分為揮發性物質，建議先安排好抗氧化實驗測定時間及流程，避免因香味物質的揮發散失造成實驗誤差。

四、香草醛在食品上的應用

香草精是用 47.5%藥用酒精加上磨成粉的香草莢萃取而成。可依食品添加之需要來調配香草精不同濃度。香草莢樣品必須保存於一般室溫約 25 度通風乾燥處，並且避光保存，未用完香草莢建議以附送之夾鏈塑膠袋，將多餘空氣壓除後風上袋口。

香草莢除了應用於食品的香料外，因其含有 250 種以上芳香成份及 17 種人體必需的氨基酸，具有極強的補腎、開胃、除脹、健脾等醫學效果，是一種天然滋補養顏良藥。

柒、結論

香草豆莢是香草蘭的果實，豆莢要經過一年餘長時間的乾燥，陳放熟化的漫長加工過程，種植成本一直居高不下。正因為如此，香草豆莢成為世界上最昂貴的調味料之一，僅次於藏紅花，但仍然是供不應求。以索氏法萃取香草醛等溶出物，萃取率 2.57%，本次實驗是採用零下 10 度的冷卻水循環，使所用的 95%乙醇溶劑回收率達 95%以上，連續反應時間 20 小時。若要節省反應時間，提高萃取率，以降低生產成本，可以繼續做更深入的探究。雖然培植香草蘭的時間長，成本高，整個世界的仍是供不應求，價格一直節節上升；我們認為擴大推廣種植香草蘭，仍有很大的經濟效益與發展空間，也是邁向精緻農業與創造更高經濟產值的契機。

捌、參考資料

- 一、國中自然與生活科技第四冊，理化實驗活動手冊，2013，南一出版社。
- 二、高中基礎化學（一），第四章，常見的化學反應，2013，龍騰出版社。
- 三、高中基礎化學實驗（二）活動手冊，溶液的配製，2013，龍騰出版社。
- 四、黃榮茂、王禹文，1992，化學化工百科辭典，曉園出版社，台北。
- 五、陳德新，香莢蘭豆專題系列之四—香莢蘭豆初級與深度加工及其應用，香料香精化妝品；2005 卷 6 期(2005/12/01)，P33-37。

玖、致謝

本次科展索氏萃取，所需約一公斤香草莢原料，是由行政院農業委員會桃園區農業改良場，葉志新研究員所提供；葉研究員並熱心提供技術諮詢，使此次實驗得以順利完成，深表感謝，並感謝本校科展研究室，提供索氏萃取機、真空減壓濃縮機及全光譜波長的分光光度計等儀器供我們使用，更感謝本校老師辛勤的指導與鼓勵，謝謝大家。