

【2021 全國科學探究競賽-這樣教我就懂】

高中（職）組成果報告表單

題目名稱：焉知「啡」「福」—福壽幼螺對咖啡的避忌行為與心率之影響

一、摘要：

福壽螺對台灣農業造成重大危害，然而現今對福壽螺之防治手段效果相當有限，坊間有農民則利用咖啡渣防治福壽螺，本實驗探討咖啡對福壽幼螺的影響。結果顯示浸在咖啡渣濾液中的福壽幼螺 75%顯示出遠離的反應，咖啡渣對福壽幼螺有明顯的避忌效果(卡方檢定 $p < 0.05$)。咖啡渣濾液處理的福壽幼螺在經過三十分鐘後心率下降了將近四成，且隨處裡時間呈高度正相關 ($R^2 = 0.91$)。福壽幼螺在純咖啡因溶液中，心跳的變化呈現低濃度上升，而高濃度下降的趨勢曲線，推測咖啡渣對福壽幼螺的忌避作用，可能與高濃度的咖啡因有關。

二、探究題目與動機

我們曾經看到一篇 2002 年 NATURE 期刊(Hollingsworth, 2002) 刊登的「Caffeine as a repellent for slugs and snails」報導，內容描述一個「餵食蛞蝓及蝸牛吸收了咖啡因溶液的菜葉」的實驗，此實驗想藉此了解咖啡因在軟體動物身上造成的生理影響。而實驗結果顯示此舉會造成他們心跳速率大幅下降，甚至導致死亡。而這篇期刊讓我們聯想到民間會在農田撒咖啡渣，利用咖啡渣濾出液驅離同為軟體動物的福壽螺避免農作物遭受啃咬。試想同為軟體動物，福壽螺吸收咖啡因後是否也會有相同的生理影響？而造成其驅離是否與心跳速率影響有直接關係？又我們發現福壽螺在幼螺階段，殼上的色素尚未堆積，可藉由此特點在顯微鏡下觀察到其心跳的反應，故我們以下的實驗皆使用府孵化兩個星期內的幼螺進行實驗。



圖一 顯微鏡下的福壽幼螺

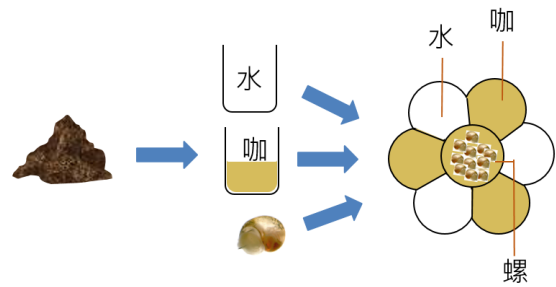
三、探究目的與假設

- 一、研究咖啡渣濾出液對福壽幼螺是否有驅離效果。
- 二、觀察咖啡渣濾出液對福壽幼螺心跳速率的影響。
- 三、觀察不同濃度的純咖啡因溶液對福壽幼螺心跳速率的影響。
- 四、探討此實驗在農業方面實際應用的可行性。

四、探究方法與驗證步驟

一、驗證福壽幼螺對咖啡的避忌行為

1. 將沖泡過的咖啡渣加入冷水攪拌，再以紗網濾出殘渣，取咖啡渣濾液。
2. 取一花朵型水彩盤，在最中間一格放入數隻福壽幼螺及步驟 1 的咖啡渣濾液。周圍六格則以間隔的方式倒入清水與咖啡濾液。
3. 一天後觀察記錄福壽幼螺的移動情況。



圖二 實驗裝置示意圖

表一 福壽幼螺在咖啡渣濾液中的移動情形

實驗次數	幼螺隻數	移動至清水中	移動至咖啡中	停留在初始位置
第一次	10	3	4	4
第二次	22	14	5	2
第三次	25	15	6	4
第四次	25	17	4	4
第五次	25	15	6	4

進行五次實驗後福壽螺的移動情形如表(一)所示。

為了使數據量化，我們對該結果進行卡方適合度檢定。假設 H_0 為「福壽幼螺對咖啡不會產生避忌」，即咖啡中及水中福壽幼螺平均分布，期望值為該次實驗總標本數之 $1/2$ 。

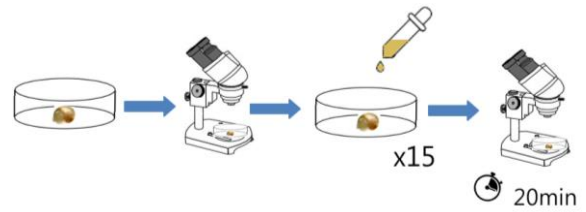
表二 卡方適合度檢定結果

	觀察值		期望值	
	咖啡	清水	咖啡	清水
第一次	4	3	3.5	3.5
第二次	5	14	9.5	9.5
第三次	6	15	10.5	10.5
第四次	4	17	10.5	10.5
第五次	6	15	10.5	10.5
	X = 25.56		P值=0.000024	

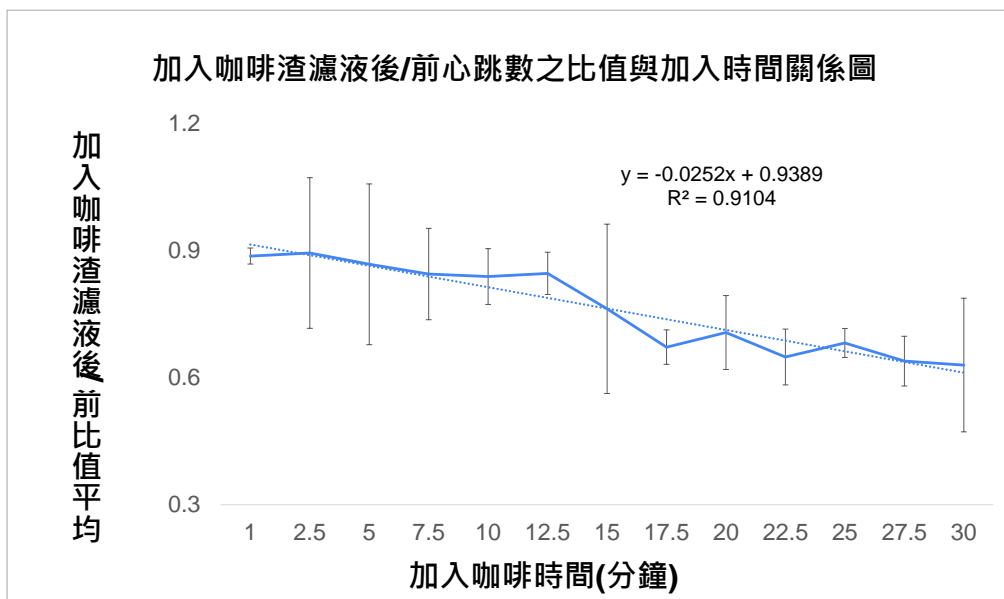
檢定結果如表(二)所示，其中 P 值 < 0.05 ，可知福壽幼螺在清水與咖啡濾液中分布有顯著差異，且有 75 % 者往清水移動。即福壽幼螺對咖啡渣濾出液有顯著遠離咖啡渣濾液的趨勢。

二、咖啡渣濾出液對福壽幼螺心跳速率的影響

1. 利用解剖顯微鏡，連接 MicroCap v3.0 程式直接觀察福壽幼螺心臟。
2. 計算初始幼螺 15 秒內的心跳次數，計算三次心跳後取平均值，定義此數值為該螺正常狀態下的心跳。
3. 加入咖啡渣濾液後，每隔 2.5 分鐘計算一次 15 秒內的心跳，持續 20 分鐘並觀察其心率變化。



圖三 實驗流程示意圖



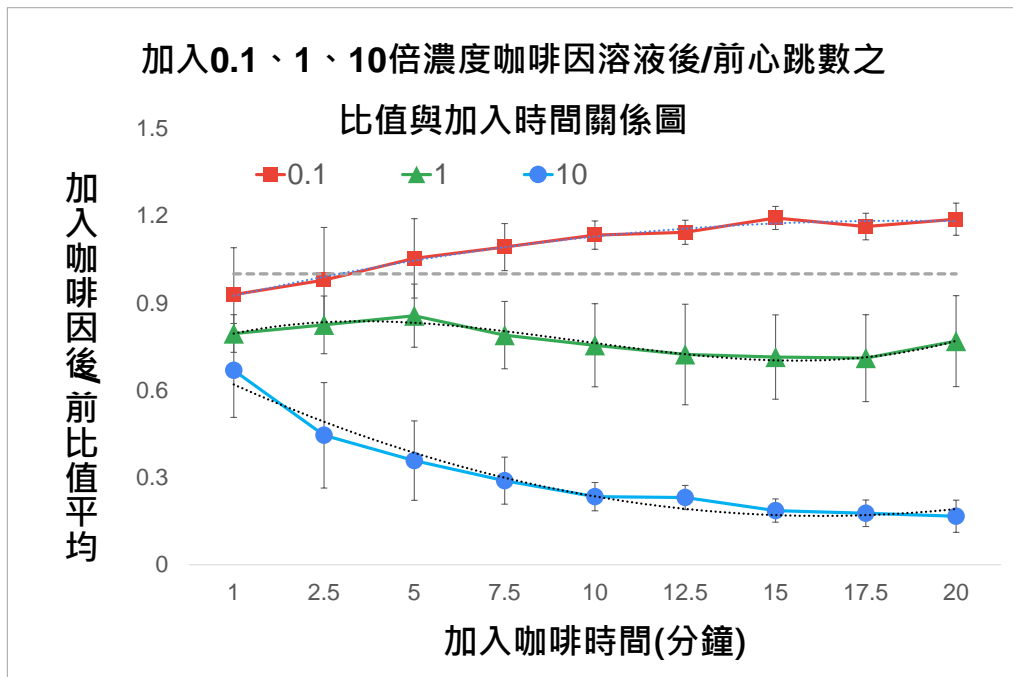
圖四 加入咖啡渣濾液後/前心跳數之比值對時間之作圖

我們將 13 組標本的數據做出折線圖，如圖(四)所示。圖中可以看到隨著咖啡作用時間增加，福壽幼螺心跳下降比例也隨之增加。加上一趨勢線後 $R^2=0.91$ ，表圖形解釋能力較高，因此我們可以藉由內插法大略推估其後心跳下降速率。

將正常心跳與加入咖啡濾液後的 13 組心跳數進行 t 檢定，加入 1 分鐘時 P 值=0.0083，2.5 分鐘後 P 值=0.025，皆小於 0.05，可見其在短時間內心跳下降數即有顯著差異。

三、純咖啡因溶液對福壽幼螺心跳速率的影響

我們利用與上個實驗相同方法進行本實驗，其中將步驟 3.中的咖啡渣濾液替換成 0.1、1、10 倍濃度的純咖啡因濾液進行實驗 (以衛生署建議，成人每日咖啡因攝取量 300mg (毫克) 以下為宜的標準配置純咖啡因溶液，定義 300mg/1L 為 1 倍濃度)。



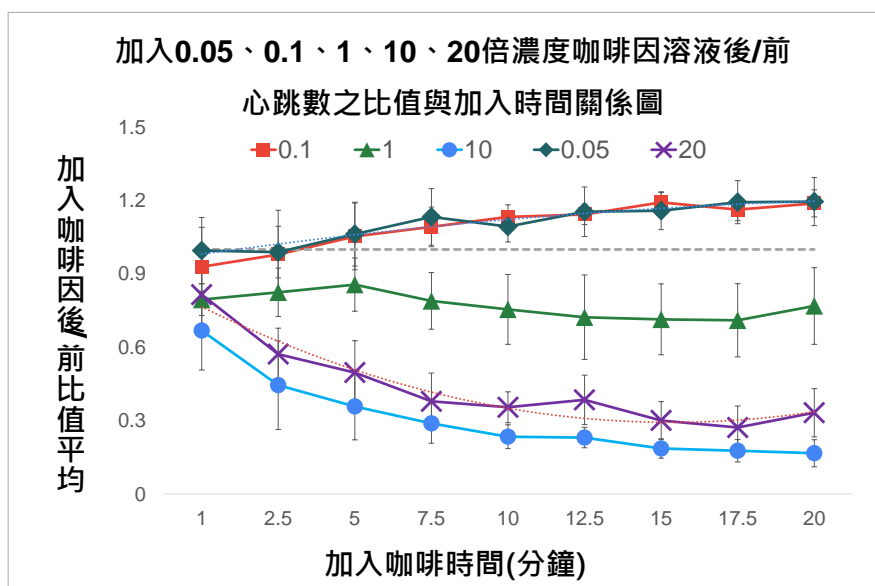
圖五 加入 0.1、1、10 倍濃度咖啡因溶液後/前心跳數之
比值與加入時間關係圖

實驗結果如圖(五)所示。圖中的數據加上趨勢線後，1 倍濃度下幼螺的心率約呈平緩的三次曲線變化($R^2=0.95$)；10 倍濃度下的幼螺心率明顯下降，心率與時間呈二次曲線下降($R^2=0.9$)；而 0.1 倍時幼螺心率在 2.5 分鐘前略小於原本心跳，之後逐漸上升，在 15 分鐘後達到高峰。

十分鐘時，在三種濃度條件下其心率變化曲線已漸趨平緩，因此我們對此時間下的三種濃度(各 15 組數據)一起進行統計，計算出 P 值約等於 10^{-15} ，遠小於 0.05，可知三種濃度作用十分鐘下，福壽幼螺的心率有顯著差異。

在咖啡渣溶液實驗中，福壽幼螺加入咖啡渣溶液後心率會下降，因此我們預測不論咖啡因濃度是多少，幼螺的心率都呈下降曲線。然而此部分實驗結果與我們的預期大相逕庭，並非在任何濃度作用下福壽幼螺的心率皆會下降，0.1 倍濃度甚至呈現上升趨勢。我們推測福壽幼螺的心率變化，在不同濃度咖啡因中有不同的結果。濃度在小於一定程度後心率會加快，濃度大於一定程度時則會變慢。

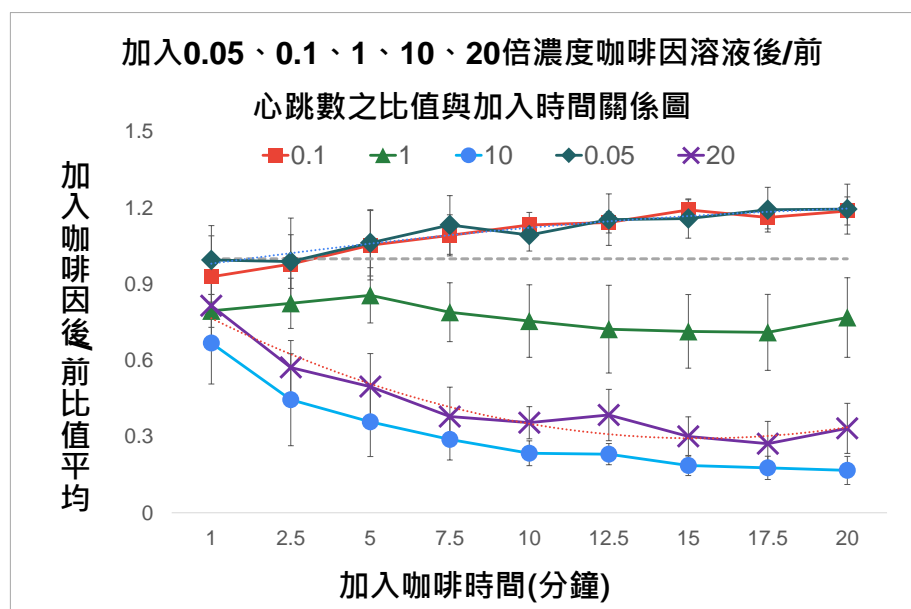
為印證此推論，我們又分別配置 0.05 倍與 20 倍濃度的咖啡因溶液，以相同步驟重複實驗。



圖六 加入 0.05、20 倍濃度咖啡因溶液後/前心跳數之比值與加入時間關係圖

由以上實驗結果可得知，0.05 倍濃度時，心跳速率上升，與 0.1 倍時變化幅度相似；20 倍濃度時心率則下降，與 10 倍時變化幅度相似。

我們取變化曲線逐漸平緩的十分鐘時，對兩種濃度各 10 組數據進行統計，計算出 P 值約等於 10^{-9} ，即十分鐘時兩種濃度下福壽螺心率變化有顯著差異。



圖七 加入 0.05、20 倍濃度咖啡因溶液後/前心跳數之比值與加入時間關係圖

五、結論與生活應用

根據實驗結果，我們可以得知以下結論：

- 一、福壽幼螺對咖啡渣有明顯避忌反應
- 二、咖啡渣會使福壽幼螺心率下降
- 三、福壽幼螺在高濃度的咖啡因溶液中心率會下降
- 四、福壽幼螺在低濃度的咖啡因溶液中心率會上升

福壽螺在咖啡渣濾液中有顯著避忌趨勢，且心率亦有明顯的下降趨勢；然而經過不同濃度的咖啡因溶液測試，卻有部分呈現明顯的上升趨勢，因此我們懷疑其避忌反應是否與心跳的生理變化有關？有鑑於此，我們規劃未來再將咖啡渣換成各種濃度的咖啡因溶液，進行水彩盤實驗，以確定其心率改變與其外在行為的關連性。

除此之外，我們希望研究成果可以利用在現實生活，未來將會利用水稻來測試加入咖啡在水田中後，對其生長的利與弊，包括生長速率、高度，以及其他反應等等。

參考資料

1. Hollingsworth R. G., Armstrong J. W. & Campbell E. (2002) Caffeine as a repellent for slugs and snails. *Nature*, 417(6892), 915-916.
2. Mustard J.A. (2013) The buzz on caffeine in invertebrates: effects on behavior and molecular mechanisms. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(8), 1375-1382.
3. 科技大觀園。全球入侵種—福壽螺的進擊。2020年8月14日，取自 <https://scitechvista.nat.gov.tw/c/sTGY.htm>
4. 行政院農業委員會。外來種和外來入侵種的定義與釐清。2020年10月12日，取自 <https://theme.coa.gov.tw/storyboard.php?type=c&web=C&id=430>。
5. 維基百科。福壽螺。2020年8月14日，取自 <https://zh.wikipedia.org/wiki/%E7%A6%8F%E5%AF%BF%E8%9E%BA>
6. 維基百科。咖啡因。2020年8月15日，取自 <https://zh.wikipedia.org/wiki/%E5%92%96%E5%95%A1%E5%9B%A0>