

簡易定量法探討溫度、酸鹼度與 活組織酶的關係

國中組生物第一名

宜蘭縣立東光國中

作 者：方智玄等六人

指導老師：吳贊繞・羅慶龍

壹、前言：

我們是一群愛好自然科學研究的同學，參加本校自然科學研習社，在老師們的鼓勵與指導下，本著「大膽假設，小心求證」的原則應用已學的科學知識與技巧，自行設計易於操作有效正確的實驗方法，從事自然科學探討研究，克服學校實驗室設備不足的障礙。

貳、實驗動機：

國中生物課本中曾提示唾液與澱粉作用轉變為糖可用本氏液與糖作用之顏色變化來比較唾液酵素活性，但因比色法準確度較低，且酵素種類多，功能不同，非任何酵素均可與澱粉作用，因此比色法不適廣用。

本學期上化學課，老師教我們用雙氧水加二氧化錳（催化劑）製氧，實驗中手沾了雙氧水起很多氣泡，老師告訴我們那是生物體內含有各種酶（酵素）的關係，它與二氧化錳一樣都是催化劑。於是數位志同道合的同學一起合作探討不同物體的酶存在情形，實驗過程中發現很多生物體與雙氧水作用生成大量的氣體，並可用排水集氣法收集，但部份泡酸鹼及熱處理過之生物體，則與雙氧水作用生成氣體量有顯著的減少，於是引起了我們想要揭開溫度與酸鹼度及活組織酶的神秘關係。

參、實驗器材與藥品：

(一) 器材：試樣（花生米、馬鈴薯、豬肉、魚肉），量筒、燒杯、

帶有支管的試管、溫度計、碼錶、水槽、恒溫槽、橡皮塞子、橡皮管、鐵架、鐵夾、天平、吸管、濾紙、小刀、酒精燈。

(二)藥品：雙氧水、酒精、氫氧化鈉、鹽酸、蒸餾水。

肆、實驗原理：

(一)本實驗均在常壓下進行，應用酶對雙氧水會起分解作用產生氧，依照排水集氣法收集生成的氧氣量分析比較不同試樣，不同狀況下組織酶的活性。



(二)PH值溶液的配製：

1. 根據 M (體積莫耳濃度) = $\frac{n(\text{莫耳數})}{V(\text{升})}$ ， n (莫耳數)

$= \frac{w(\text{重量})}{m(\text{克分子量})}$ 稱取氫氧化鈉重量，製配欲求之氫氧化鈉莫耳濃度。

2. 根據稀釋原理將濃鹽酸稀釋成欲求之濃度。

3. 根據酸鹼中和原理，測定鹽酸濃度，便成標準溶液。

4. 準備連續鹽酸的稀釋度，由 0.1M 開始將六個燒杯，分別編號排列，第一個燒杯加 100 ml 的 0.1M 鹽酸溶液，其餘五個燒杯加 90ml 的蒸餾水，從第一個燒杯轉移 10 ml 至第二個燒杯，並繼續至第六個燒杯為止分別製配鹽酸 0.01M, 0.001M 至 0.000001M，如同上述稀釋 NaOH 可得鹼的稀釋度。

5. 根據 $[\text{H}^+] = 10^{-\text{PH}}$, $[\text{H}^+] \times [\text{OH}^-] = 1 \times 10^{-14}$, 如鹽酸 0.01M 則其 PH 值 = 2。

伍、實驗部份與結果：

(一)第一部份實驗：溫度因素與活組織酶的關係：

1. 活組織酶在各種溫度下的活性變化：

(1) 實驗方法：

設置恒溫槽，分別調節其溫度於 10 °C, 20°C, 30°C,

40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, 90°C, 100°C，另置冰塊於大燒杯中使溫度保持在 0°C，然後取 11 個小燒杯，分別裝數粒生的花生米，分別置於前述的 11 種不同溫度下熱處理 15 分鐘後取出花生米依次分成 11 份，每一份用天平秤量 2 克，裝妥排水集氣法的裝置，將 11 份試樣同時放入同種規格的試管中，加 15 ml 的雙氧水後，再加上橡皮導管，計時 10 分鐘收集氧氣，由水槽中的量筒定出氧氣生成量 (ml)，並記錄之。改用豬肉、馬鈴薯及魚肉等試樣，方法同前。

(2) 實驗結果：見表(一)(略)

(3) 實驗分析：略

2 同溫度下加熱時間長短對於酶的活性關係：

(1) 實驗方法：

設置恒溫槽分別調節其溫度於 50°C, 52°C, 54°C, 56°C, 58°C, 60°C, 70°C, 80°C, 90°C 及 100°C，取 9 個小燒杯分別各盛裝數十粒生的花生米，分別置於前述的恒溫槽中加熱，每 3 分鐘，10 分鐘，15 分鐘，取出花生置於天平均秤 2 克為 1 份，如前利用排水集氣法，收集 10 分鐘，測定加熱 3 分鐘下，9 種不同溫度之氧氣生成量 (ml) 分別記錄之。改用馬鈴薯、豬肉、魚肉等試樣，方法同前，但馬鈴薯、魚肉的處理溫度範圍在 40°C ~ 50°C 而豬肉則在 50°C ~ 60°C。

(2) 實驗結果：略

(3) 實驗分析：略

(二) 第二部份的實驗：酸鹼度與活組織酶的關係：

1 實驗方法：

按照實驗原理所述配製各種不同的 PH 值溶液，即 PH 1, PH 2, PH 3, PH 4, PH 5, PH 6, PH 7, PH 8, PH 9, PH 10, PH 11, PH 12, PH 13，分成三組，每一組各用 13 個小燒杯盛裝，每一小燒杯中各加入數粒生的花生米浸

泡之，但第一組置於 30℃ 的恒溫槽中保溫 100 分鐘，第二組及第三組則各置於 40℃ 及 50℃ 的恒溫槽中保溫 100 分鐘，時間一到即依次用排水集氣法（如前述）測出 30℃，40℃ 及 50℃ 下不同 pH 值的試樣之氧氣生成量（ml）並記錄之。同法，改測馬鈴薯、豬肉及魚肉等試樣，但馬鈴薯、魚肉的處理溫度在 30℃，40℃ 及 45℃。

2 實驗結果：見表(三)（略）

3 實驗分析：略

陸、討論及實驗給我們的啓示：

- (一) 本實驗的排水集氣法裝置係採用量筒垂直固定以利觀察橡皮管長短與規格均要求一致，以增加其準確度。
- (二) 本實驗對活組織酶先行熱處理，而不直接將試樣置於雙氧水中一起加熱探討其活性，乃是考慮熱本身對雙氧水亦會起分解作用，產生氧氣而影響收集量的準確度。
- (三) 實驗操作中所取之試樣雖均予以切碎處理，然尚難免顆粒大小有所不均，致造成反應速度不同的誤差。
- (四) 本實驗採用試管代替課本的實驗裝置使用之錐形瓶是為了避免減少氧氣的收集量。
- (五) 本實驗雖未能將所有溫度加以探討而僅選擇酶活性變化較大之附近溫度討論，此在科學研究之要求上或有疏漏，然不失為經濟、時間限制上所能做出的較簡易而可行的有效實驗。
- (六) 本實驗是由多人同時進行，因每個人在反應上的個別差異，在時間的準確要求上難免有所誤差。
- (七) 大多數的酶以 pH 值接近 7（中性）時，最為活潑，通常在強酸強鹼溶液中，酶類的作用頗為遲滯，甚至於停止活動。
- (八) 酶雖經 0℃ 的處理，然溫度昇高後，其活性並未被破壞，而愈高溫加熱時間愈長，酶活性之破壞愈烈，因此日常食品宜冷凍保藏，食品熱處理時間要短。
- (九) 生物體內酶含量不等，溫度破壞其活性程度亦不一致，一般在 45℃ ~ 60℃ 間破壞最大。

- (+) 本實驗中收集氧氣量在記錄上為 0，並不完全表示其活性停止，只是其活性甚弱，至於以後，鑑於時間關係不予探討。
- (-) 本實驗確實是一種研究探討組織酶活性的簡易方法，一般的食
物，只要它能與雙氧水起明顯的反應產生氧氣泡，我們便可以利用本實驗法探求其酶的活性。

柒、製作者的感想：

本實驗歷經兩個月，因受上課的限制諸多不便，但在老師指導下終於完成。酵素種類何止萬千，即使一位大科學家，窮畢生之力，亦難了解萬一，可是我們仍以濃厚的興趣，本著耐心、細心的科學實證精神，去思考，去探討從實驗中我們發現兩個疑問？？

- (-) 一般生物酶的活性適宜性之 P H 值隨度昇高而增加，但馬鈴薯無此趨勢。為何？
- (-) 花生及豬肉生 40 °C 之活性適宜性收集之氧氣量較 30 °C 之氧氣收集量多。為何？

捌、指導老師的話：

從整個實驗歷程來看，製作同學們都能時時運用思考，處處虛心請教老師，而他們的構想又能出奇創新，實難能可貴，就像本實驗法裝製簡單材料易得應用廣泛，係採用定量法來測定，精確度較比色法為佳，且適國中生接受，可在生物課本中介紹，俾能增進教學的實用價值，也希望藉此激發學生研究問題的興趣及科學思考的能力。