

作品名稱：生化氧氣

國中組 生物科 第三名

縣市：台南市

作者： 蕭博仁、吳順至

校名：台南市立後甲國中

指導老師： 楊秋華

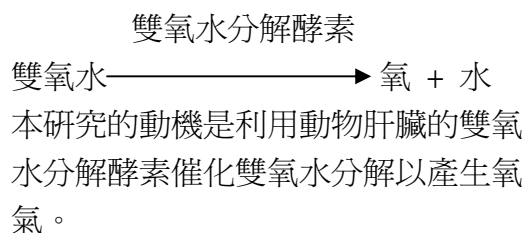
關鍵詞：雙氧水分解酵素、濾紙沈浮法、泡沫上升法、排水集氣法



一、 研究動機：

(一) 利用生物體的酵素催化雙氧水分解以產生氧氣和水。

氧氣是生物體所需要最主要的成分之一。爲了探討氧氣的特性，在國中二年級的理化課程中，我們利用二氧化錳催化雙氧水分解以產生氧氣，並利用排水集氣法收集氧氣，然後以燃燒的線香驗證所收集的氣體確實具有助燃的效果。酵素是生物體內非常重要的催化劑，生物體內有許許多多的酵素，其中有一種酵素（雙氧水分解酵素，catalase）也可以催化雙氧水分解以產生氧氣和水。此類酵素的功能是清除細胞內產生多餘的雙氧水，以減少雙氧水對細胞的傷害，其反應式如下：



(二) 發展簡易偵測雙氧水分解酵素活性方法。

文獻報導中所使用偵測雙氧水分解酵素活性的方法都非常複雜，本研究的動機是發展出更簡易、更準確、更實用、更有趣的實驗方法，來探討此酵素催化雙氧水分解的奧秘，以增加國中同學對實驗的興趣，並啓發對酵素的好奇與瞭解。

二、 研究目的：

(一) 從動物器官萃取雙氧水分解酵素並利用它催化雙氧水分解以產生氧氣。

(二) 發展出三種簡易偵測雙氧水分解酵素活性之方法：改良型排水集氣法、濾紙沈浮法，及泡沫上升法。

(三) 利用改良型排水集氣法測量酵素催化雙氧水分解所產生氧氣的體積。

(四) 利用濾紙沈浮法探討雙氧水分解酵素之特性

(五) 設計出有趣及美麗的泡沫上升法，以吸引國中同學對生化科學的興趣。

三、研究器材：

(一) 動物器官之來源：雞的內臟、豬肝、魚肝、牛肝購自傳統市場，清水鯉魚由錦鯉場贈予，二仁溪之魚類由二仁溪整治促進會提供。

(二) 雙氧水（30%）和磷酸鉀、購自景明化工公司。

(三) 玻璃器材：燒杯、量筒、三角錐型瓶。

(四) 其它：果汁機、濾紙、碼錶、溫度計、電動天平、電磁攪拌器、線香、針筒、恆溫槽。

四、研究過程：

(一) 製備動物器官萃取液
秤取所需重量之器官，先用剪刀剪碎，再加入 100 毫升磷酸鉀緩衝溶液，以果汁機打至均勻無碎片。雙氧水分解酵素之濃度根據不同實驗之需求而配製，並標明於各實驗中。

(二) 改良型排水集氣法

(1) 標出水柱起始的位置。

(2) 量取20毫升之雙氧水溶液（濃度 0.1~0.7%），置入125毫升錐型瓶內並

攪拌。

(3) 配製濃度 (20克/100毫升) 之豬肝臟萃取液，每次取2毫升，以針筒注入錐型瓶。

(4) 等水柱高度不再變化，即可標示水柱位置，測量反應前後之水柱差。

(三) 濾紙沈浮法

1. 原理：

利用濾紙吸附動物器官萃取液的雙氧水分解酵素。將吸附後之濾紙放入雙氧水底部，在濾紙上的雙氧水分解酵素可以催化雙氧水分解並產生氣泡，所產生之氣泡將使濾紙上浮 (圖四)。濾紙上升至液面所需的時間與酵素濃度及活性成反比。因此此方法可以用來偵測雙氧水分解酵素之含量及活性。

2. 過程：

(1) 剪1平方公分正方形濾紙100張。

(2) 將濾紙浸泡在器官萃取液5分鐘，隨後放入磷酸鉀溶液清洗，並以紙巾拭乾。(圖四(a))

(3) 將拭乾之濾紙置入不同濃度之雙氧水底部，然後測定濾紙浮上水面所需之時間。除非特別標示，否則濾紙沈浮法中之器官萃取液濃度皆為0.2克/100毫升。

(四) 酵素動力學研究

1. 原理：

酵素動力學是探討酵素活性的一種方法。其原理是依據米氏方程式

(Michaelis-Menten Equation)。其方法測定固定量酵素在不同受質中之催化速率，然後將速率之倒數對受質濃度倒數作圖，所得之圖形應趨於一直線。又直線與 Y 軸的切點為 $1/V_{max}$ ，

而與 X 軸的切點為 $-1/K_m$ ，酵素活性可以用 V_{max}/K_m 來代表。

2. 過程：

(1) 利用濾紙沈浮法測試此實驗。

(2) 濾紙如過程 (三) 準備好。

(3) 將拭乾之濾紙各三張，置入不同濃度之雙氧水 (0.025%、0.05%、0.1%、0.2%) 中，並記錄其上升至液面所需的時間。

(4) 雙氧水分解酵素之催化速率可以用濾紙上升至液面所需時間之倒數來代表。

(五) 雙氧水分解酵素之溫度穩定度豬肝臟萃取液 (10毫升) 於不同溫度置放10分鐘，然後以濾紙沈浮法 (過程 (三)) 測試其在0.1%雙氧水中之活性。

(六) 雙氧水濃度對酵素活性的影響將雙氧水加入豬肝臟萃取液使雙氧水濃度分別為1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%的雙氧水，靜置10分鐘後，如過程 (三)，以濾紙沈浮法測試這些濾紙的上升時間。

(七) 酸鹼度對酵素活性的影響

(1) 將豬肝萃取液放入不同酸鹼值 (5~11) 的緩衝溶液 10 分鐘。

(2) 利用濾紙沈浮法測試其活性。

(八) 儲存時間對酵素穩定性的影響

(1) 將豬肝放置在4℃冰箱，在儲存一天、二天、三天、四天和五天後，分別取出2克並製備豬肝萃取液。

(2) 利用濾紙沈浮法測試其活性。

(九) 泡沫上升法

(1) 將0.5毫升之豬肝臟萃取液(2克/100毫升)加入30公分長圓柱管底部。

(2) 在不同濃度雙氧水(0.25%~1%)中加入洗碗精(使得最後濃度達0.1%)，並加入1~2滴食用色素，以加強視覺效果。

(3) 將20毫升雙氧水用針筒注入圓柱管底部並觀察泡沫上升的情形。

五、研究結果：

(一) 生物的催化劑。

將豬肝的萃取液加入雙氧水中(濃度1%)，攪拌後會產生大量的氣泡。此時如果將點著之線香放入瓶內，線香燃燒更激烈並產生火焰(圖一)。這個實驗證明反應所生成之氣體為氧氣。

(二) 改良型排水集氣法。

1. 傳統排水集氣法與改良型排水集氣法之比較。

傳統排水集氣法是將反應產生的氣體注入倒立及裝滿水的廣口瓶中，然後氣體逐漸取代水溶液直到填滿容器為止。這種方法常將實驗操作者及實驗室弄得濕答答的，而且不容易測量觀察氣體產生的體積及速度。改良型排水集氣法是先將水注入底部夾住之圓柱型管柱內(管柱上有刻度)，然後將上方安裝好，反應開始時，將夾子鬆開，反應產生之氣體由上方注入並逐漸取代管柱內之液體。氣體產生的量及速度可由管柱上液面高度測量出來(圖二)。

2. 利用改良型排水集氣法做定量觀察。

利用固定量的豬肝萃取液催化同體積但不同濃度雙氧水之分解，所產生氧

氣的體積與雙氧水濃度關係成正比(圖三)。

(三) 利用濾紙沈浮法探討雙氧水分解酵素之特性。

濾紙沈浮法之原理參考自文獻但本研究發展之濾紙沈浮法不但操作簡便，更可以用來精確測量酵素之催化速率及探討下列實驗。

1. 探討雙氧水分解酵素在雞內臟之分佈情形。

利用濾紙沈浮法測試雙氧水分解酵素在雞內臟分佈情形之結果(表一)顯示，雞肝和腎臟所含之酵素濃度最高，其次是脾臟。其他器官(包括卵、腦、心臟和肌肉)所含酵素濃度較低，無法利用濾紙沈浮法偵測出來。

2. 比較不同動物肝臟所含雙氧水分解酵素活性。

不同動物肝臟的雙氧水分解酵素在不同濃度雙氧水中(0.025~0.2%)的催化速率列於圖五。結果顯示，當雙氧水濃度越高時，酵素的催化速率越快。比較不同動物肝臟的雙氧水分解酵素在相同濃度雙氧水中的催化速率時，則發現牛肝的活性最高，其次是豬，然後是雞，最後是魚。

3. 探討雙氧水分解酵素之穩定性。

酵素是由蛋白質所組成，是一種不太穩定的催化劑，此實驗之目的是探討雙氧水分解酵素在不同溫度、不同雙氧水濃度、不同酸鹼值及不同儲存時間之穩定性。溫度穩定性的結果列於圖六，此結果顯示雙氧水分解酵素在高於70℃之後就完全喪失活性，在60

℃活性稍微降低，在50℃以下活性穩定。酵素在不同濃度雙氧水的穩定性列於圖七，其結果顯示雙氧水濃度增加時酵素活性逐漸降低，在高於7%時此酵素之活性完全喪失，本研究其他實驗所使用之雙氧水濃度均在2%以下。酵素在不同酸鹼值的穩定性方面，實驗結果列於圖八。此項結果顯示，酵素在鹼性條件時活性逐漸降低，到了酸鹼值11時活性顯著下降。在4℃儲存時間對於酵素活性影響方面，實驗結果列於表二。此項結果顯示，儲存時間越久，酵素之活性稍微降低，但影響並不大，這表示酵素在4℃的穩定性不錯。

4. 探討雙氧水分解酵素之催化速率。我們已利用濾紙沈浮法探討許多不同動物肝臟萃取液在不同濃度雙氧水之催化速率。當我們將速率的倒數對雙氧水濃度的倒數作圖，如果可獲一直線的話，表示測試酵素活性的方法很可靠。繪圖的結果顯示，我們利用濾紙沈浮法測試各種不同動物肝臟之雙氧水分解酵素活性均趨於一直線（圖九），此結果表示濾紙沈浮法非常可靠及準確。

由圖九計算出來雙氧水分解酵素的動力學常數列於表三，結果顯示不同動物肝臟細胞雙氧水分解酵素的活性

（ V_{max} / K_m ）大小次序為牛>豬>雞>魚，這個計算結果支持圖五的結論，牛肝的催化速率最快，然後是豬、雞、魚。

5. 探討被污染魚類肝臟雙氧水分解酵素之活性。

文獻報導說有些被污染河川的魚類，

其肝臟之雙氧水分解酵素之活性會受到影響。我們在全台灣污染最嚴重的二仁溪口捕撈了五種魚，並比較這五種魚和一種清水飼養鯉魚的肝臟雙氧水分解酵素之活性（圖十），結果顯示，二仁溪口的魚雖然能在污染的河水存活但他們所含雙氧水分解酵素的活性比清水鯉魚的酵素活性低。

（四）發展有趣及彩色的泡沫上升法。

在雙氧水中加入少許的洗碗精及食用色素，當酵素催化雙氧水產生氧氣時，將會產生許多彩色的泡沫非常漂亮（圖十一）。這個實驗可以吸引學生的注意力。

（五）三種簡易方法之比較。

本研究發展出的三種簡易偵測雙氧水分解酵素活性方法之特點及其比較如表四。這三種方法的共同特色是設備簡單及操作方便，除此之外它們各有特殊之處。改良型排水集氣法可以精確的測量反應後所產生氧氣的體積，濾紙沈浮法可用來精確測量酵素的催化速率及作酵素動力學分析。泡沫上升法非常美麗，可以吸引同學的注意力。

六、討論：

（一）發展出簡易偵測雙氧水分解酵素的方法。

本研究總共發展出三種偵測雙氧水分解酵素的方法。這三種方法得特色是使用簡單的器材和容易的操作步驟，就可以探討雙氧水分解酵素的奧秘。其具體的結果如下：

1. 改良型排水集氣法：

這個方法不但可用來收集氧氣，而且可以測量反應後產生氧氣的體積。

2. 濾紙沈浮法：

這個方法只需要一個燒杯、一張濾紙、一個碼表就可以精確的測出酵素的催化速率，它的用途很多，包括：①酵素動力學分析、②探討酵素在動物器官分佈情形、③比較不同動物肝臟之酵素活性、④探討酵素的穩定性和⑤比較污染魚類肝臟酵素活性等。

3. 泡沫上升法：

這個實驗純粹是爲了吸引同學的注意力。

（二）生化氧氣的觀念連接圖。

本研究發展出來的研究方法與研究目的可以用一張觀念連接圖（圖十二）來表示。這張圖可以協助我們瞭解每一個方法的特色、預期完成的答案、及與研究目的之關連性。

七、結論：

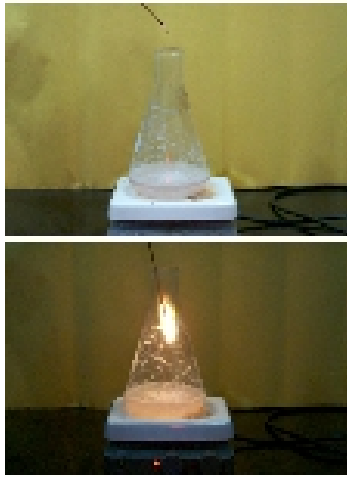
生化科技是二十一世紀的新科技，在報章雜誌、新聞及網路上經常有關於生化科技的消息，譬如人類基因庫完成解讀、複製羊桃莉、基因轉殖植物等等。在國中的課程裡還沒有機會探討這些深奧的主題，不過在這些引人入勝的報導，實在令我們躍躍欲試。閱讀參考資料後，我們學到酵素是生物體內的重要催化劑，缺乏它會造成疾病，因此我們就開始計畫設計一個研究酵素的實驗。

在研究酵素之前，必須要有偵測酵素活性的方法，本研究發展出三種簡易偵測雙氧水分解酵素的方法，利用這些方法我們已經可以很深入探討雙氧水分解酵素的特性，由於雙氧水分解

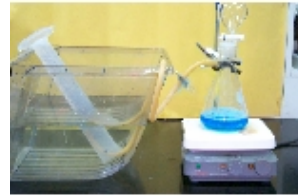
酵素的來源非常容易取得，加上本研究發展出來的三種實驗方法很容易操作及觀察，因此這個實驗應該會受到國中同學的喜愛。

八、參考資料：

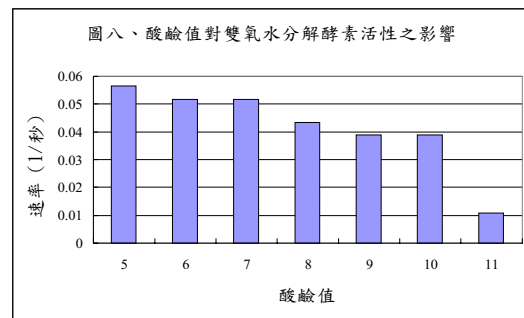
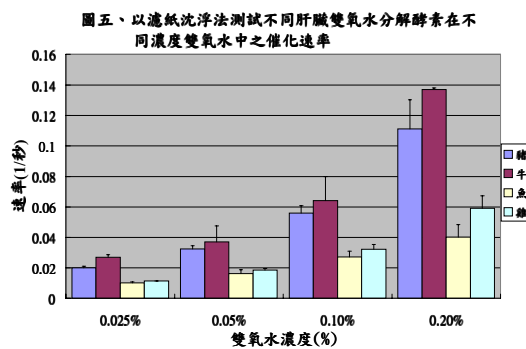
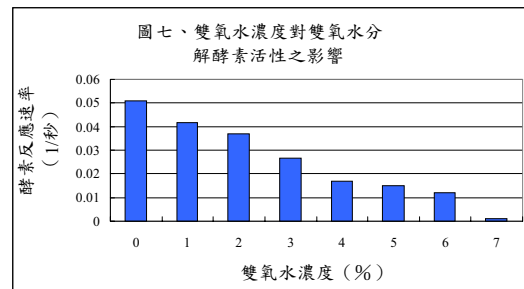
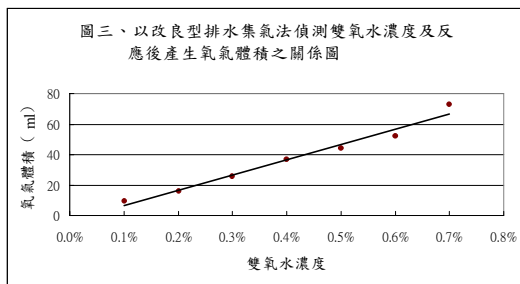
1. Johnson, K.A. *Journal of Chemical Education* 2000, 77, p.1451-1452
2. Borer, L.; Barry, E.; Nguyen, D. *The Science Teacher* 1996, 63, p.20-23
3. Enzyme Database
<http://www.agron.missouri.edu/cgi-bin/sybgw-mdb/enzyme/Enzyme>
4. 哥白尼少年兒童科學雜誌182期，45-53頁。
5. 高雄縣二仁溪域管制現況報告，高雄縣環保局89年。
6. 中國時報90年2月19日第17版。
7. 國中理化課本第一冊，第二章，第二節。
8. 生物化學實驗原理和方法，李建武、蕭能愿、余瑞元、陳麗蓉、陳雅蕙、陳來同、袁明秀合編，1997年，藝軒圖書公司，489-497頁。
9. 有趣的科學實驗，牧野賢治編著，沈永嘉譯，2000年，180頁。
10. 脊椎動物比較解剖實驗，陶錫珍編著，2000年，177-181頁，199-209



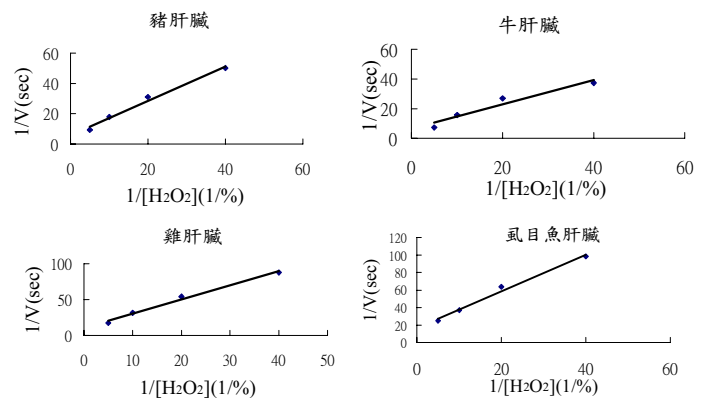
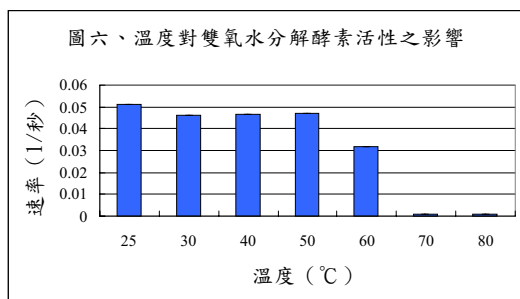
圖一、豬肝臟的雙氧水分解酵素可催化雙氧水分解並產生氣泡（上圖），產生之氣泡可幫助線香燃燒（下圖）。



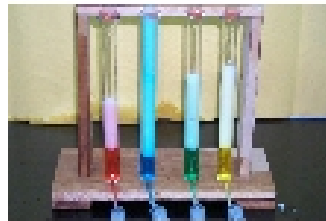
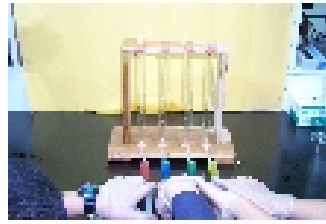
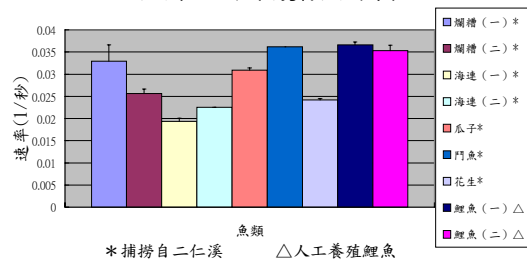
圖二、改良型排水集氣法裝置（上圖）與一般排水集氣裝置（下圖）之比較。



圖九、以濾紙沈浮法對不同肝臟的雙氧水分解酵



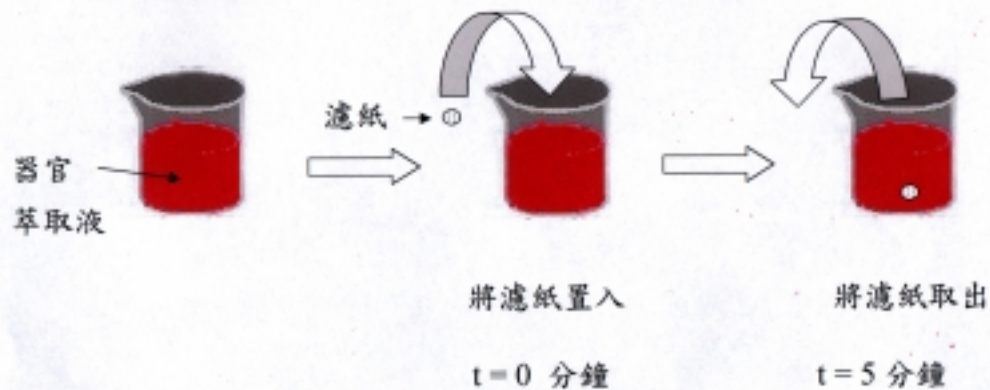
圖十、利用濾紙沉浮法比較二仁溪被污染魚類及一般
沒被污染魚類肝臟的雙氧水分解酵素之活性



圖十一、泡沫上升法裝置圖 (上圖)
及反應後之情形

圖四 (a)、濾紙沉浮法

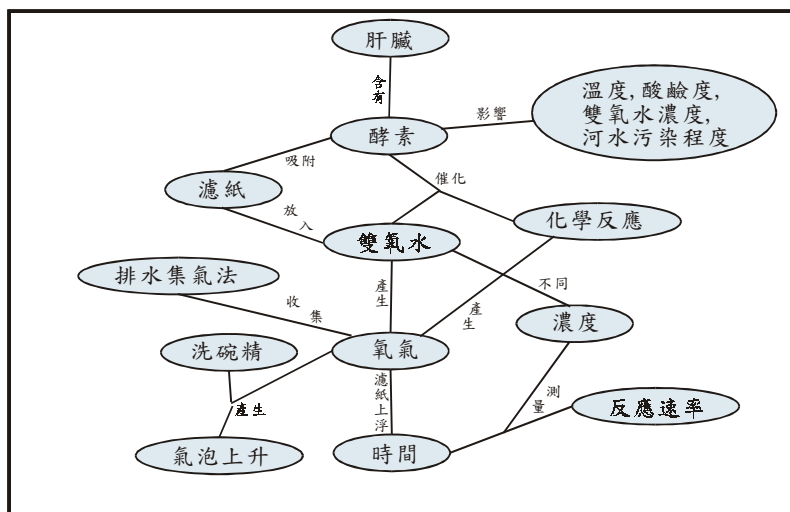
一、利用濾紙吸附器官萃取液中之雙氧水分解酵素



圖四 (b)、濾紙沉浮法

二、吸附在濾紙表面之雙氧水分解酵素可催化雙氧水分解並產生氧氣氣泡，所產生之氣泡將使濾紙上浮





圖十二、生化氧氣的觀念連接圖

表一、以濾紙沉浮法測試雞的各種器官之雙氧水分解酵素活性

雞內臟 方法	雞肝 1	雞肝 2	卵	脾	腎	腦	心	肌肉
濾紙在 0.1% 的雙氧水浮 起時間	36 秒 30 秒 28 秒	32 秒 31 秒 34 秒	浮不 起來	3 分 42 秒 3 分 49 秒 3 分 28 秒	34 秒 35 秒 38 秒	浮不 起來	浮不 起來	浮不 起來

表二、儲存時間對豬的肝臟雙氧水分解酵素活性的影響

時間 豬肝	一天			二天			三天			四天			五天		
(一)	15 秒	14 秒	14 秒	17 秒	17 秒	17 秒	17 秒	17 秒	18 秒	14 秒	15 秒	16 秒	17 秒	17 秒	18 秒
(二)	12 秒	14 秒	15 秒	16 秒	16 秒	16 秒	16 秒	16 秒	16 秒	13 秒	17 秒	16 秒	19 秒	19 秒	19 秒
(三)	14 秒	14 秒	14 秒	14 秒	14 秒	15 秒	18 秒	18 秒	17 秒	18 秒	17 秒	18 秒	15 秒	15 秒	15 秒
(四)	13 秒	14 秒	14 秒	16 秒	17 秒	17 秒	16 秒	16 秒	18 秒	18 秒	17 秒	15 秒	15 秒	13 秒	15 秒

表三、不同動物肝臟雙氧水分解酵素之動力學常數

種類 常數	Km (米氏常數)	Vmax (最大速率)	Vmax/Km (酵素活性)
雞	0.1862	0.0944	0.5070
豬	0.1952	0.1721	0.8817
牛	0.1268	0.1547	1.2200
虱目魚	0.1242	0.0594	0.4783

表四、三種簡易偵測雙氧水分解酵素活性的方法之比較

功能 方法	收集氧氣	速率測定	定性	設備	雙氧水 消耗量
排水集氣法	O	X	O	較複雜	多
濾紙沉浮法	X	O	O	簡單	極少
泡沫上升法	X	X	O	簡單	多

評語：

研究主題很有意義，實驗設計完整，資料收集及分析詳細，尤其能自製改良儀器，且能立即性獲證實驗結果，很能說服他人。有關三種氧氣收集方法，雖然構思很好，但缺少量的數據，在比較上較不精確，可進一步改進。另外，取材生活化，又顧及科技發展趨勢，也是值得參考之處。

作者簡介

我是蕭博仁，從小就對科學很感興趣，主要是受到兩位生化博士、我的爸爸和媽媽的影響。除了科學之外，我的興趣非常廣泛，我還學鋼琴、小提琴和法文，我也是游泳校隊，未來希望成爲一位太空科學家。

我是吳順至，我從小就喜歡作理化的實驗，我的嗜好是看有關理化的書，也喜歡觀察生物的一舉一動。除了這些，我最喜歡的運動是跳健康操，現在我將要代表台南市去參加比賽，未來我希望成爲一位建築師。