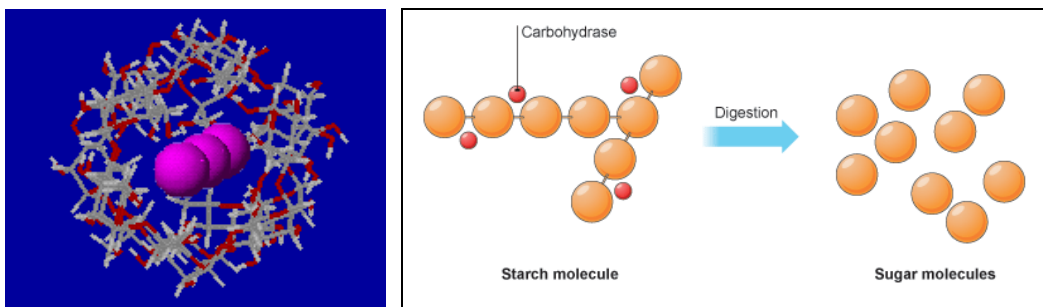


# 微量化學實驗：常見食物酵素的微量檢驗

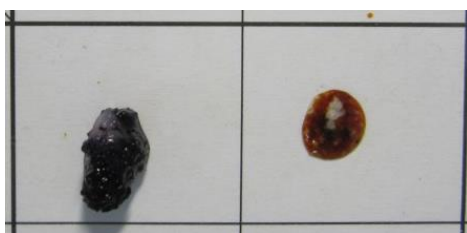
## ■ 原理和概念

### 一、澱粉酶 ( Amylase )

澱粉分為直鏈澱粉 ( amylose ) 和支鏈澱粉 ( amylopectin )；直鏈澱粉遇到碘分子或三碘離子生成藍紫色的錯合物，如圖一左所示。而支鏈澱粉遇碘試劑 ( Iodine reagent ) 呈紫紅色的錯合物。澱粉酶 ( 酵素 ) 能使澱粉分解成葡萄糖，如圖一右所示。葡萄糖無法使碘液變成藍紫色或紫紅色，而呈現碘液原本的棕色，此與對照組的藍紫色不同，因此呈現棕色視為含有澱粉酶的陽性反應。



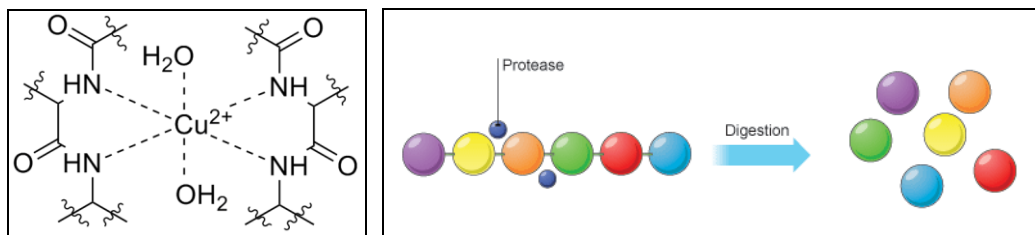
圖一：澱粉與三碘錯離子形成錯合物 ( 左 )；澱粉酶使澱粉分解成葡萄糖的示意圖 ( 右 )  
( 圖片來源：<http://goo.gl/0YHIQ7> 和 <https://pmgbiology.com/tag/amylase/> )



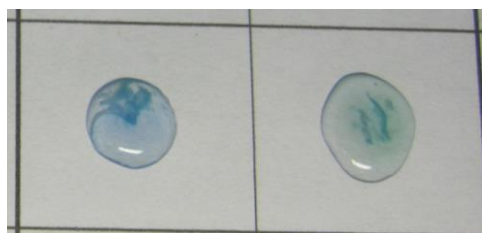
圖二：呈現藍紫色視為陰性反應 ( 左 )；呈現碘液原本的棕色視為陽性反應 ( 右 )

### 二、蛋白酶 ( Proteases )

在鹼性溶液中，蛋白質或肽鍵與雙縮脲試劑 ( Biuret reagent ) 中的  $\text{Cu}^{2+}$  反應而形成紫紅色的複合物，如圖三左所示；呈現的顏色深淺與蛋白質濃度成正比。蛋白質分子較小，呈現淡紫紅色，而分子量較大的則呈現紫色或藍紫色。蛋白酶是生物體內的一種酵素，能分解蛋白質，打斷蛋白質的肽鍵成為胺基酸，如圖三右所示。蛋白酶具有嚴格的選擇性，一種蛋白酶只能水解在蛋白質中一定的肽鍵上。當蛋白酶分解蛋白質而生成胺基酸，就無法與雙縮脲試劑反應，呈現試劑原本的藍色或紫色變淡，視為含有蛋白酶的陽性反應，如圖四所示。



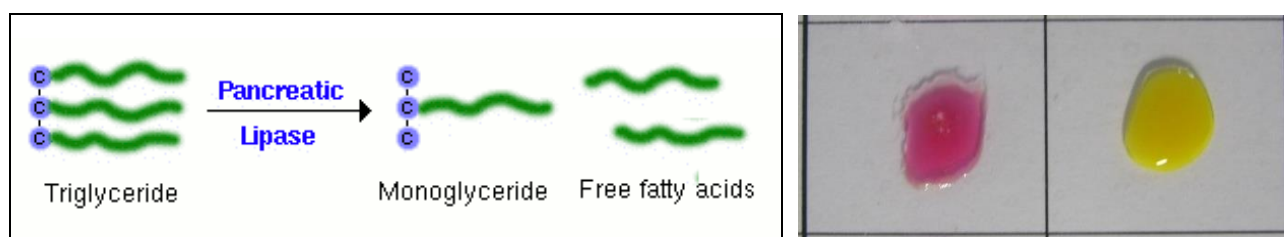
圖七：蛋白質或肽鍵與  $\text{Cu}^{2+}$  反應而形成複合物（左）；蛋白酶水解蛋白質而生成胺基酸（右）  
（圖片來源：<https://goo.gl/ShV7A6> 和 <https://pmgbiology.com/tag/tease/>）



圖四：右邊呈現藍色視為含有蛋白酶的陽性反應

### 三、脂肪酶 (Lipases)

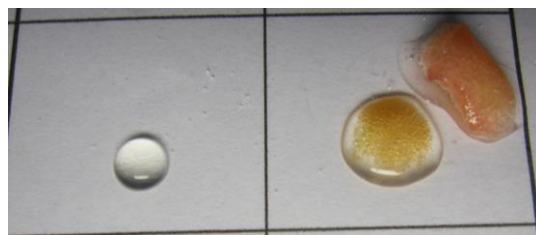
油脂 (Oils and Fats) 是油與脂肪的合稱，又稱為三酸甘油酯，由脂肪酸和甘油的脫水反應產生而成。脂肪酶能催化脂類的酯鍵的水解反應，使三酸甘油酯分解成甘油單脂和脂肪酸，如圖五左所示。水解反應產生的脂肪酸具有酸性，導致被檢驗的溶液之 pH 值下降，而使酚紅 (phenol red) 指示劑呈現黃色。酚紅在 pH 8.2 以上呈現紅色，在酸在 pH 6.8 以下呈現黃色，此檢驗的實驗組呈現黃色，視為陽性反應，如圖五右所示，這與對照組的紅色不同。



圖五：三酸甘油酯 (Triglyceride) 分解成甘油單脂 (monoglyceride) 和脂肪酸 (fatty acids)  
（左）；呈現黃色視為含有脂肪酶的陽性反應（右）  
（圖片來源：<http://goo.gl/fBhY4cl>（左））

### 四、過氧化氫分解酶 (Catalase)

過氧化氫分解酶催化過氧化氫分解成氧氣和水的酵素，有冒泡的現象（氧氣產生）視為陽性反應，如圖六所示。



圖六：右邊有冒泡的現象視為陽性反應

## ■ 藥品、器材及配製試劑

### 一、藥品和器材 (全班用量)

吹風機 1 支／兩組、棉花棒 1 盒、眼藥水瓶 (10-15 mL) 7 瓶／組、塑膠杯 4 個、澱粉 少許、蛋白 少許、植物油 少許；配製試劑的藥品及其用量如下所示。

### 二、配製試劑 (全班用量)

1. 用於澱粉酶 (amylase) 檢驗，(1)配製 0.5% 澱粉液：0.5 g 的澱粉溶於 50 mL 的水中，煮成透明狀。(2)碘試劑：直接使用市售優碘 (含 1% 有效碘)。這兩種溶液分裝在 6-10 個眼藥水瓶中。
2. 用於蛋白酶 (proteases) 檢驗，(1)配製 2.5% 蛋白液：溶於 1 mL 的雞蛋蛋白在 40 mL 的蒸餾水。(2)配製雙縮脲試劑 (Biuret reagent)：取 10 g 的 NaOH，溶於 100 mL 的蒸餾水中；取 1.4 g 的  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  溶於 100 mL 的蒸餾水中。使用時再混合需要的量，此試劑分裝在 6-10 個眼藥水瓶中。(3)配製 0.025 M NaOH：溶解 0.10 g 的氫氧化鈉在 100 mL 的蒸餾水中。這三種溶液分裝在 6-10 個眼藥水瓶中。
3. 用於脂肪酶 (lipase) 檢驗，(1)配製酚紅指示劑：取 0.04 g 的酚紅 (phenol red) 溶解在 5.7 mL 的 0.02 N NaOH，稀釋到 100 mL 的蒸餾水中。此溶液分裝在 6-10 個眼藥水瓶中。
4. 用於過氧化氫分解酶 (catalase) 檢驗，直接使用市售的 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  即可。此溶液分裝在 6-10 個眼藥水瓶中。

## ■ 檢驗表和待測食物

### 一、檢驗表

由作者設計的常見食物酵素 (澱粉酶、蛋白酶、脂肪酶、氧化氫分解酶) 微量檢驗表，如圖七所示。學生在檢驗前，先填寫待檢驗的食物名稱在表格的右邊空格上，然後放入透明塑膠資料夾內，即可進行食物檢驗。

常見的食品微量檢驗 檢驗者：\_\_\_\_年級\_\_\_\_班，第\_\_\_\_組，學號：\_\_\_\_，姓名：\_\_\_\_

食品類別：□富含成分類，□全穀根莖類，□蔬菜類，□水果類，□豆魚肉蛋類，□乳品類，□油脂類，□其他：\_\_\_\_

酵素種類 使用酵素 陽性反應 待測物名稱	澱粉酶		蛋白酶		脂肪酶		過氧化氫分解酶	
	對照組 + 0.5%澱粉 不加待測物 + 碘試劑 藍黑色	實驗組 + 0.5%澱粉 + 待測物 + 碘試劑 褐色	對照組 + 2.5%蛋白 不加待測物 + 雙縮脲試劑 紫色	實驗組 + 2.5%蛋白 + 待測物 + 雙縮脲試劑 藍色	對照組 不加植物油 + 待測物 + 酚紅* 紅色	實驗組 + 植物油 + 待測物 + 酚紅* 黃色	對照組 + 3%雙氧水 不加待測物 不冒泡	實驗組 + 3%過氧化氫 + 待測物 冒泡

圖七：各種酵素的檢驗表

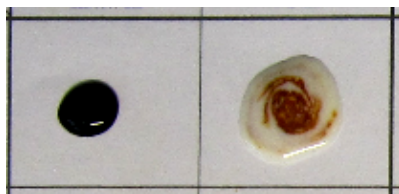
## 二、待測食物的準備和前處理

1. 準備天然食物或加工食品的待測物，可依教師教學需要或學生常吃的食物來準備，這些待測物可由師生共同準備。
2. 優先準備一些富含特定酵素的食物或食品，例如：香蕉、木瓜、番茄、蘋果及藥局販賣的綜合酵素等。
3. 在檢驗前，有些食物或食品適合榨成蔬果汁，有些適合切成細小塊，有些適合壓成碎小塊，需要量不多，以方便放在檢驗表的表格內即可。

### ■ 檢驗步驟

#### 一、澱粉酶 ( Amylase )

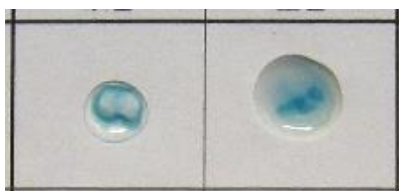
1. 分別在對照組和實驗組的表格內滴加一滴 0.5%澱粉液。
2. 以壓汁等方式使待測物成液體狀，或直接使用液體的待測物，在實驗組的表格內滴加一滴待測物，對照組則不加；然後用牙籤均勻攪拌混合液。
3. 等待 5 分鐘後，分別在對照組和實驗組的表格內滴加一滴優碘，均勻攪拌後，觀察兩組顏色變化的差異。若在實驗組的表格內加入碘液後沒有變色 ( 呈現褐色 )，則表示待測物中含有澱粉酶視為陽性反應，如圖八所示。



圖八：左邊為對照組；右邊為實驗組，呈現褐色表示待測物含有澱粉酶視為陽性反應

## 二、蛋白酶 (Proteases)

1. 分別在對照組和實驗組的表格內滴加一滴 2.5% 蛋白液。
2. 以刀切、擠壓、撕開或壓汁等方式，使各種天然食物或加工食品成為細碎狀或液狀，在實驗組的表格內加上少許待測物，對照組則不加；然後用牙籤均勻攪拌實驗組的混合液。
3. 等待 5 分鐘後，在對照組和實驗組的表格中，分別滴加一滴雙縮脲試劑。若原來食物中含有蛋白酶，則在實驗組的顏色依舊是藍色視為陽性反應，如圖九所示。



圖九：左邊為對照組；右邊為實驗組，依舊呈現藍色表示待測物含有蛋白酶視為陽性反應

## 三、脂肪酶 (Lipase)

1. 在實驗組的表格內，滴加一滴植物油，攪拌均勻。
2. 以壓汁等方式使待測物成液狀，或直接使用液體的待測物，分別在對照組和實驗組表格內滴加一滴待測物。
3. 等待 5 分鐘，再分別加上一滴酚紅指示劑，若在對照組呈現紅色且在實驗組呈現黃色，則表示待測物含有脂肪酶視為陽性反應，如圖十所示。
4. 此時，若發現對照組和實驗組皆呈現黃色，則表示待測物為酸性。則需要使用 0.025 M NaOH，調整待測物成為中性或弱鹼性。調整作法：在對照組上，滴加一滴 0.025 M NaOH，均勻攪拌，若還是呈黃色，再滴加一滴，直到呈現粉色，記下滴數；然後在實驗組上，滴入相同滴數的 0.025 M NaOH，攪拌均勻，觀察兩組顏色的差別。若在實驗組呈現黃色，則表示待測物含有脂肪酶視為陽性反應，如圖十所示。



圖十：左邊對照組呈現紅色；右邊實驗組呈現黃色表示待測物含有脂肪酶視為陽性反應

#### 四、過氧化氫分解酶 (Catalase)

1. 分別在對照組和實驗組表格上各滴加二滴 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。
2. 以刀切、擠壓、撕開或壓汁等方式，使各種天然食物或加工食品成為細碎狀或液體狀，在實驗組上放置待測物。
3. 觀察是否有冒泡的現象。若有冒泡現象，則表示待測物含有過氧化氫分解酶，如圖十一所示。



圖十一：有冒泡現象表示待測物含有過氧化氫分解酶視為陽性反應

#### ■ 廢棄物處理和安全注意事項

- 在配製雙縮脲試劑時，必須注意藥品加入順序，先加氫氧化鈉溶液，再慢慢地加氯化銅溶液。若相反程序加入，則無法充分製造鹼性環境，此時氯化銅會與  $\text{NaOH}$  發生複分解反應，生成藍色的氫氧化銅沉澱，導致觀察現象不清楚。配製此試劑時一定要邊加入邊攪拌，而且必須新鮮配製，長時間放置易生成氫氧化銅沉澱。
- 檢驗完後，可用衛生紙擦拭檢驗的殘留物，丟棄到一般垃圾筒。檢驗表的紙張和擦拭乾淨的塑膠資料夾可回收再利用。
- 檢驗酵素需要等待 3~5 分鐘，等反應完全才加入檢驗試劑，不宜過急加入，否則檢驗容易失敗。

#### ■ 結果與討論

日期：\_\_\_\_\_；時間：\_\_\_\_\_；組別：\_\_\_\_；學號：\_\_\_\_\_；姓名：\_\_\_\_\_

本實驗檢驗的酵素待測物（食物名稱）有：

· 檢驗結果如圖十二所示。

（插入檢驗結果的大張照片）

圖十二：待測食物的酵素檢驗結果

待測物呈現陽性反應者如表一所示。陽性反應非常明顯者，以「+++」表示；普通明顯者，以「++」表示；稍微明顯者，以「+」表示；陰性反應者，以「-」表示。

表一：待測物的酵素檢驗結果

試劑 食物名稱	澱粉酶		蛋白酶		脂肪酶		過氧化氫分解酶	
	對照組	實驗組 加待測物	對照組	實驗組 加待測物	對照組	實驗組 加待測物	對照組	實驗組 加待測物

（此處寫出實驗結果和討論）

(不敷使用，請自行複製)

實驗設計：蘇韋嘉、李佳蕙、楊水平，國立彰化師範大學化學系

資料來源：《臺灣化學教育》( <http://chemed.chemistry.org.tw/> )，第十四期。



常見的食物酵素微量檢驗 檢驗者：\_\_\_\_年級\_\_\_\_班，第\_\_\_\_組，學號：\_\_\_\_，姓名：\_\_\_\_\_

食品類別：富含酵素類，全穀根莖類，蔬菜類，水果類，豆魚肉蛋類，乳品類，油脂類，其他：\_\_\_\_\_

酵素種類	澱粉酶		蛋白酶		脂肪酶		過氧化氫分解酶		
	使用酵素 陽性反應	對照組 + 0.5%澱粉 不加待測物 + 碘試劑 藍黑色	實驗組 + 0.5%澱粉 + 待測物 + 碘試劑 褐色	對照組 + 2.5%蛋白 不加待測物 + 雙縮脲試劑 紫色	實驗組 + 2.5%蛋白 + 待測物 + 雙縮脲試劑 藍色	對照組 不加植物油 + 待測物 + 酚紅* 紅色	實驗組 + 植物油 + 待測物 + 酚紅* 黃色	對照組 + 3%雙氧水 不加待測物 不冒泡	實驗組 + 3%過氧化氫 + 待測物 冒泡
待測物名稱									