

微量化學實驗：誰是口水王

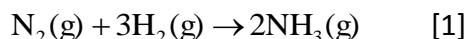
—酸鹼性和溫度對澱粉酶催化效率之影響

相信大家都有「望梅止渴」，或是看牙醫時，由於口不能閉，而口水一直分泌的經驗。的確，一個人在一天中會因狀況不同而有不同程度的口水分泌，大約每天分泌 1 到 1.5 公升至口腔中。唾液腺分泌出來的口水經由管道送到口腔中，它可使我們的口腔保持濕潤、幫忙清潔口腔、潤滑食物使易於吞嚥，同時還具有幫助消化的作用。這是因唾液中含有一種消化酵素，澱粉酶，可以催化澱粉的水解，成為小分子的寡醣或麥芽糖。酵素又稱為酶，在生物體內扮演非常重要的角色。舉凡細胞生長週期的調控、代謝反應、訊息傳導、基因的複製、養分的運送及維持細胞生長等重要功能，都需要酵素的參與。酵素催化反應的選擇性高及催化效率佳，它的本質是具有特殊結構的蛋白質，由於酸鹼性及溫度會影響蛋白質的結構，因此酵素催化反應的效率受環境影響很大。本實驗以極為容易取得的唾液澱粉酶，操作簡易及用量少的點滴實驗，探討酸鹼性及溫度對酵素催化效率的影響¹⁻³。

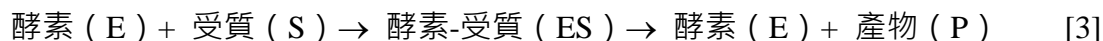
■ 原理與概念

一、觸媒

化學反應的速率快慢不一，例如：氯化銀之沉澱反應速率很快，但以氮氣及氫氣反應製造氨氣的哈柏法（見式[1]），由於反應之活化能高，於室溫下的反應速率很慢。因此反應過程中常加入適當觸媒以降低反應之活化能、加快反應速率。觸媒又稱催化劑，是一種加到反應系統中，可以參與反應以加快反應速率，而本身不被消耗或轉化的物質。一般依據相態的不同，分為均相觸媒、異相觸媒及生物觸媒（酶或酵素）三大類。以雙氧水的分解反應為例，可以使用均相觸媒 KI 水溶液、異相觸媒 MnO₂ 固體及生物觸媒過氧化氫酶催化分解反應（見式[2]）。

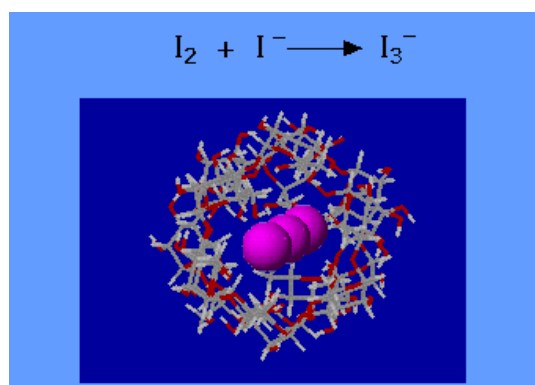
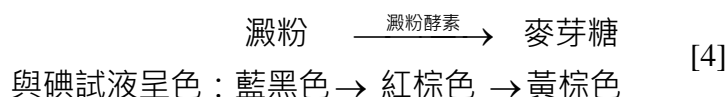


酵素是生物體內之催化劑，一般是由蛋白質所組成，具有特殊的立體結構，對反應受質之選擇性高，且在一般體溫的溫度下就有很好的催化效率，而酵素的催化機制可以鎖鑰模式說明（見式[3]）。因此當環境的酸鹼度或溫度改變，酵素的結構發生變化，而影響它的催化效率。



二、澱粉酶催化效率測定原理

本實驗使用取自唾液的澱粉酶來催化澱粉水解，成為小分子的寡糖或麥芽糖。由於澱粉與三碘錯離子 (I_3^- ，褐色) 反應會產生藍黑色的錯合物 (見圖一)，觀察碘試液顏色的變化，即可判斷溶液中澱粉被澱粉酶催化水解之程度。因此將含澱粉及澱粉酶之反應液滴加到碘試液並混合均勻，反應剛開始時因含有澱粉，因此混合後碘試液呈現藍黑色。隨著澱粉酶催化水解反應之進行，混合液中澱粉含量減少而碘試液逐漸轉為紅棕色。最後當反應液中澱粉完全被水解時，混合液呈現碘試液原有之黃棕色 (見式[4])。因此，記錄定量澱粉被完全水解所需的時間 (即反應液與碘試液混合，無藍黑色呈現)，代表酵素催化反應之速率，水解所需的時間越短者表示酵素的催化效率越高。



圖一：澱粉與三碘錯離子形成錯合物

(圖片來源：Starch and Iodine, <http://goo.gl/0YHlQ7>)

■ 藥品、器材與材料

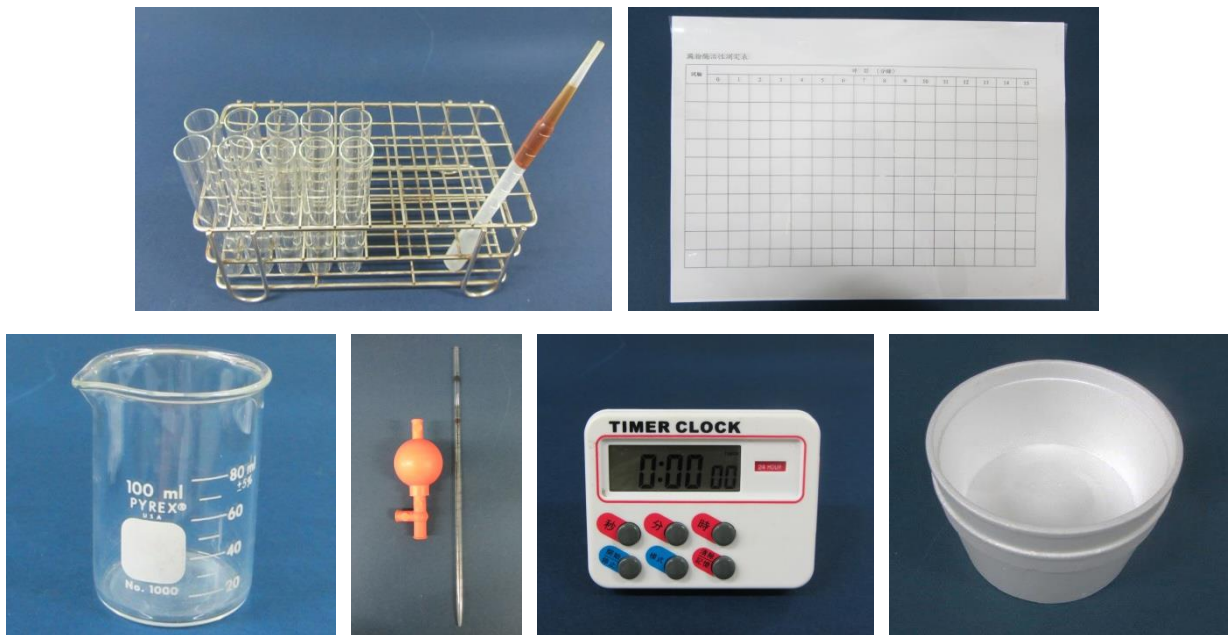
一、藥品

每組用量：0.5% 氯化鈉 25 mL、碘試液 (1% I_2 / 2% KI) 3 ~ 5 mL、2% 澱粉溶液 6 mL、pH 7 緩衝溶液 4 mL、pH 5 和 pH 9 緩衝溶液 1 mL。

二、器材與材料

每組用量：試管 (10 mL) 10 支、試管架 1 個、乳帽和玻璃滴管 (或塑膠滴管) 2 支、燒杯 (100 mL) 2 個、量筒 (10 mL) 1 支、漏斗 1 支、玻璃棒 1 支、刻度吸量管 (2 mL) 1 支、安全吸球 1 個、保麗龍湯杯 (200 mL) 2 個、溫度計 1 個、計時器 1 個、碎冰 100 g、

投影片及襯墊白紙 1 套，如相片一所示。



相片一：試管和滴管、投影片和襯墊白紙、燒杯、安全吸球和刻度吸量管、計時器以及保麗龍湯杯

三、藥品配製

- 0.5% 氯化鈉：秤 0.5 g 氯化鈉 (NaCl) 加水至 100 g。
- 2% 澱粉溶液：秤 2 g 可溶性澱粉以少量水攪拌成乳狀液，沖加熱水至 100 g，煮沸後靜置放冷。
- 碘試液 (1% I₂/2% KI)：秤 1 g 碘 (I₂) 及 2 g 碘化鉀 (KI) 加水稀釋至 100 g。
- pH 5 緩衝液：秤 14.0 g 鄰苯二甲酸氫鉀 (KHP) 及 2.7 g 碳酸氫鈉 (NaHCO₃)，加水稀釋至 1 公升。
- pH 7 緩衝液：秤 1.20 g 磷酸二氫鈉 (NaH₂PO₄) 及 0.885 g 磷酸氫鈉 (Na₂HPO₄)，加水稀釋至 1 公升。
- pH 9 緩衝液：6.2 g 硼酸 (H₃BO₃) 及 38.1 g 硼砂 (Na₂B₄O₇·10H₂O)，加水稀釋至 1 公升。

■ 實驗步驟

一、唾液澱粉酶活性測定

1. 洗淨烘乾 10 支試管，放冷後備用；準備一張「澱粉酶活性測定」投影片及襯墊白紙。

2. 配製唾液澱粉酶溶液：經由漏斗收集 1 mL 唾液於 10 mL 量筒中，加入 0.5% 氯化鈉溶液至量筒 10 mL 標線處以稀釋唾液，並轉置於乾淨的 100 mL 燒杯中，再加入 15 mL 的 0.5% 氯化鈉溶液，以玻璃棒攪拌並混合均勻，此為唾液澱粉酶溶液，如相片二所示。



相片二：配製唾液澱粉酶溶液

3. 準備碘試液：以滴管吸取碘試液，在「澱粉酶活性測定」投影片及襯墊白紙上，於橫向方格內的每格滴入 1 滴碘試液，預先準備 5~10 滴碘試液，如相片三所示。



相片三：於投影片上的橫向方格內滴入碘試液

4. 取 1 mL 之 pH 7 緩衝溶液置於乾淨試管中，再加入 1 mL 的 2% 澱粉溶液，此為反應試液，如相片四所示。



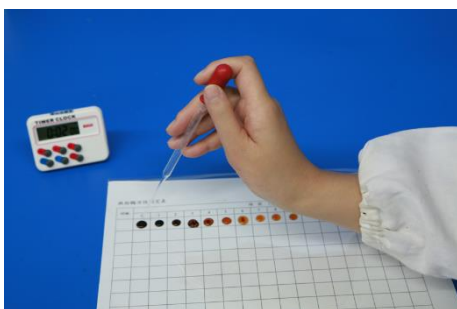
相片四：反應試液準備於試管中

5. 以 2 mL 刻度吸量管（或有刻度的塑膠滴管）量取 2 mL 唾液澱粉酶溶液，加入於上述反應試液中，立刻以彈震試管方式或以乾淨之玻璃滴管吸排溶液數次，將溶液混合均勻並開始計時，如相片五所示。



相片五：以 2 mL 刻度吸量管量取 2 mL 唾液澱粉酶溶液

6. 溶液混合後，立即以玻璃滴管取 1 滴反應液與投影片上 1 滴碘試液混合顯色。每隔 30 秒或 1 分鐘，取 1 滴反應液與投影片上碘試液混合，隨時間觀察顏色的變化，直到溶液之藍黑色消失呈現碘試液的黃棕色，如相片六所示。



相片六：觀察顏色隨時間的變化

二、酸鹼性對唾液澱粉酶活性之影響

1. 另取 2 支試管，分別量取 1 mL 的 pH 5 和 pH 9 緩衝溶液，並各加入 1 mL 之 2% 澱粉溶液。重複步驟一之 5~6 操作，測定唾液澱粉酶在不同 pH 溶液中之催化效率，如相片七所示。



相片七：觀察顏色隨時間的變化

三、溫度對澱粉酶活性之影響

1. 取 2 個交疊之保麗龍杯，加入碎冰及少量的水。取 2 支試管，一支裝盛 2 mL 唾液澱粉酶溶液，另一支裝盛反應試液（含 1 mL 之 pH 7 緩衝溶液和 1 mL 之 2% 澱粉溶液），同時置於約 0°C 冰水浴中 5 分鐘，以溫度計量測反應試液之平衡溫度，如相片八所示。



相片八：冰水浴反應裝置

2. 將唾液澱粉酶溶液倒入反應試液中，迅速混合均勻後將試管置回冰水浴，並立刻開始計時。依照步驟一之 5~6，測定澱粉酶之催化效率；測定過程中同時觀察記錄溶液溫度的變化。
3. 經測定 10 分鐘後，將反應液試管自冰水浴中取出，儘速回復室溫後，再繼續測定觀察 5 分鐘。
4. 重複步驟 1~3，但改為置於 80°C 以上的熱水及 50°C 左右的溫水中進行反應。

■ 注意事項

- 碘試液必須存放於茶色瓶或於瓶身包覆鋁箔紙以避免照光分解。澱粉溶液需新鮮配製或添加防腐劑，以避免久放後長霉變質。
- 澱粉反應試液應懸空滴下以與投影片上碘試液混合，避免滴管碰觸碘試液而致污染。每次點滴測試，均應重新吸取試管內之反應液。
- 若澱粉酶催化反應速率較慢（> 6 分鐘），可延長測定觀察時間為每分鐘一次，或可再增加 0.5~1 mL 唾液於溶液中以增加酵素濃度。
- 若測試之變色時間短於 2 分鐘，可再增加 5~10 mL 氯化鈉溶液，以稀釋酵素濃度。

■ 結果與討論

日期：_____；時間：_____；組別：_____；學號：_____；姓名：_____

一、唾液澱粉酶活性測定

表一：誰是口水王——唾液澱粉酶活性測定紀錄表

試驗	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

(在此寫出實驗討論)

二、酸鹼性對唾液澱粉酶活性之影響

表二：誰是口水王——酸鹼性對唾液澱粉酶活性之影響測定紀錄表

試驗	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

(在此寫出實驗討論)

表三：誰是口水王—酸鹼性對唾液澱粉酶活性之影響測定結果

反應試液		催化劑	室溫溫度 ($^{\circ}\text{C}$)	變色時間 (s)
緩衝溶液 1 mL	反應物 1 mL			
pH 5	2%澱粉液	唾液澱粉酶液 2 mL		
pH 7	2%澱粉液			
pH 9	2%澱粉液			

(在此寫出實驗討論)

三、溫度對澱粉酶活性之影響

表四：誰是口水王—溫度對澱粉酶活性之影響測定紀錄表

試驗	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

(在此寫出實驗討論)

表五：誰是口水王—溫度對澱粉酶活性之影響測定結果

反應試液		催化劑	溫度 (°C)	變色時間 (s)
pH 7 緩衝液 1 mL	2% 澱粉液 1 mL	唾液澱粉酶液 2 mL	室溫：	
			熱水：	
			溫水：	
			冰水浴：	

(在此寫出實驗討論)

實驗設計：張馨云、佘瑞琳，國立臺灣大學化學系

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

微量化學實驗：誰是口水王—酸鹼性和溫度對澱粉酶催化效率之影響測試表

日期：_____；時間：_____；組別：_____；學號：_____；姓名：_____

試驗	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15