

誰是口水王

國立臺灣大學普化教學組 2009/03/06

一、目的：利用簡易的碘試法 (iodine test)，測定唾液澱粉酶 (amylase) 催化澱粉分解反應之效率，並探討影響酵素活性之因素。

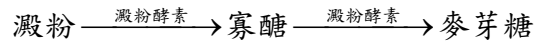
二、實驗技能：學習操作定量液體分注器、刻度吸量管及點滴試驗 (spot-test)。

三、原理：

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量，大約每天分泌 1 到 1.5 公升至口腔中。唾液腺 (salivary glands) 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 (hydrolysis)，成為小分子的寡糖 (oligosaccharide) 或麥芽糖 (maltose，雙糖)。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。酵素催化反應的特定性 (specificity) 及催化效率 (efficiency) 高，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的影響很大。例如，人體胃蛋白酶喜歡酸性的環境，而在美國黃石公園的溫泉中可發現有些細菌在溫度高達 90°C 的環境中仍可生存。本實驗以極為容易取得的唾液澱粉酶，研究影響酵素催化反應效率的因素。

由於澱粉和三碘錯離子 (I_3^- ，褐色) 會產生藍黑色錯合物，因此利用碘試液與反應液混合，觀察顏色變化，即可判斷溶液中澱粉被唾液澱粉酶水解的程度，記錄定量澱粉被完全分解所需的時間 (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，分解所需的時間越短者表示酵素的催化效率越高。



與碘試液呈色：藍黑色 紅棕色 黃棕色

四、儀器與材料：

試管（10支）、試管架、燒杯（100 mL）、玻璃棒、刻度吸量管（2 mL）、安全吸球、塑膠滴管（1支）、乳帽及玻璃滴管（2支）、保利龍杯（2）、溫度計、計時器、投影片及襯墊白紙。

五、藥品：

0.5% 氯化鈉（sodium chloride, NaCl）

碘試液（iodine solution, 1% I₂ / 2% KI）

2% 澱粉溶液（starch）

pH 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 緩衝溶液

六、實驗步驟：

（一）唾液澱粉酶活性預測定

1. 洗淨烘乾 10 支試管，放冷後備用；另領取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：在口中醞釀足量唾液並吐一大口唾液於乾淨的 100 mL 燒杯中，加入 25 mL 的 0.5% 氯化鈉溶液，以玻璃棒攪拌並混合均勻。使用溫度計測量溶液的溫度，此為室溫下反應時之溫度。
3. 碘試液：以一支乾淨塑膠滴管吸取碘試液倒置於試管架上備用，並在襯墊白紙之澱粉酶活性測定投影片之橫向方格內，每格滴入 1 滴碘試液，預準備 5~10 滴碘試液。
4. 取 1 mL 之 pH 7.0 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。

5. 以 2 mL 刻度吸量管量取 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。

註：刻度吸量管的使用法，參考實驗技能與示範影片。

6. 溶液混合後，立即以玻璃滴管取 1 滴反應試液和投影片上 1 滴碘試液混合顯色。每隔 30 秒，取 1 滴反應液和碘試液於投影片上混合，觀察記錄顏色隨時間的變化，直到溶液之藍黑色消失呈現碘液的黃棕色。

注意：反應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。每次測試，均應重新吸取試管內反應液。

註：若反應速度較慢，則可延長測定觀察時間為每 1 分鐘一次。

7. 在實驗紀錄表上圈畫溶液由藍黑色轉變為棕紅色及轉變為黃棕色所需之各別時間。

(二) 酸鹼性對唾液澱粉酶活性之影響

8. 另取 4 支試管，分別量取 1 mL 的 pH 5.0、6.0、8.0 及 9.0 緩衝溶液，並各加入 1 mL 之 2% 澱粉溶液。

9. 重複步驟 5-7 之操作，測定唾液澱粉酶在不同 pH 溶液中之催化效率。

注意：每更換一次反應條件，均需將玻璃滴管沖洗乾淨並潤洗。

(三) 溫度對澱粉酶活性之影響

10. 取 2 個保利龍杯套在一起為一組，加入約 2/3 杯之 80°C 熱水。

11. 以 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 7.0 緩衝溶液與 1 mL 之 2% 澱粉溶液），同時置於 80°C 熱水浴中約 5 分鐘，以溫度計量測反應試液之溫度，至溶液溫度達到平衡。

12. 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熱水浴，並立刻開始計時。依照步驟 6 及 7，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。

13. 經測定 10 分鐘後，將反應液試管自熱水浴中取出，儘速回復室溫後，再繼續測定觀察 5 分鐘。
14. 重複步驟 10~12，但改為置於 0°C 的冰浴中進行反應。同樣，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。
15. 重複步驟 10~12，但改為置於約 50°C 的溫水浴中進行反應。
16. 實驗結束後，投影片以清水沖洗乾淨及紙巾擦乾後，與襯墊白紙一起交還於講桌回收盒中。吸取碘試液之塑膠滴管回收於講桌上之回收杯內，以提供給下一班級繼續使用。

七、參考資料：

1. <http://faculty.mansfield.edu/bganong/biochemistry/spitlab.htm>
2. http://www.science.smith.edu/departments/Biochem/Biochem_353/amylase.html

姓名 _____ 系別 _____ 組別 _____

學號 _____ 日期 _____

誰是口水王

一、實驗數據與紀錄

(一) 酸鹼性對澱粉酶活性之影響

1. 溫度：_____ pH：_____

時間																			
顏色																			

2. 溫度：_____ pH：_____

時間																			
顏色																			

3. 溫度：_____ pH：_____

時間																			
顏色																			

4. 溫度：_____ pH：_____

時間																			
顏色																			

5. 溫度：_____ pH：_____

時間																			
顏色																			

結論：

(二) 溫度對澱粉酶活性之影響

1. 溫度：_____ pH：_____

時間																			
顏色																			

2. 溫度：_____ pH：_____

時間																			
顏色																			

3. 溫度：_____ pH：_____

時間															
顏色															

結論：

二、問題與討論：

1. 溶液溫度為 80°C 及 0°C 時，唾液澱粉酶是否具有催化活性？當回復到室溫後，澱粉酶之表現又如何？當溶液溫度為 50°C 時唾液澱粉酶催化分解反應之效率與前述有何不同？試解釋之。

2. 依據你及同桌其他四組同學的實驗數據比較，溫度及酸鹼性對唾液澱粉酶催化效率之影響均相同嗎？唾液澱粉酶的最適作用 pH 值為何？