

E31 誰是口水王!

領取專用器材:

(2012/02/15 修訂)

- 計時器(助理助教點發)
- 2 mL刻度吸量管1支
- 安全吸球1個
- 玻璃滴管 2支
- 塑膠滴管1支
- 保利龍杯2個
- 溫度計
- 投影片及襯墊白紙

準備個人器材:

- 試管(10支,洗淨烘乾冷卻備用)
- 試管架
- 燒杯 100 mL、玻璃棒
- 量筒(10 mL)及漏斗

實驗課前你吃早、午餐了沒?

這會影響你的唾液澱粉酶活性!



實驗目的及學習技能

實驗目的

- 學習碘試法 (iodine test)
- 測定澱粉酶催化澱粉分解反應之活性
- 探討影響酵素活性之因素

實驗技能

- 量筒、吸量管、定量液體分注器
- ■點滴試驗



原理: 唾液澱粉酶



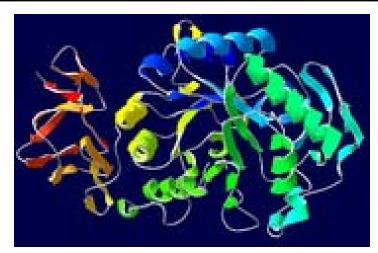


唾液:

- 保持口腔濕潤、益口腔清潔
- 潤滑食物使易於吞嚥
- 幫助消化

唾液澱粉酶 (amylase) :

催化澱粉水解反應(hydrolysis)



澱粉酶之電腦模擬結構圖



原理:酵素

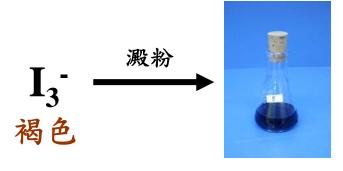
酵素 (Enzyme)

- 又稱為酶,字源於希臘文,描述酵母菌中含有某種神奇催化活力的物質
- 是生物體內許多生化反應中不可或缺的物質
- 酵素之特性:
 - a. 酵素具有高催化效率 (efficiency)
 - b. 酵素催化反應具有特異性(specificity),一種酶 (催化劑)只會與特定的受質(substrate)作用
 - c. 通常酵素為具有特殊結構的蛋白質
 - d. 催化效率受環境影響,如酸鹼性、溫度....等。



原理:以碘試法測澱粉酶催化活性

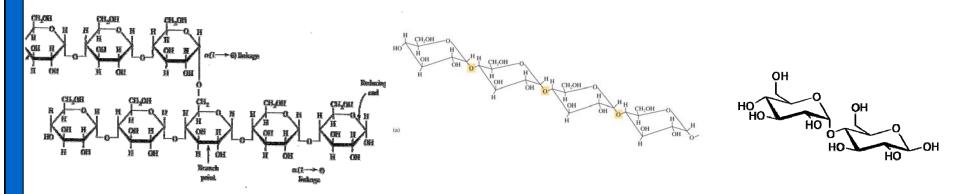
$$I^- + I_2 \rightarrow I_3^-$$
 (碘試液)



藍黑色錯合物

I₃- <u>澱粉</u> 藍黑色 澱粉酶水解

<u>寡糖</u> 紅棕色 澱粉酶 **麥芽糖** 水解 黄棕色



分解所需的時間越短表示酵素催化效率越高



步驟 I. 唾液澱粉酶活性預測定

- ■洗烘10支試管
- ■配製唾液澱粉酶液
- 1 mL口水(自產)
- 25 mL ≥ 0.5% NaCl
- 玻棒攪拌混合均勻
- 測量溶液溫度





■製作碘試液投影片



以<mark>塑膠滴管</mark>吸取碘 試液滴在投影片上



滴入5~10滴預備

- 配製反應試液
- 於試管中加入
- pH 7 緩衝液1 mL
- 2%澱粉液 1 mL







步驟I. 唾液澱粉酶活性預測定



以2mL吸量管吸取 2mL唾液澱粉酶溶 液加入試管



迅速混合開始計時

以玻璃滴管取反應試液和 投影片上1滴碘試液混合

每隔30秒

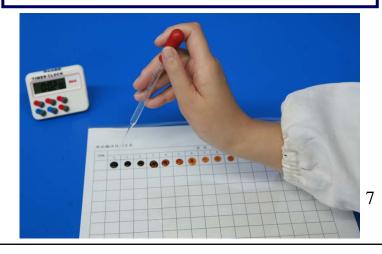
取一滴與碘試液反應 (反應慢者可間隔1分鐘)

澱粉/pH7反應試液

注意:

- 反應試液應懸空滴下
- ■避免滴管碰觸碘試液
- 每次測試,需重新吸取試管 內反應液

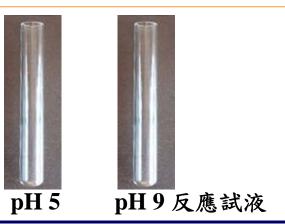
觀察記錄直至藍黑色消失





步驟II. 酸鹼性對澱粉酶活性之影響

pH = 5、9 緩衝溶液 1 mL 及2%澱粉溶液1 mL



注意:

- ■更換不同反應條件, 玻璃滴管應沖洗乾淨 並潤洗
- ■比較 pH = 5、7、9 緩 衝溶液中酵素的活性

碘試液測定:

加入2 mL唾液澱粉酶液混合均匀



定時取量滴入投影片上碘試液

觀察記錄直至藍黑色消失



步驟III. 溫度對澱粉酶活性之影響

- 製作 80°C的熱水浴:取70 mL 水於100 mL燒杯中, 置於加熱板加熱(加熱鈕調控於約3)
- 溫度對活性影響,測試:80、50、0°C







達溫度 溶液迅 開始 平衡 速混合 計時 碘試液 測定 放回熱水浴

2 mL唾液 澱粉/pH 7 澱粉酶溶液 反應試液



10分鐘

試管自水 浴取出 恢復室溫

碘試液測定 再觀察5分鐘



重複以上步驟改為在 0°C、50°C水浴中進行

(使用保利龍杯冰浴) 9



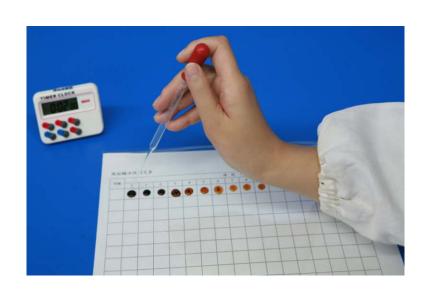
步驟IV. 酒精對澱粉酶活性之影響

■ 配製反應試液: 95% 酒精1mL 2% 澱粉液1mL



■ 碘試液測定:

- -加入2 mL 垂液澱粉酶液
- -混合均匀開始計時
- -定時取量滴入投影片碘試液
- -觀察記錄直至藍黑色消失



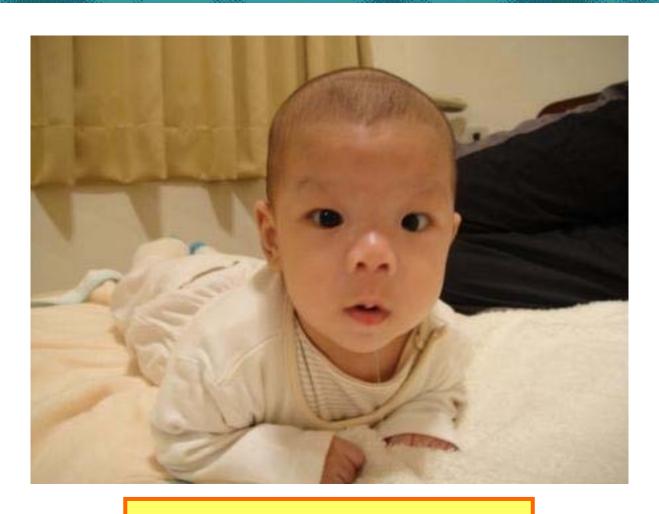


實驗步驟總結

2 mL		1 mL	1 mL	溫度	記錄
垂液 澱粉 溶液	+	pH 5	2% 澱粉液	RT	開始計時碘試液測試比較變色時間
		pH 7			
		pH 9			
		95% 酒精			
			_	80 °C	
		pH 7	2% 澱粉液	50 °C	
				0 °C	



與他組同學比較唾液澱粉酶之活性



誰是口水王???



- 投影片以清水沖洗、擦乾,與白紙一同交還講桌回收盒
- 值日生以茶壺在排氣櫃內加熱板上預煮熱水公用
- 熱水浴的溫度需要高於或等於80℃(小心燙傷)
- 澱粉酶溶液與反應試液需迅速混合均匀立即開始計時
- 吸取碘試液之塑膠滴管回收於講桌回收杯內,供下一班級使用
- 計時器交給助理助教點收
- 實驗廢液可直接倒入水槽
- 實驗課前吃早、午餐