

2024 年【科學探究競賽-這樣教我就懂】

普高組 成果報告表單

題目名稱： 酶開眼酵-修正硫酸銅對過氧化氫酶活性探討	
一、摘要	
<p>這篇文章旨在改良生物課程中有關抑制劑對過氧化氫酶反應速率的實驗。文中首先探討了銅離子的水解現象，指出其會導致溶液呈酸性，從而影響過氧化氫酶的活性。接著列出了研究目的，也就是改良課本實驗步驟。在文獻探討部分，討論了銅離子的水解、氫氧化銅沉澱、過氧化氫酶活性測定及影響其活性的因素。再來介紹了實驗：研究硫酸銅對過氧化氫酶反應速率的影響，發現酸性環境是主要的抑制因素。最終，透過改變銅離子的濃度和 pH 值，證實了其對酵素活性的影響。整體而言，這篇文章提供了一個綜合生物和化學知識的實驗設計，以改進學生對酵素反應的理解。</p>	
二、探究題目與動機	
<p>在選修生物第一冊中，有一個實驗是關於抑制劑對於過氧化氫酶反應速率的影響。在實驗中，我們發現加入硫酸銅後，溶液變得很濁，抑制過氧化氫酶的活性十分顯著，活性直接歸零。後來我們在選修化學第三冊中，學到了有關平衡的知識，才了解為何有這樣的結果。抑制劑中的銅離子為弱酸性陽離子，會水解，導致整體溶液為酸性，使過氧化氫酶失去活性。因此，我們決定利用生物及化學課堂所學觀念整合，改良本實驗，期望順利排除沉澱與酸鹼變因，做出真正僅因銅離子單一變因對過氧化氫酶的活性影響。</p>	
三、探究目的與假設	
<p>(一) 找出活性最大的過氧化氫酶 (二) 確認酶的活性和時間的關係 (三) 改良課本關於過氧化氫酶抑制劑的實驗</p> <ol style="list-style-type: none">1. 驗證沉澱物會影響反應速率2. 驗證金屬離子水解會影響 pH 值進而影響反應速率3. 找出可以避免誤差 (上述兩點) 且方便操作的實驗步驟	
四、探究方法與驗證步驟	
表 1. 實驗中控制變因、操縱變因、應變變因。	
控制變因	<ol style="list-style-type: none">1. 溫度 (室溫 25°C)2. 雙氧水濃度(3%)3. 每一次實驗皆為每隔兩分鐘紀錄氣泡高度，共紀錄 6 分鐘4. 玉米筍酵素原液的重組成為玉米筍：水等於 1：25. 所用之玉米筍酵素原液皆為用相同果汁機以中速攪打 30 秒6. 皆以雙層紗布過濾而得到酵素原液

操縱變因	1.經過的校正步驟
應變變因	1.產生之氧氣泡高度 (公分)

實驗步驟：

- 1.將玉米筍秤 200g 重，與 400g 水混合並以果汁機攪打 30 秒
- 2.將攪打後的原汁以雙層紗布過濾
- 3.將 10% 硫酸銅溶液 6ml 與 pH7 緩衝液 24ml 混合，形成混濁液甲（體積比=5：20）；將 10% 硫酸銅溶液 3.6ml、蒸餾水 2.4ml 與 pH7 緩衝液 24ml 混合，形成混濁液乙（體積比 = 3：2：20）；將 10% 硫酸銅溶液 1.2ml、蒸餾水 4.8ml 與 pH7 緩衝液 24ml 混合，形成混濁液丙（體積比 = 1：4：20）
- 4.將混濁液甲、乙、丙分別分裝成 3 份各 10ml，其中一份即為混濁液。同時將其中 2 份放入試管靜置至完全沉澱
- 5.將上述靜置液中其中一份的澄清部份取出，形成澄清液甲、乙、丙
- 6.取另一份靜置液並測量其 pH 值，並慢慢加入 pH9 緩衝液使其 pH 值調到 7，形成 pH 校正液甲、乙、丙
- 7.不同試管中分別加入 2.5ml 的混濁液甲、混濁液乙、混濁液丙、澄清液甲、澄清液乙、澄清液丙、pH 校正液甲、pH 校正液乙、pH 校正液丙

表 2. 實驗中甲、乙、丙液若取 2.5ml，溶液中各成分含量分析。（假設體積具加成性）

	甲	乙	丙
10% 硫酸銅(ml)	0.5	0.3	0.1
蒸餾水(ml)	0	0.2	0.4
pH7 緩衝液(ml)	2	2	2
總量(ml)	2.5	2.5	2.5

- 8.在上述所有試管中加入 1ml 玉米筍酵素液及 1ml 3% 雙氧水，並每隔 30 秒測量氣泡高度，持續 6 分鐘
- 9.重複上述步驟 7、步驟 8 兩次並求其平均與標準差

註：10% 硫酸銅的配置方法為取 2.5gCuSO₄.5H₂O 溶入 16g 蒸餾水中

表 3. 實驗中十組實驗之配置方法。

	A1	A2	A3	A4	A5
混濁液甲(ml)	2.5				

混濁液乙(ml)		2.5			
混濁液丙(ml)			2.5		
澄清液甲(ml)				2.5	
澄清液乙(ml)					2.5
酵素液(ml)	1	1	1	1	1
3% 雙氧水(ml)	1	1	1	1	1
溫度 (攝氏)	25	25	25	25	25

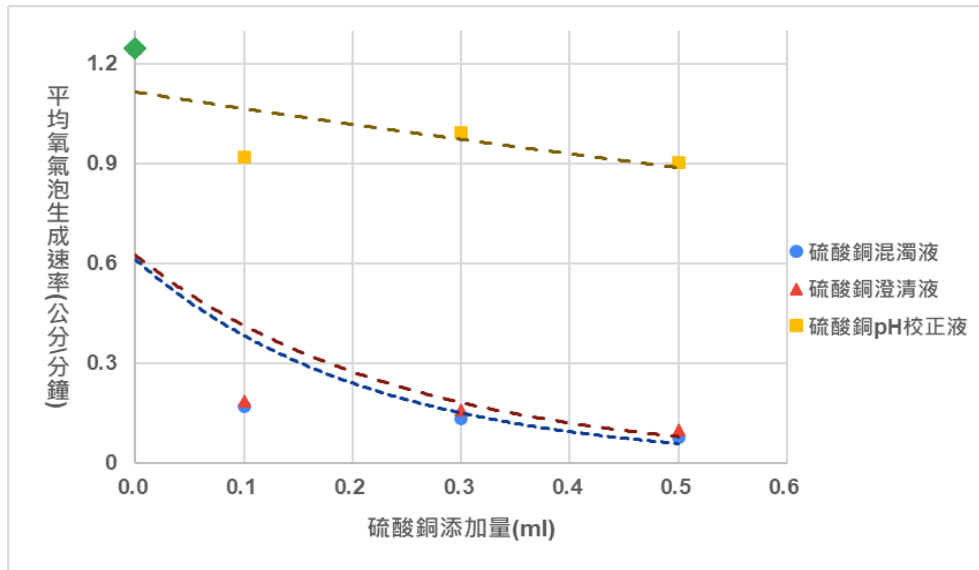
	A6	A7	A8	A9	A10 (對照組)
澄清液丙(ml)	2.5				
pH 校正液甲(ml)		2.5			
pH 校正液乙(ml)			2.5		
pH 校正液丙(ml)				2.5	
蒸餾水(ml)					2.5
酵素液(ml)	1	1	1	1	1
3% 雙氧水(ml)	1	1	1	1	1
溫度 (攝氏)	25	25	25	25	25

五、結論與生活應用

實驗結果：

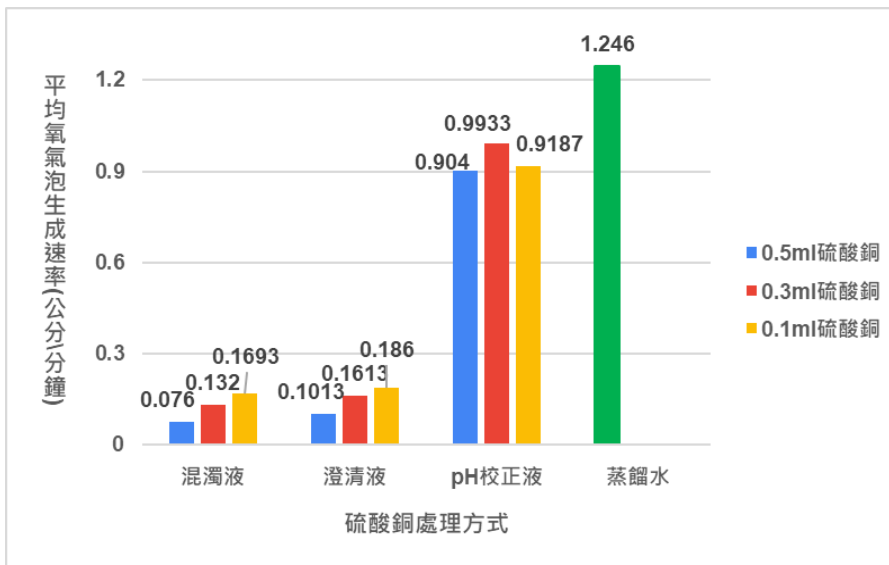
將反應趨緩前的反應速率製成散佈圖，並繪製出趨勢線。其中，混濁液與澄清液的趨勢線相近，代表兩者的抑制效果接近，而主要的抑制原因就是酸性環境使酵素大幅失去活性。當我們把 pH 值校正成 7 時，理論上三組應該要有相同的反應速率，因為其中銅離子的濃度相等。藉由 pH 校正液的趨勢線可得知，不論硫酸銅添加量為何，其抑制效果會相近，使反應速率分別為原本的(72.6%/79.7%/73.7%)。

圖 1. 硫酸銅添加量不同的混濁液、澄清液、pH 校正液的平均氧氣泡生成速率。



這次實驗不論硫酸銅的添加量為何，皆有相同的趨勢。首先，加入混濁液時反應速率最低，只有對照組的 10.1%。改加入澄清液之後，反應速率會些微提升至對照組的 11.9%，最後改為加入 pH 校正液之後，反應速率回到了對照組的 75.3%。

圖 2. 各硫酸銅添加比例下，不同處理方式平均氧氣泡生成速率之比較。



結果分析：

從實驗的結果發現，硫酸銅的含量越高，靜置後產生的氫氧化銅的沉澱物越多，導致溶液 pH 值越低 (pH=3~4 間)。我們發現各硫酸銅澄清液都因不小的水解效應，所以實測的 pH 值都在 4 以下，抑制效果很明顯，使反應速率只剩正常情況下的 10.1%。最後利用緩衝液把 pH 值校正成 7 (與對照組 pH 相同)，結果最終的抑制效果比混濁液與澄清液少，但仍然可以得出其反應速率比對照組低。上述得到的實驗數據，皆都符合化學理論，也符合生物理論。(溶液中產生氫氧化銅沉澱，代表達溶解平衡。其 K_{sp} 固定為 6×10^{-20} ，又 pH 校正液中 pH=7，代表氫氧根濃度 $10^{-7}M$ ，所以理論上 pH 校正液甲、乙、丙中銅離子的濃

度應同為 $6 \times 10^{-6} \text{M}$ ，其反應速率和抑制效果應該也要相同。)

結論與修正：

混濁液和澄清液的抑制效果都較 pH 校正液明顯，代表沉澱與酸性環境皆會降低酵素的活性（尤其是酸性環境）。經過校正後的 pH 校正液反應速率小於對照組的反應速率，代表銅離子在中性環境下的確是過氧化氫酶的抑制劑。本實驗的操作變因為加入的銅離子莫耳數，實際上除了銅離子濃度不同外，溶液中因水解效應帶來的氫離子濃度與氫氧化銅沉澱量都不同，所以課綱內的實驗步驟安排，雖然實驗結果抑制效果顯著，但其實存在三變因，不足以為單一操作變因的結果，有待修正與釐清。我們從原本三變因（混濁液）修正成雙變因（澄清液，去除沉澱干擾），再修正成單一變因（pH 校正液，再調整酸鹼值），雖然最後的成果抑制效應變得沒有如此顯著，但這才是真正只有單一變因的影響。

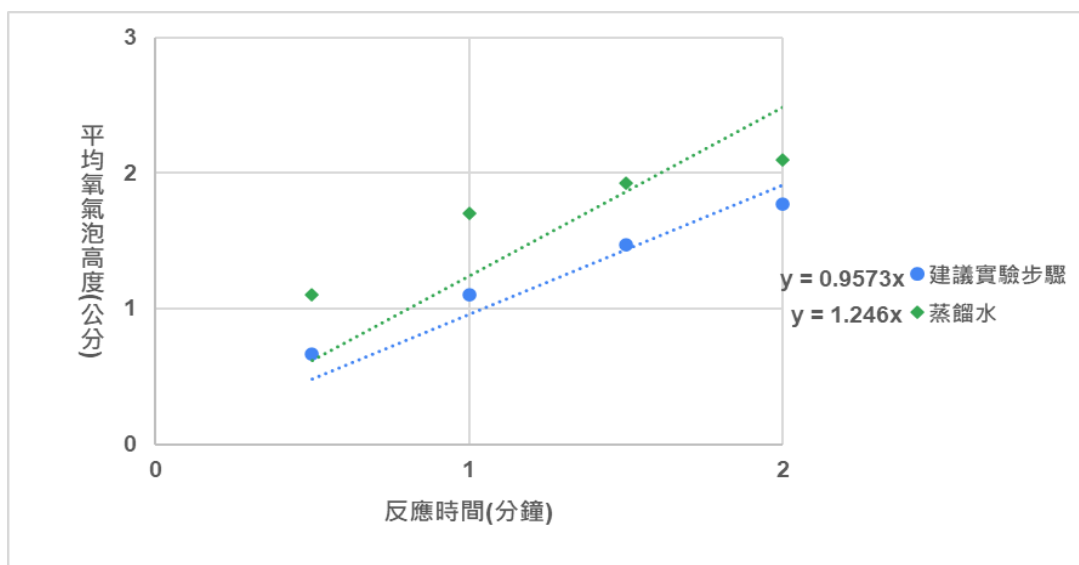
建議實驗：

在實驗中，我們發現抑制反應的原因不僅僅是金屬離子，還包括沉澱物和 pH 值。為了解決這個問題，我們嘗試控制沉澱物和 pH 值，以確保只有一個真正的操縱變因。在實驗中，我們發現加入金屬離子的酵素水溶液會變得酸性（pH=3~4 間），這會導致酵素被破壞，所得數據也會因此而失真。後來，我們找到了可以盡量避免這種情況發生的方法。詳細實驗步驟如下：

1. 取 10% 硫酸銅 1 滴後，加入 40ml pH=7 的緩衝液（於 50ml 小燒杯內），充分混合後，使用 pH 計測其酸鹼，比對對照組的酸鹼（實測結果 pH=6.97）
2. 將其取出 2.5ml，再加入酵素液 1ml 及 1ml 3% 雙氧水後，開始計時
3. 每隔 30 秒測量氣泡高度，持續 6 分鐘
4. 重複上述步驟 2 與步驟 3 兩次並求其平均與標準差

建議實驗之結果：

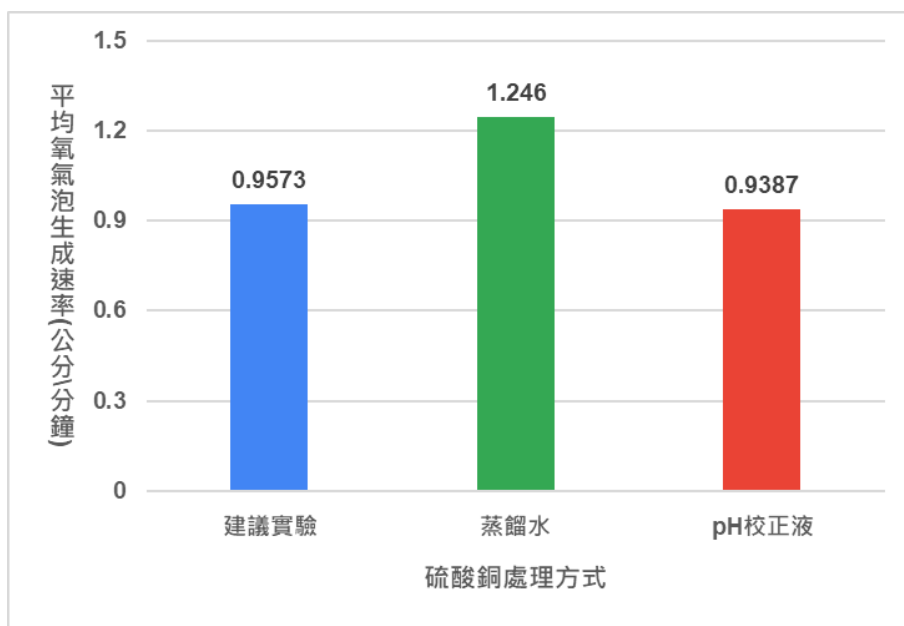
圖 3. 使用建議實驗步驟進行實驗，於反應趨緩前的平均氧氣泡高度。



將反應速率進行比較，對照組（蒸餾水）大於建議實驗，同時，建議實驗步驟與先前實驗

二的 pH 校正液反應速率極為相近。這結果代表銅離子對過氧化氫酶的確存在抑制效果。

圖 4. 建議實驗步驟與對照組的平均反應速率。



總結：

建議步驟當中溶液中銅離子的初濃度無須太高，太高只會造成沉澱物多、pH 值明顯下降的問題，但銅離子濃度仍無法提高（在常溫下做實驗，改變不了的限制）。所以我們的建議步驟想法：以銅離子加的越少，pH 值改變量少可忽略不計，但有看到沉澱物產生，即達溶解平衡，此時銅離子的濃度為該條件下的上限值。我們的建議步驟改良了生物課本的實驗，讓原本以為銅離子太有抑制效果的一般學生能了解到真正並沒有如此顯著的抑制效果，避免誤會的產生。

參考資料

陳俊宏（主編）（2022）。普通型高級中學選修生物 I（全一冊）細胞與遺傳。龍騰文化事業股份有限公司。

蔡易州（主編）（2022）。普通型高級中等學校自然科學領域選修化學 III（全一冊）化學反應與平衡一。翰林出版事業股份有限公司。

A+醫學百科（2001年01月15日）。過氧化氫酶。