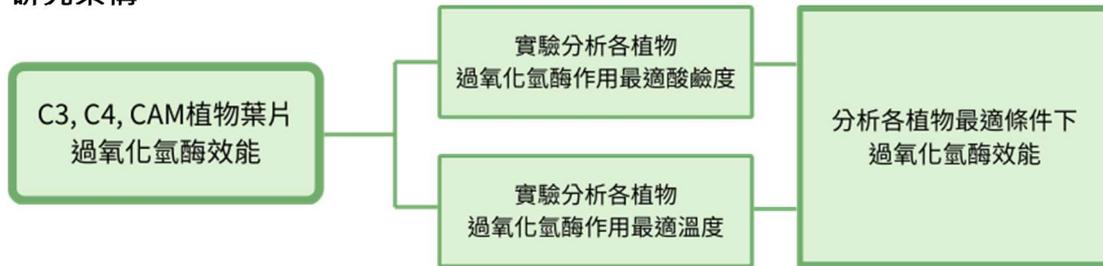


2024 年【科學探究競賽-這樣教我就懂】

普高組 成果報告表單

題目名稱：「酶」好時光——探討 C3,C4,CAM 植物中過氧化氫酶之效能
一、摘要
探討 C3, C4, CAM 植物葉片中過氧化氫酶之效能。將過氧化氫酶分解過氧化氫速率作為效能指標，依此求出各植物葉片過氧化氫酶反應的最適條件，並比較在最適條件下的過氧化氫酶效能。結果為 C3 植物的平均反應速率大於 C4 植物，C4 植物大於 CAM 植物，代表 C3 植物葉片整體過氧化氫酶效能較 C4 植物好，C4 植物較 CAM 植物好。這印證了我們最初根據 C3 植物光呼吸作用較 C4, CAM 植物旺盛所做出的假設，並合理推論光呼吸作用旺盛的植物其葉片過氧化氫酶效能較好。結果能應用於有效率從廢棄農作物提取過氧化氫酶，並有繼續發展研究的面向與學術、經濟價值。
二、探究題目與動機
我們組員在查詢過氧化氫酶的工業應用時，發現過氧化氫酶在光呼吸作用中有舉足輕重的地位。光呼吸作用是細胞在強光、高溫、高氧、低二氧化碳情況下發生的一個損耗能量的光合作用副反應。光呼吸過程中會產生過氧化氫，並由過氧化氫酶分解。C3, C4, CAM 植物一大差異在於光呼吸作用的旺盛與否。C3 植物沒有光合適應能力以減少光呼吸。C4 植物與 CAM 植物則各能以 C4 循環和景天酸代謝途徑，製造高二氧化碳濃度環境來抑制光呼吸作用的產生。這使在乾燥和炎熱環境中，為避免水分流失而關閉氣孔導致氧氣濃度漸增，二氧化碳濃度漸減的植物，以 C4 與 CAM 植物較 C3 植物更適應乾燥炎熱環境。由此，我們不禁思考，既然 C3 植物相較於 C4 與 CAM 植物，光呼吸作用旺盛許多，C3 植物理應較 C4 與 CAM 植物產出更多的過氧化氫。那麼，C3 植物整體過氧化氫酶效能是否會比較好呢？我們決定進一步研究。
三、探究目的與假設
探討 C3, C4, CAM 植物中葉片過氧化氫酶之效能，並據 C3, C4, CAM 植物光呼吸特性推測：C3 植物葉片整體過氧化氫酶效能較 C4 與 CAM 植物葉片整體過氧化氫酶效能好。
四、探究方法與驗證步驟
一、材料
(一) 器材與藥品： 慢磨機、單孔打洞機、濾紙、滴管、50mL 燒杯、鑷子、量筒、酒精溫度計、定溫用保麗龍容器、碼表、1%過氧化氫水溶液/雙氧水（實驗室配置提供）、pH7 緩衝液
(二) 實驗生物：
1. C3 植物：青江菜 (<i>Brassica chinensis</i>)、山菠菜 (<i>Prunella asiatica</i>)
2. C4 植物：白莧菜 (<i>Amaranthus albus</i>)、紅莧菜 (<i>Amaranthus tricolor</i>)
3. CAM 植物：蘆薈 (<i>Aloe vera</i>)、吊蘭 (<i>Chlorophytum comosum</i>)

二、研究架構

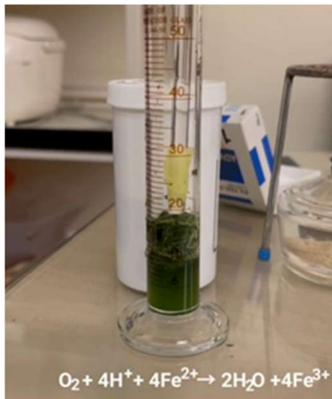


圖一、研究架構圖

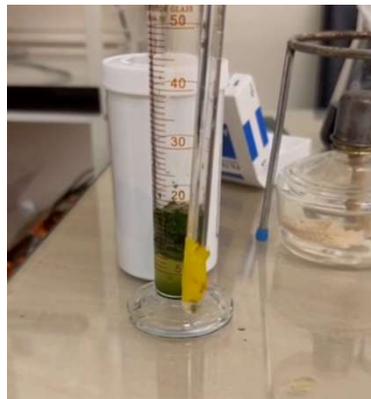
三、實驗前置作業與考量因素

(一) 確認氣體

本實驗測定植物葉片過氧化氫酶效能是透過葉片過氧化氫酶催化過氧化氫分解產生氧氣的
平均反應速率為判別標準，因此先確認實驗中生成氣體確實為氧氣。透過將沾有鹽酸及氮
化亞鐵的濾紙懸空放入青江菜葉酵素液、雙氧水與 pH7 緩衝液的混合液量筒中觀察濾紙顏
色，可以確認氣體確實為反應生成氧氣。(見圖一、二、三)



圖二、實驗操作過程



圖三、放入量筒的實驗組



圖四、未放入量筒的對照組

(二) 濾紙圓片上浮法中合適的雙氧水濃度

查詢發現单志琼 (2019) 多次實驗探究雙氧水濃度為 0.1%~3.0% 之間的效果較佳，因此進
一步進行預設、實驗，最終採用 1% 雙氧水。濾紙圓片在此濃度下能在 1 分鐘內從燒杯底上
浮至雙氧水平面，確保不因反應速率過快導致濾紙圓片不下沉，或因過慢導致時間的浪費。

(三) 各植物過氧化氫酶作用的最適條件：溫度與酸鹼度

考量 C3, C4, CAM 植物生存環境溫差較大，其過氧化氫酶適合作用的溫度也可能相異，我
們設定不同溫度的水浴，尋找最適作用溫度。已知雙氧水在高溫時會自行分解為氧氣和水。
經實驗測試，在溫度 53°C 以上的雙氧水內放入未吸附酵素液的濾紙，能觀察到氣泡的產生
與隨之導致的濾紙浮起(見 p3.圖五)，因此我們將溫度設在一定範圍內，訂為 13°C、23°C、
33°C 與 43°C。酸鹼度則據 Amna, K., Lejla, M., & Altijana, H. (2022) 所指出「當暴露於 20 °C
至 30 °C 的溫度和 pH7 時，植物過氧化氫酶往往會發揮最佳作用」和根據過去實驗各植物
皆以 pH7 時過氧化氫酶作用平均反應速率最高，決定以酸鹼值 pH7 的條件進行後續實驗。

四、實驗設計

實驗求出各植物葉片過氧化氫酶反應的最適溫度（見表一），在各植物葉片過氧化氫酶反應的最適溫度下求各植物葉片過氧化氫酶效能以比較（見表二）。

表一、植物葉片過氧化氫酶反應的最適溫度之變因設定

控制變因	過氧化氫酶來源植物種類、酸鹼度、過氧化氫酶載體面積與厚度、雙氧水濃度、雙氧水高度、實驗器材與儀器
操作變因	雙氧水與酵素液溫度
應變變因	過氧化氫酶催化雙氧水分解的反應速率

表二、不同種植物葉片過氧化氫酶效能比較之變因設定

控制變因	酸鹼度、過氧化氫酶載體面積與厚度、雙氧水濃度、雙氧水高度、雙氧水與酵素液溫度、實驗器材與儀器
操作變因	過氧化氫酶來源植物種類
應變變因	過氧化氫酶催化雙氧水分解的反應速率

（一）實驗步驟

1. 以慢磨機取得不同植物汁液作為酵素液。

- (1) 青江菜、山菠菜、白莧菜、紅莧菜：莖葉分開，僅取葉置入慢磨機，取汁。
- (2) 蘆薈：葉片剖開，除去中央透明葉肉，僅取表皮與外層皮質置入慢磨機，取汁。
- (3) 吊蘭：葉片剪下，置入慢磨機，取汁。

2. 將濾紙以單孔打洞機打出直徑 6mm 的濾紙圓片為酵素液載體。

3. 以滴管取 pH=7 緩衝溶液 2mL，植物酵素液 1mL，輕搖使溶液混合均勻。

4. 以燒杯取 1% 雙氧水至刻度 40 mL，以尺測量高度，後續實驗皆以此高度為準。

5. 保麗龍容器內加入冰塊或熱水，水浴酵素液與雙氧水至 13°C、23°C、33°C、43°C。

6. 在水浴完畢的酵素液中浸泡 5~8 片不等的濾紙圓片 1 分鐘後取出。

7. 以鑷子夾取 1 片浸泡完畢的濾紙圓片按入盛裝雙氧水的燒杯杯底，至杯底瞬間放開（如圖六），同時開始計時。待濾紙圓片完全浮起貼齊水平面，停止計時，完成一次數據記錄。

8. 扣除極值，取濾紙圓片上浮至表面所需平均時間的倒數為平均反應速率並作圖表示。



圖五、未吸附酵素液濾紙於 53°C 浮起



圖六、以鑷子將濾紙圓片按入杯底放開

五、實驗結果

我們將實驗測得各個植物葉片的過氧化氫酶在不同溫度下的反應速率，分為 C3、C4、CAM 植物群呈現，最後以各個植物葉片的過氧化氫酶在其最適溫度下的反應速率進行比較。

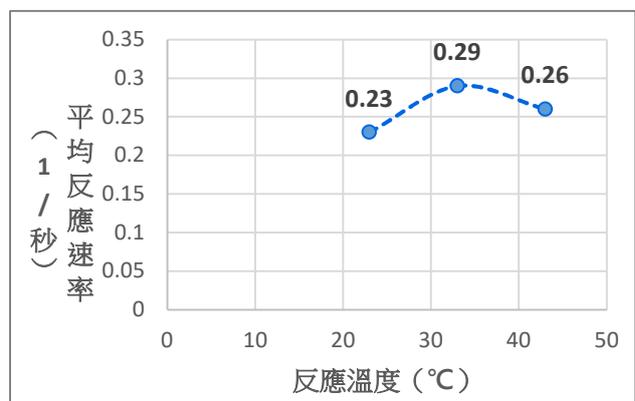
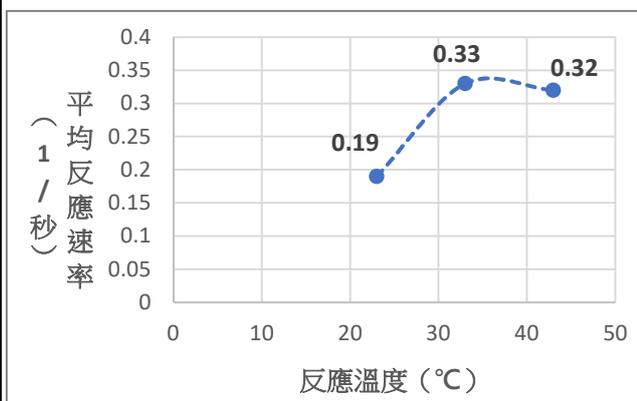
一、C3 植物

(一) 青江菜

青江菜葉片的過氧化氫酶在 33°C 溫度處理下所需濾紙圓片浮起平均時間最短，為 3.03 秒，此時平均反應速率最高，為 0.33（見圖七），取此數據為最適溫度下的反應速率。

(二) 山菠菜

山菠菜葉片的過氧化氫酶在 33°C 溫度處理下所需濾紙圓片浮起平均時間最短，為 3.39 秒，此時平均反應速率最高，為 0.29（見圖八），取此數據為最適溫度下的反應速率。



圖七（左）、青江菜葉片和圖八（右）、山菠菜葉片的過氧化氫酶在不同溫度下的平均反應速率

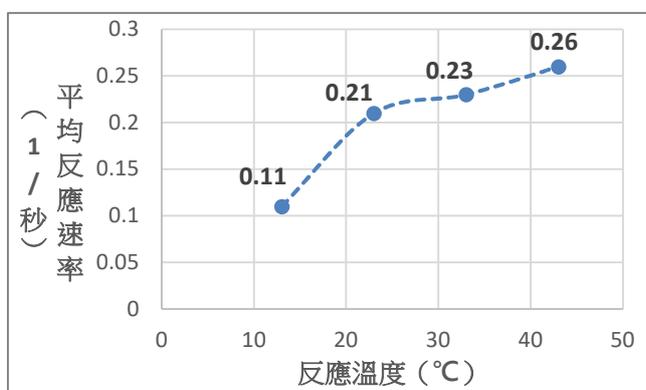
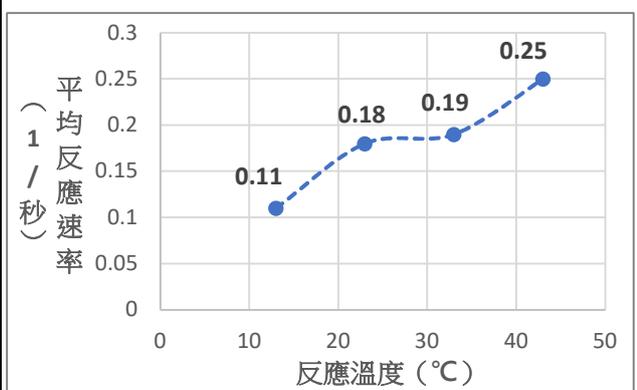
二、C4 植物

(一) 白莧菜

白莧菜葉片的過氧化氫酶在 43°C 溫度處理下所需濾紙圓片浮起平均時間最短，為 4.07 秒，此時平均反應速率最高，為 0.25（見圖九），取此數據為最適溫度下的反應速率。

(二) 紅莧菜

紅莧菜葉片的過氧化氫酶在 43°C 溫度處理下所需濾紙圓片浮起平均時間最短，為 3.81 秒，此時平均反應速率最高，為 0.26（見圖十），取此數據為最適溫度下的反應速率。



圖九（左）、白莧菜葉片和圖十（右）、紅莧菜葉片的過氧化氫酶在不同溫度下的平均反應速率

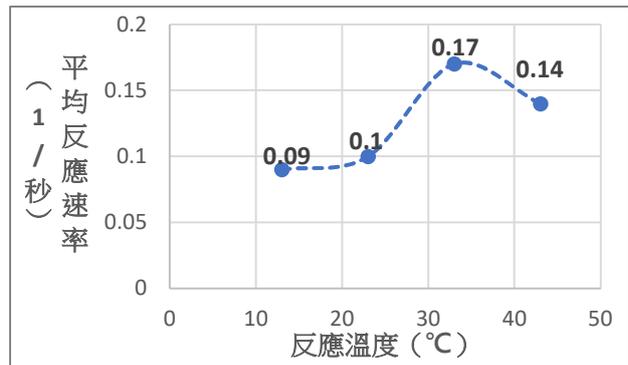
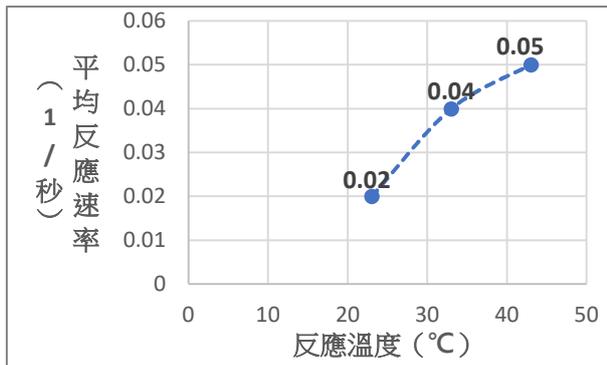
三、CAM 植物

(一) 蘆薈

蘆薈葉片的過氧化氫酶在 43°C 溫度處理下所需濾紙圓片浮起平均時間最短，為 22.16 秒，此時平均反應速率最高，為 0.05（見圖十一），取此數據為最適溫度下的反應速率。

(二) 吊蘭

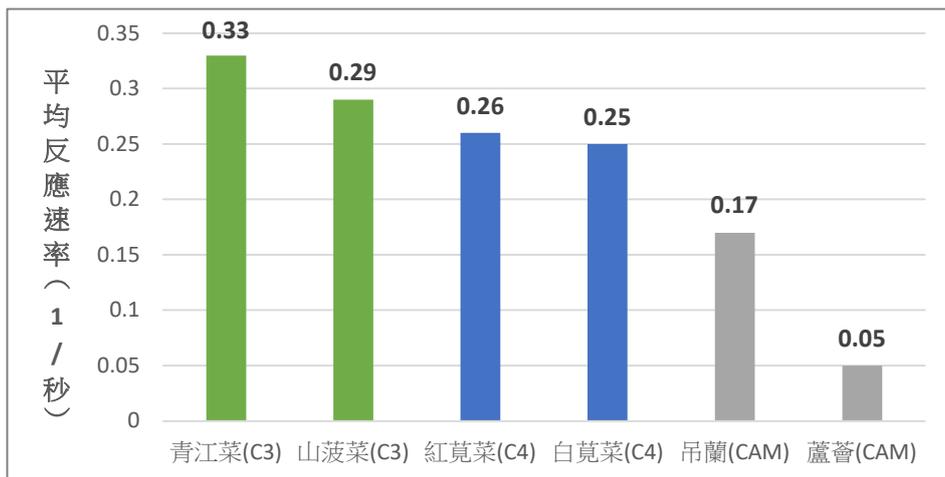
吊蘭葉片的過氧化氫酶在 33°C 溫度處理下所需濾紙圓片浮起平均時間最短，為 5.8 秒，此時平均反應速率最高，為 0.17（見圖十二），取此數據為最適溫度下的反應速率。



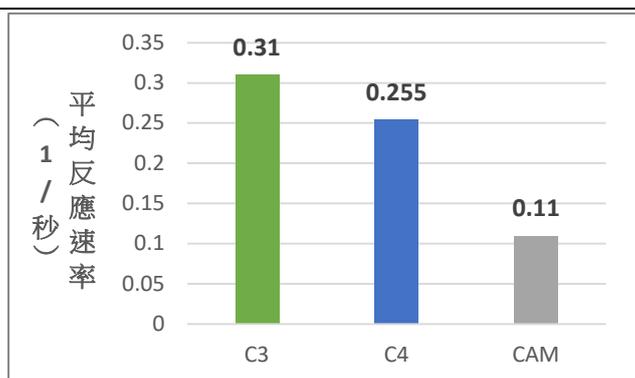
圖十一（左）、蘆薈葉片和圖十二（右）、吊蘭葉片的過氧化氫酶在不同溫度下的平均反應速率

四、C3, C4, CAM 植物葉片平均反應速率的比較

將所有植物葉片在各自最適條件下的平均反應速率由高到低排列（見圖十三）。所有 C3 類型植物的各自平均反應速率皆高於 C4 類型植物的各自平均反應速率，C4 類型植物的也都高於 CAM 類型植物的。另外，將各類型植物的代表植物葉片在各自最適條件下的平均反應速率取平均，得到該類型植物葉片的平均反應速率，由作圖可得知反應速率以 C3 植物高於 C4 植物高於 CAM 植物（見圖十四）。



圖十三、不同植物葉片過氧化氫酶在最適條件下的平均反應速率



圖十四、C3, C4, CAM 植物葉片過氧化氫酶的平均反應速率

五、結論與生活應用

一、結論

1. C3, C4, CAM 植物葉片過氧化氫酶作用的最適酸鹼值為 pH=7。
2. C3 植物葉片過氧化氫酶作用的最適溫度皆為 33°C，C4 植物葉片皆為 43°C，而 CAM 植物的吊蘭為 33°C、蘆薈為 43°C。可以發現，C4, CAM 植物葉片的過氧化氫酶作用最適溫度較 C3 植物的高，這也符合 C4, CAM 植物適合生活於炎熱環境的特性。
3. C3 植物葉片的平均反應速率高於 C4 植物的，C4 植物的又高於 CAM 植物的。藉此能推論出 C3 植物葉片的過氧化氫酶效能最好，C4 植物葉片其次，而 CAM 植物葉片最差，證實了我們最初「C3 植物葉片整體過氧化氫酶效能較 C4 與 CAM 植物葉片整體過氧化氫酶效能好」的假設，也發現 C4 植物葉片整體過氧化氫酶效能是較 CAM 植物葉片整體過氧化氫酶效能好的。最後，光呼吸作用的旺盛與否對植物葉片過氧化氫酶效能的影響，藉由既定知識「C3 植物光呼吸作用較 C4 與 CAM 植物旺盛許多」以及本實驗「C3 植物葉片整體過氧化氫酶效能較 C4 與 CAM 植物葉片整體過氧化氫酶效能好」的結論，能合理推測植物葉片過氧化氫酶效能的好壞與植物光呼吸作用的旺盛與否有關聯，即「光呼吸作用旺盛的植物，其葉片過氧化氫酶效能較好」。

二、生活應用與未來展望

目前大多過氧化氫酶來源自牛肝，僅少部分為自糧食或廢棄農作物提取。透過我們的成果推廣自廢棄 C3 植物農作物葉片中提取出效能好的過氧化氫酶，其成本更低廉且提取方便，可達到經濟且環保的價值。另外，也能將不同植物葉片的過氧化氫酶提取出，定量的比較不同植物葉片過氧化氫酶效能，而非以植物葉片的整體過氧化氫酶效能進行比較。藉此可以更進一步討論光呼吸與不同植物單一個過氧化氫酶效能的關聯，發展更多應用。

參考資料

- 林玟娟 (2009 年 7 月 10 日)。光呼吸作用-上 (Photorespiration)。科學 Online 高瞻自然科學教學資源平台。
<https://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=1085>
- 單志琼 (2019)。用滤紙片上浮法探究底物浓度对过氧化氢酶活性的影响。生物学教学，44(6)，52-54。
<https://swxjx.ecnu.edu.cn/CN/Y2019/V44/I6/52>
- Amna, K., Lejla, M., & Altijana, H. (2022). Testing temperature and pH stability of the catalase enzyme in the presence of inhibitors. *Periodicals of Engineering and Natural Sciences*, 10(2), 18-29.