

投稿類別：生物類

篇名：

鈣離子對於澱粉酶活性作用之探討

作者：

王以青。私立樹德家商。高二 01 班

吳憬翰。私立樹德家商。高二 01 班

林珏君。私立樹德家商。高二 01 班

指導老師：

李冠徵老師

陳樺亭老師

壹●前言

日常生活裡常聽到的「酵素」與「酶」其實都是指同樣的東西，是一種蛋白質組成的催化劑。由於人類唾液澱粉酶的容易取得與綠豆發芽(因為發芽過程中，綠豆內的澱粉酶需要快速運作，將子葉內澱粉分解成可直接供給能量的還原性醣類，所以選綠豆發芽為活體觀察對象)的方便操作、觀測。是故，我們選用這兩種實驗材料作為我們操作的主體，探討在課程中未曾提及卻屢屢在許多酵素活性分析的文章中扮演重要角色的「鈣離子」，看看它對於「澱粉酶活性」的影響是如何。

在國高中的生物課程內容當中，也有對酵素的作用機制原理作解說。其中藉由「唾液澱粉酶的實驗」探討「溫度」對於酵素活性的影響；在「胃蛋白酶與胰蛋白酶的作用」當中了解了不同「酸鹼度」與酵素活性的關聯。我們在課後探索酵素活性的過程當中，發現「鈣離子」在許多酵素反應中參與了重要的角色，使我們聯想到是否鈣離子對於澱粉酶活性也會有所影響？所以我們使用 EGTA(鈣離子螯合劑)以及鈣離子處理人類唾液澱粉酶與綠豆，故對此一假設作分析與探討下列目的：

- 一、觀察並探討鈣離子與直接取自人體的人類唾液澱粉酶活性之相對關係。
- 二、觀察並探討鈣離子與純化過的人工唾液澱粉酶活性之相對關係。
- 三、觀察並探討鈣離子對於綠豆發芽狀況。
- 四、觀察並探討鈣離子對於綠豆發芽時澱粉分解速率之相對關係。

貳●正文

生物體展現生命現象仰賴的是眾多化學反應的進行與協調，其中不可或缺的是蛋白質所組成的酵素參與這些化學反應。酵素除了改變反應的活化能之外也使各反應的速率可以受到多一層的調節。然而酵素在執行其催化功能時，必須有其他適合的環境因子來幫助其功能的正常運作。原因是蛋白質分子在執行其功能時

需保持自身「構形」的正確性，如此才能正確的辨識受質、結合受質、催化反應。這些環境因子包含了溫度、酸鹼度、溶液的極性、鹽度、金屬離子等等。以上這些因子對於酵素催化反應的速率(我們稱之為酵素活性)皆有相對的影響性，要使酵素發揮適當的活性、有效的催化反應必須這些因子做適當的配合。

有些非蛋白質的小分子會加入酵素構造中，以幫助催化反應進行，其中包含金屬離子(如鈣、鎂、鋅離子)或是其他維生素分子(如維他命 B 群)等等。如血紅素當中需要鐵離子的參與以幫助結合、運送氧氣等等；同樣的，鈣離子在許多酵素的活性調控當中一樣是扮演不可或缺的角色，如凝血因子、胰蛋白酶原、RNase(負責 RNA 降解的一個重要酵素)等等。在缺乏這些輔助因子的狀況下，酵素不但可能會降低其活性更可能會因此而完全喪失其正確構型而完全無法作用。

一、研究組別與條件

如表一：

組別	1 號試管	2 號試管	3 號試管	4 號試管	5 號試管
溶液條件	5%澱粉 10ml	5%澱粉 0.02M EGTA 10ml	5%澱粉 0.02M CaCl ₂ 10ml	5%澱粉 0.02M ZnCl ₂ 10ml	5%澱粉 0.02M MgCl ₂ 10ml

二、研究設備與器材

(一) 實驗材料與藥品：綠豆、可溶性澱粉、葡萄糖、本氏液、人類口水、磷酸氫二鈉、磷酸二氫鈉、氯化鎂、氯化鈣、氯化鋅，純化澱粉酶。

(二) 實驗器材：燒杯、試管、培養皿、研鉢、滴管、微量天平、秤量紙、藥匙、酒精燈。

三、藥品配置：

- (一) 磷酸鹽緩衝溶液(0.02M, pH6.9)：磷酸氫二鈉溶液：5.68 g 溶於 1 升水中。
磷酸二氫鈉溶液：4.80 g 溶於 1 升水中。兩溶液以 1：1 的比例混合。
- (二) 標準澱粉液(5%)：稱取 5.00g 可溶性澱粉於小燒杯中，加入約 20ml 水，攪拌使成懸浮液，然後將懸浮液邊攪拌邊緩慢倒入盛有約 80ml 沸騰水的大燒杯中，冷卻待用。

四、研究過程與方法

整體實驗我們將它分為以下四階段操作並分別將過程列述如下：

- (一) EGTA /鈣離子/鋅離子/鎂離子對於直接取自人體的人類唾液澱粉酶活性之影響：
- 1.收集人類唾液 5ml 於試管中，以磷酸鹽緩衝溶液稀釋混搖至 10ml，標示為 A 液。
 - 2.將標準澱粉液分裝成五管，標示號碼為 1,2,3,4,5 其內含不同處理如表一所示：
 - 3.各組於室溫下加入 1ml 之 A 液，並且開始計時。
 - 4.各組每隔 20 分鐘取 2ml 反應溶液於試管內並加入 0.5ml 之本氏液，於沸水中隔水加熱 10 分鐘後取出並加以拍照紀錄其顏色變化。
- (二) EGTA /鈣離子/鋅離子/鎂離子對於純化後的人類唾液澱粉酶活性之影響
- 1.純化人類唾液澱粉酶以磷酸鹽緩衝溶液稀釋混搖至 5ml，標示為 B 液待用。
 - 2.將標準澱粉液分裝成五管，標示號碼為 1,2,3,4,5 其內含不同處理如表一所示。
 - 3.各組於室溫下加入 1ml 之 B 液，並且開始計時。
 - 4.各組每隔 20 分鐘取 2ml 反應溶液於試管內並加入 0.5ml 之本氏液，於沸水中隔水加熱 10 分鐘後取出並加以紀錄。

(三) 鈣離子/EGTA 對於綠豆發芽之影響

- 1.挑選新鮮綠豆 60 顆分三組，每組 20 顆置於玻璃培養皿內。
- 2.將各組標示 1,2,3 號並以下表各條件之溶液浸泡，紀錄其發芽情況。

組別	1 號培養皿	2 號培養皿	3 號培養皿
溶液條件	純水 30ml	0.02M EGTA 30ml	0.02M CaCl ₂ 30ml

(四) 鈣離子/EGTA 對於綠豆發芽時澱粉分解速率之影響

- 1.將實驗三當中各組綠豆分別洗淨去種皮後以研鉢搗碎，並加入 10ml 熱水繼續搗碎。
- 2.各組靜置後，待其沉澱後各取其上清液 2ml 並加入 0.5ml 本氏液，於沸水中加熱 10 分鐘。再加以拍照記錄。

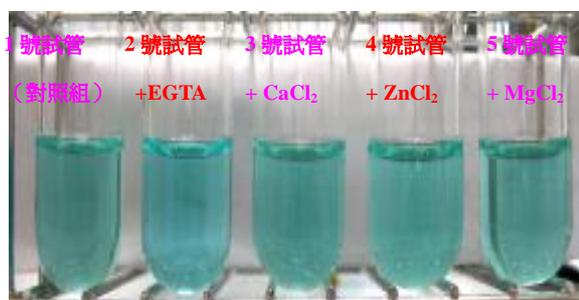
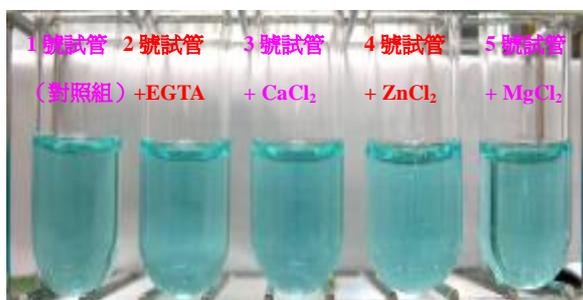
參●結論

一、EGTA /鈣離子/鋅離子/鎂離子對於直接取自人體的人類唾液澱粉酶活性之影響：

(一) 在反應開始 20 分鐘之前，本氏液的呈色反應實驗組試管與對照組相比呈色尚不明顯。

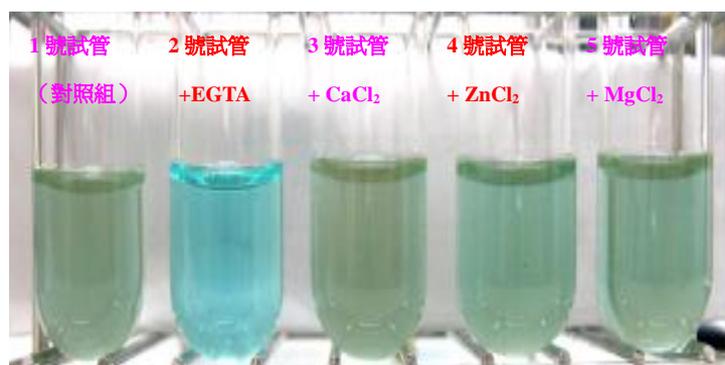
0 分鐘

20 分鐘



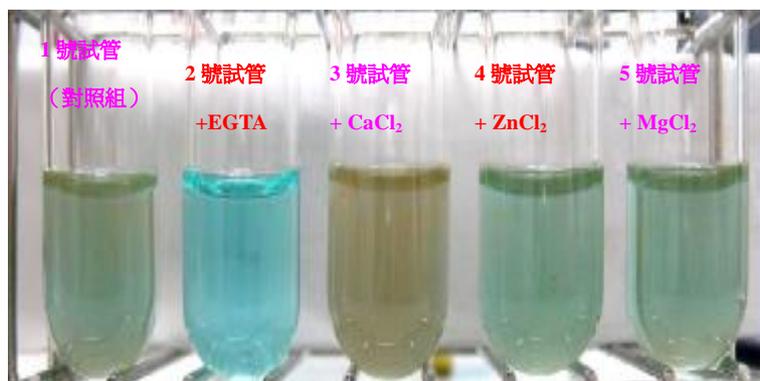
(二) 在反應開始 40 分鐘之後，可以見到本氏液的呈色反應於 1、3、4、5 號試管已相當明顯，而以 3 號試管的反應又稍微更明顯些，暗示其分解澱粉產生還原性醣類之速率較高於其他試管。而 2 號試管依然沒有顏色變化。1、4、5 號試管顏色變化程度加大，但彼此間相差無幾。

40 分鐘



(三) 在反應開始 60 分鐘之後，明顯可見 3 號試管之色澤較偏橘紅色，與其他組別有明顯差異。2 號試管沒發生變化。1、4、5 號試管依然相差無幾。

60 分鐘

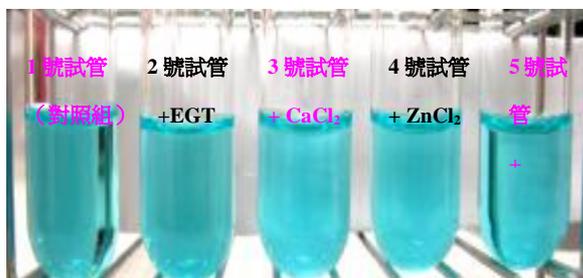


二、EGTA / 鈣離子 / 鋅離子 / 鎂離子對於純化後的人類唾液澱粉酶活性之影響

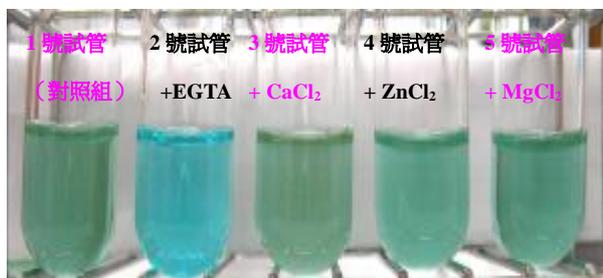
(一) 對於純化的人類唾液澱粉酶而言，在反應開始 20 分鐘之時，肉眼可見 1、3、4、5 號試管於本式液的呈色反應中顏色已略有變化。其顏色變化程度較明顯於直接取自唾液的組別。3 號試管顏色已略不同於 1、4、5 號試管。

(二) 在反應開始 40 分鐘之後，可以見到本氏液的呈色反應於 1、3、4、5 號試管已相當明顯，而以 3 號試管的反應又更明顯偏橘紅。

0 分鐘



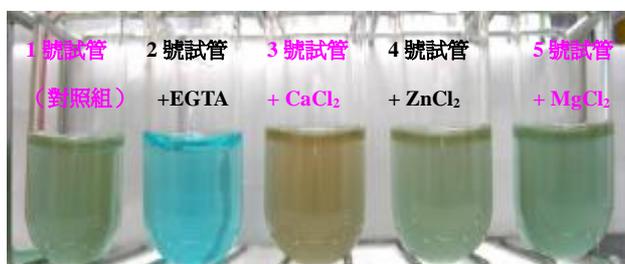
20 分鐘



40 分鐘



60 分鐘



三、鈣離子/EGTA 對於綠豆發芽時澱粉分解速率之影響

(一) 液加本氏液(加熱前)



(二) 液加本氏液(加熱後)



在這一系列實驗的過程，實驗中皆以簡單的器材操作，容易取得的材料，以及方便觀測的方法，對於「鈣離子與澱粉酶活性的相對關係」此一主題作反覆的探索，把酵素活性的研究「簡單化」、「有趣化」，以眼睛看的到的顏色變化來做觀察，利用我們手邊所能簡單操作的實驗器具與藥品，清楚的呈現鈣離子對於澱粉酶的活性調控之重要性。讓我們了解到除了課程中所提及的「溫度」與「酸鹼度」

之外，小小的「鈣離子」對酵素活性作用以至於個體生理作用是有如此重大且顯著的影響，也更近一步了親身體驗鈣離子除了在造骨與神經訊息傳導之外的另一層功能面相。根據實驗，我們作出以下幾點：

(一) 試管實驗中，人類唾液粉酶活性會因為 **EGTA**（鈣離子螯合劑）的存在大幅被抑制，顯示鈣離子為人類唾液粉酶活性作用過程中所必須。

(二) 試管實驗中，額外添加鈣離子雖然在反應初期對於人類唾液粉酶活性沒有相對顯著提升效果，但是在（40 分鐘以後）對於人類唾液粉酶的活性維持有相當高的增強效果，鎂離子與鋅離子則無此特別明顯效果。

(三) **EGTA** 明顯抑制綠豆發芽，並且由萃取液分析 **EGTA** 處理組的綠豆的確其澱粉酶活性已被強烈抑制。顯示由於發芽過程中澱粉酶因缺乏鈣離子而無法分解澱粉，可能因此導致綠豆發芽的過程受阻。根據文獻記載，**Knuckles** 和 **Betschart**（1987）研究表明植物種子中的植酸可能藉由類似的機制螯合鈣，因而抑制了澱粉酶的活性。透過植酸的作用模式，一來可以使前來吞食植物種子的昆蟲消化不良（澱粉酶受抑制），二來可以確保種子內澱粉酶活性抑制，維持休眠狀態，避免過早發育。

(四) 分析綠豆萃取液，發現鈣離子處理組當中還原性醣類的濃度相對高，顯示此組綠豆內澱粉酶活性確實較高，但是發芽的速率和樣態與對照組相比並無差異。推論雖然澱粉酶活性的提升是綠豆發芽與決定生長速率的必須要件，但並非單靠澱粉酶活性提升就可以改變整體發芽進展的速率。

肆●引註資料

- 一、李雯(Wen Li);邵遠志(Yuan-Zhi Chen);陳維信(Wei-Xin Chen) (2005/10). 「澱粉酶活性測定方法的改進」植物生理學通訊 41 卷 5 期 655-656 頁.
- 二、 α -澱粉酶活性的測定 http://www.estarch.com/news/26/news_4004.html.
- 三、養份分解轉運的控制 <http://seed.agron.ntu.edu.tw/vtseed/germin/ger13.htm>.
- 四、Chrispeels,M.J.,and N.V.Raikhel.(1991). Lectins,lectin genes, and their role in plant defense.Plant Cell 3:1-9.
- 五、Ishimoto,M.,and K.Kitamura.(1989).Growth inhibitory effects of an α -amylase inhibitor from kidney bean,*Phaseolus vulgaris* (L.) on three species of bruchids (Coleoptera:Bruchidase).Appl.Entomol.Zool.24:281-286.
- 六、K.Sasikiran, M.R.Rekha, and G.Padmaja.(2002). Proteinase and alpha-amylase inhibitors of sweet potato:Changes during growth phase, sprouting, and wound induced alterations. Central Tuber Crops Research Institute, Thiruvananthapuram, Kerala, Bot. Bull. Acad. Sin. 43:192-298.
- 七、Carlini,C.R., and M. F. Grossi-de-sa.(2002). Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. Toxicon 40: 1515-1539.