

# 探究pH对酶活性影响的实验创新

余小杏<sup>1\*</sup>, 周训富<sup>2</sup>, 黄文琳<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岭南师范学院生命科学与技术学院, 广东 湛江

<sup>2</sup>岭南师范学院化学化工学院, 广东 湛江

收稿日期: 2024年4月18日; 录用日期: 2024年6月18日; 发布日期: 2024年6月28日

## 摘要

通过创新性地将医用鲁尔两通阀和注射器联合使用, 对原有的实验装置进行改进, 开展“pH对过氧化氢酶活性的影响”的定量探究实验。直观地展现出在不同pH条件下过氧化氢分解时产生氧气的速率。实验装置改进后具有操作简便, 实验现象直观且明显, 可定性定量结合等特点, 利于开展以核心概念为主的实验教学, 发展生物学学科核心素养。

## 关键词

定量探究, 实验创新, 核心素养

# Innovative Experiments Investigating the Impact of pH on Enzyme Activity

Xiaoxing Yu<sup>1\*</sup>, Xunfu Zhou<sup>2</sup>, Wenlin Huang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Life Science and Technology School, Lingnan Normal University, Zhanjiang Guangdong

<sup>2</sup>School of Chemistry and Chemical Engineering, Lingnan Normal University, Zhanjiang Guangdong

Received: Apr. 18<sup>th</sup>, 2024; accepted: Jun. 18<sup>th</sup>, 2024; published: Jun. 28<sup>th</sup>, 2024

## Abstract

Through the innovative combined use of medical Ruhr two-way valve and syringe, the original experimental device was improved to carry out a quantitative exploration experiment of “the effect of pH on catalase activity”. It intuitively shows the rate at which oxygen is produced when hydrogen peroxide is decomposed at different pH conditions. After the improvement, the experimental equipment has the characteristics of simple operation, intuitive and obvious experimental

\*通讯作者。

文章引用: 余小杏, 周训富, 黄文琳. 探究 pH 对酶活性影响的实验创新[J]. 创新教育研究, 2024, 12(6): 272-278.

DOI: 10.12677/ces.2024.126387

phenomena, qualitative and quantitative combination, etc., which is conducive to carrying out the experimental teaching based on core concepts and developing the core literacy of biology.

## Keywords

Quantitative Inquiry, Experimental Innovation, Core Literacy

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

《普通高中生物学课程标准(2017年版 2020年修订)》(下称课程标准)教学建议中提出,为增加学生的感性认识,应开展探究酶催化的专一性、高效性及影响酶活性的因素等探究性实验活动[1],提高学生的生物学核心素养。同时《关于加强和改进中小学实验教学的意见》中指出要加强实验教学研究,鼓励教师自制实验教具,并创新实验教学方式,促进传统实验教学与现代技术相融合。可见创新性地探究实验是必要的。

“探究 pH 对过氧化氢酶活性的影响”实验选自人教版高中生物学教材必修一《分子与细胞》中第五章第二节“酶的特性”的一个重要内容,是学生对“酶的作用和本质”的深入了解,并进一步理解酶在细胞代谢中的地位和作用。

孙涛[2]等运用自制教具定量测定 pH 1~14 的过氧化氢酶溶液催化过氧化氢分解的速率,构建 pH 对过氧化氢酶活性影响的数学模型;杨景国[3]采用土豆片上浮法,在实验选材、反应场所、检测方式等方面都进行了创新;程佳佳[4]通过改进实验装置,固定过氧化氢酶以及其他酶整合进行实验创新,但实验过程操作较为复杂,不利于一个课时的课堂上进行完成。

因此,本实验通过使用多种实验材料,如菠菜、蒜、土豆、西芹、大白菜、西红柿,在 PH 缓冲液中进行多组实验,实验结果发现土豆中的过氧化氢酶活性较高。该实验创新性地将医用鲁尔两通阀和注射器联合使用,对原有的实验装置以及实验材料进行改进,开展“pH 对过氧化氢酶活性的影响”的定量探究实验。

该实验通过观察过氧化氢分解时产生的气泡的多少进而判定在不同 pH 条件下酶活性的大小。此为定性实验。当两个相近的 pH 溶液对酶活性的影响若仅仅以肉眼所目测容易造成对结果的误判。该研究通过改进实验装置和试验方案后,定量地对单位时间内过氧化氢分解时产生的氧气量进行记录,并基于数据建立图表,分析实验结果并得出结论。符合课程标准中所提出的“尊重事实和证据,崇尚严谨和务实的求知态度,运用科学的思维方法认识事物、解决问题的思维习惯和能力”[1],以此贯彻科学思维的培养。

## 2. 实验装置的改进

### 2.1. 实验用品

- 1) 实验材料与试剂:新鲜的荷兰土豆(含过氧化氢酶)、3%的过氧化氢、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 。
- 2) 实验器具:鲁尔两通阀、20 mL 塑料注射器(除去针头)、5 mL 塑料注射器(除去针头)、医用输液器、天平、量筒、烧杯、玻璃棒、台式酸碱浓度检测仪。

3) 实验条件：在 25°C 的室温，相对湿度为 50% 的室温条件下开展实验。

## 2.2. 实验装置的组装

实验装置由 20 mL 针筒、5 mL 针筒通过鲁尔两通阀连接而成(见图 1)。在医用输液器中剪取约 1 cm 的塑料硅胶管，将其连接在鲁尔两通阀连接针头的一端，而后使用 20 mL 的注射器连接硅胶管，作为反应容器和气体收集器[5]。使用 20 mL 的针筒吸取等量的 pH 缓冲溶液和过氧化氢溶液，用于过氧化氢与 pH 缓冲液混匀预处理；5 mL 的注射器吸取等量的新鲜土豆研磨液，将 5 mL 针筒中的溶液通过鲁尔两通阀注射入反应容器中，关闭阀门进行反应。观察反应容器溶液反应时所产生的气泡数并记录单位时间内针筒活塞移动的刻度。



Figure 1. Experimental installation drawing

图 1. 实验装置图

## 2.3. 实验材料的改进

### 2.3.1. 土豆研磨液的制备

由于教材中采用的猪肝研磨液难保存，需要现配现用，且易被细菌所污染，造成过氧化氢酶的活性降低等问题[6]。故将猪肝研磨液更换为更易保存的土豆研磨液。将新鲜荷兰土豆削皮，并称取约 10 g 的新鲜土豆块，置于钵中进行充分研磨，加入 15 mL 的蒸馏水制作成新鲜的研磨液，倒入 15 mL 的离心管中备用。

### 2.3.2. PH 缓冲液的制备

称取 17.9 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  放入烧杯中溶解，转至 1000 mL 容量瓶定容，配置成 0.05 mol/L 的  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  溶液。称取 6.75 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  固体放入烧杯中溶解，转至 1000 mL 容量瓶定容，配置成 0.05 mol/L 的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  溶液。用上述两个溶液配置 pH 为 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 的缓冲溶液[7] [8]。

## 2.4. 实验装置的检验

组装好装置之后，使用 5 mL 的针筒抽取 3 mL 的空气，将其安装在鲁尔两通阀的一端，鲁尔两通阀另一端连接 20 mL 的注射器，推动阀门将气体从 5 mL 的针筒通过鲁尔两通阀进入 20 mL 的针筒。若 20 mL 的针筒也注入了 3 mL 的气体，则说明该气密性良好[4]。

## 3. 实验过程

- 1) 准备 5 支 20 mL 针筒，每个针筒作为一个 pH 浓度的反应容器，编号 1~5 号，依次吸取 PH 为 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 的缓冲溶液 3 mL。
- 2) 更换针头，再次吸取 3 mL 的 3% 过氧化氢溶液。拔掉针头，将针筒连接在鲁尔两通阀连接硅胶管端。
- 3) 使用 5 mL 的针筒吸取 1 mL 的新鲜土豆研磨液，拔掉针头，将其连接在鲁尔两通阀的另一端。
- 4) 同时推动每个 5 mL 的注射器，将 1 mL 的过氧化氢溶液通过鲁尔两通阀进入到 20 mL 的针筒中

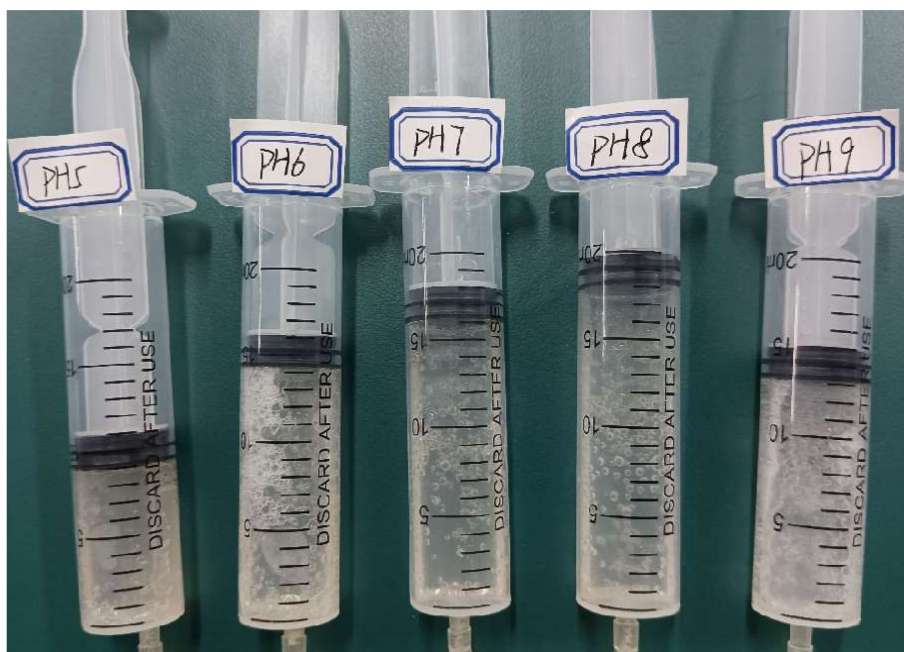
进行反应。推动针筒后立即按下计时器。为了避免溶液倒流回 5 mL 的针筒中，关闭鲁尔三通阀的阀门。

5) 按下计时器后 30 s 记录原始实验数据，观察 20 mL 针筒中反应产生的气泡数以及记录在 5 min (见图 2)、10 min (见图 3)时，针筒活塞的刻度值(见表 1)。

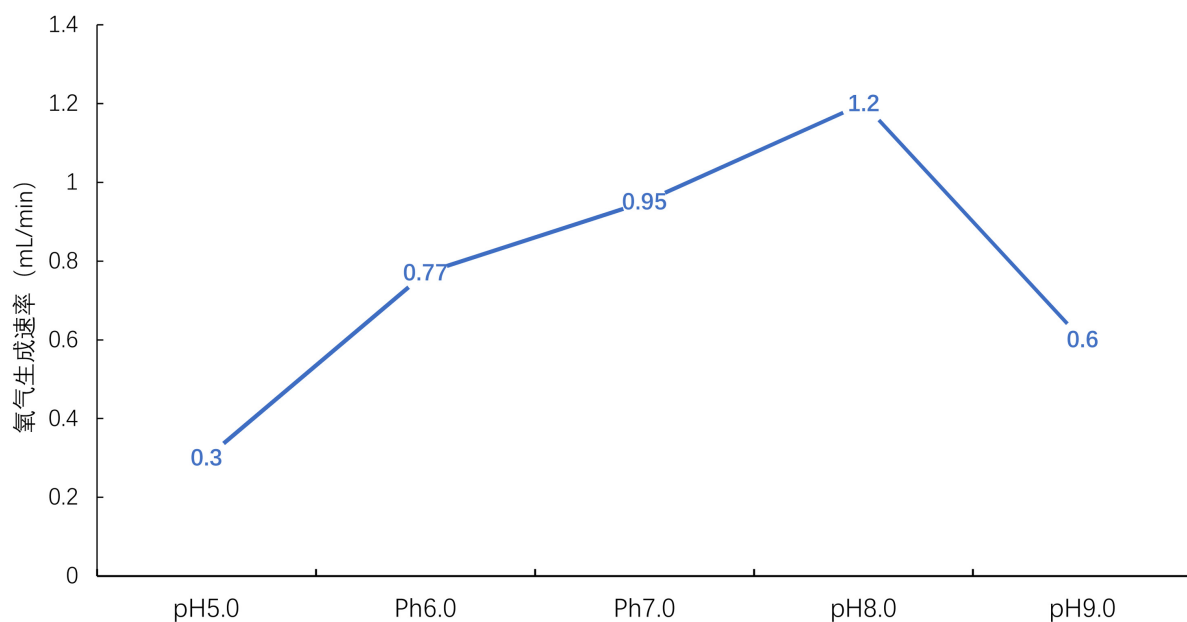
6) 通过 Excel 处理数据，以 pH 浓度为横轴，氧气生成速率为竖轴，绘制单位时间内氧气生成速率曲线图，分析实验结果(见图 4)。



**Figure 2.** Comparison of calibration values of 20 mL cylinder piston at 5 min  
**图 2.** 5 min 时 20 mL 针筒活塞刻度值比较图



**Figure 3.** Comparison of calibration values of 20 mL cylinder piston at 10 min  
**图 3.** 10 min 时 20 mL 针筒活塞刻度值比较图



**Figure 4.** Curve of oxygen generation rate when hydrogen peroxide reacts with potato lapping liquid for 10 min under different pH conditions

**图 4.** 不同 pH 条件下过氧化氢与土豆研磨液反应 10 min 时氧气生成速率曲线图

**Table 1.** Oxygen production per unit time under different pH conditions

**表 1.** 不同 pH 条件下单位时间内氧气生成量

pH	反应初始(0 min)	5 min	10 min	氧气生成速率(mL/min)
5.0	7	8	10	0.3
6.0	7	10.5	14.7	0.77
7.0	7	10.5	16.5	0.95
8.0	7	11.5	19	1.2
9.0	7	10	13	0.6

#### 4. 实验结果分析

经过对实验数据处理后,由图 4 可以直观地看出土豆过氧化氢酶的最适 pH 值约 8.0,大于 pH 8.0 或者小于 pH 8.0 都会使土豆过氧化氢酶的活性下降。实验所得出的曲线图与教材的曲线图大致相同,由此可以得出在一定的 pH 范围内,过氧化氢酶的活性会随着 pH 浓度的上升呈现出先上升后下降的实验结论。此实验结果符合实验预期。

#### 5. 实验创新要点

##### 1) 教材中的实验设计的问题

动物的肝脏难保存,且具有较重的腥味,研磨具有一定的难度,研磨液上下层酶含量差异很大,不方便平衡无关变量;实验检测时,产生的气泡较少,带火星的木条不易复燃,实验效果不明显;教材中的实验为定性实验,无法定量分析该实验结果。

##### 2) 改进实验材料

使用新鲜的土豆研磨液代替肝脏研磨液,创造良好的实验条件,材料方便易得。

### 3) 定性定量相结合

《课程标准》在实施建议(一)教学与评价建议中指出“在重视定性实验的同时,也应重视定量实验,让学生在量的变化中了解事物的本质。教师应给学生提供机会学习生物学研究的测量方法,实事求是地记录、整理和分析实验数据,定量表述实验结果等”。因此该实验装置将教材中定性实验转变为定性定量相结合的实验。教材中通过肉眼观察气泡的多少进而判断酶活性的大小,此为定性实验。易造成实验结果的误判且不利于培养严谨、实事求是的科学态度。该装置通过记录针筒活塞刻度数定量地测定出单位时间内氧气的生成量。同时,可通过半透明的针筒外壳观察反应时产生的气泡数。最后使用 Excel 等工具绘制出结果曲线图。准确且直观地反映出 pH 对酶活性的影响。将定性定量相结合,发展学生的“科学思维”和“科学探究”核心素养,落实关于“酶的特性”的生命观念。

### 4) 装置体积微小,操作简便

教材的实验装置为玻璃仪器,操作时具有一定的安全隐患。针对这一问题,改进实验装置,该装置组装便捷,且装置整体体积微小,可一个人同时操作几套装置,易于进行实验操作。

### 5) 密封空间反应

鲁尔两通阀的使用避免了反应容器中的液体倒流回 5 ml 注射器中,使溶液集中在一个容器中进行反应,注射器的密封性利于记录单位时间内过氧化氢酶分解过氧化氢所产生的氧气量。

### 6) 实验方案的创新

强酸和强碱条件下的过氧化氢易分解。用配置的缓冲溶液代替教材中的盐酸和氢氧化钠溶液,在教学过程中可以增加实验的安全性并可以稳定控制 pH 值。使 pH 值不会产生剧烈的变化,使实验结果更合理。

## 6. 实验展望

1) 该装置在课堂中的使用利于发展科学思维和科学探究的核心素养,通过定量实验的设计、定量装置的操作、实验数据的记录、处理、分析等过程可以增加课堂中的可操作性和趣味性,提高实践能力,并使课堂回归生物学实验的学科本质。

2) 在课堂教学中,若要进一步探究过氧化氢酶的最适 pH 浓度,可在 pH 7.0~8.0 浓度范围中设置更小的 pH 浓度梯度来进一步探究过氧化氢酶的最适 pH 浓度。同时,若要探究不同材料中过氧化氢酶的最适 pH 浓度,同样可以使用该装置进行探究。

## 基金项目

岭南师范学院 2021 年度校级教育教学研究和改革资助项目(高考评价体系下通过情境教学落实核心素养的教育研究);2022 年广东省本科高校在线开放课程指导委员会研究课题成果(2022ZXKC294);2023 年岭南师范学院“课程思政”示范课堂项目(生物学教学设计)。

## 参考文献

- [1] 中华人民共和国教育部. 普通高中生物学课程标准: 2017 年版 2020 年修订[M]. 北京: 人民教育出版社, 2020: 14, 59, 75.
- [2] 孙涛. “探究 pH 对过氧化氢酶活性影响”的实验设计与实践[J]. 生物学教学, 2022, 47(12): 59-60.
- [3] 杨景国. 利用土豆片上浮法探究 pH 对酶活性影响的实验创新设计[J]. 生物学通报, 2023, 58(12): 47-49.
- [4] 程佳佳. “pH 对酶活性的影响”实验的改进及思考[J]. 生物学通报, 2024, 59(1): 56-60.
- [5] 祝燕飞. “探究 pH 对过氧化氢酶活性的影响”定量实验装置创新与应用[J]. 中学生物教学, 2021(31): 54-57.
- [6] 宋娟. “探究 pH 对过氧化氢酶的活性影响”实验的改进和优化[J]. 生物学通报, 2020, 55(5): 51-53.

- [7] 牛袁园, 白建秀. “探究 pH 对过氧化氢酶活性的影响”的实验教学[J]. 生物学通报, 2017, 52(9): 48-50.
- [8] 刘伟权, 杜玉潇, 孙静, 扈善康. 探究 pH 对过氧化氢酶的影响实验装置的改进[J]. 教学仪器与实验, 2009, 25(4): 30-31.