

2012 年第廿三屆國際生物奧林匹亞競賽

-- 實驗試題(II)

中華民國生物奧林匹亞競賽代表團

實驗二：微生物學 & 生化學(續)

任務二：一個胺基酸的滴定(50 分)

【背景知識】

胺基酸是有機分子，同時擁有羧基 (carboxyl group) 和胺基 (amino group)。表 1 秀出 20 種胺基酸，細胞用其來建構成千上萬的蛋白質。大部分的標準胺基酸為雙氫離子可解離的分子，因為他們有兩個可以解離的氫離子：一個在胺基，另一個在羧基；側基 (R group) 則沒有可解離的氫離子。請回想：對一個 HA 的酸來說，平衡狀況下之 HA 的解離常數以此表示：

$$K_a = [H^+][A^-] / [HA]$$

酸之 pK_a 的酸強度以此表示：

$$pK_a = -\log K_a$$

在滴定一個雙氫離子可解離的胺基酸時，滴定曲線將有兩個步驟：當較酸之羧基 (較小之 pK_{a1}) 和較不酸之胺基 (pK_{a2}) 依序失去他們的氫離子時。此外，分子淨電荷為零時之溶液 pH 值即稱為該分子的等電點 (pI)。等電點 (pI) 是一個用於分析和純化分子的有用常數。等電點 (pI) 可以按照負電性 pK_a 和正電性 pK_a 間之滴定曲線的曲折變化，憑經驗來測定其數值。

兩個解離步驟之明確的 pK_a 值，可以從每個滴定步驟之滴定中點推得。其方程式 (Henderson- Hasselbach equation) 以此表示：

$$pH = pK_a + \log \{ [A^-] / [HA] \}$$

pK_{a1} 為羧基的 pK_a ，是酸性基團被滴定的中點。因此方程式可變成： $pH = pK_a$ 同樣的， pK_{a2} 為胺基的 pK_a ，也可以按此被測定。本實驗，你將滴定一個未知的胺基酸 Z，並且得出它的等電點 pI、它的 pK_{a1} 和 pK_{a2} 。

【實驗步驟】

1. 填充標準氫氧化鈉溶液至滴定管中。紀錄標準氫氧化鈉溶液之濃度至答案卷上。
2. 以玻璃吸管吸取 25 ml 的未知胺基酸溶液 Z 至 100 ml 的乾淨燒杯。
3. 小心地將 pH 電極和一個攪拌子放至胺基酸溶液中。pH 電極必須足夠地伸入溶液中，但是不可碰觸到攪拌子或燒杯。夾住 pH 電極並調整位置，以免攪拌子在旋轉時打到電極。不要碰觸酸鹼度計的校正鍵 (CALIBRATION)。

4. 滴定 1：以去離子水浸洗 pH 電極。以一張 Kimwipe 拭紙，輕輕的吸乾 pH 電極。加入氫氧化鈉之前，請讀取未知胺基酸溶液 Z 的 pH 值。接著以滴定管內的氫氧化鈉滴定胺基酸溶液。每次加入大約 1 ml 的氫氧化鈉至胺基酸溶液中。請在每次加入 1 ml 的滴定液之後，紀錄已加入之氫氧化鈉的精確體積，以及溶液的 pH 值至**答案卷**上。
- 持續滴定與紀錄，直到大約 25 ml 的氫氧化鈉被加至溶液中。
5. 重複此滴定實驗（滴定 2）：以去離子水浸洗 pH 電極。以一張 Kimwipe 拭鏡紙，輕輕的吸乾 pH 電極。重新將標準氫氧化鈉溶液注入滴定管中，並且重複步驟 2 到步驟 4。

問題 2.1 (每小題 3 分 ×3，共 9 分)

表 1 秀出 20 個標準胺基酸的化學結構。參照這些結構，分別畫出甘胺酸 (Glycine)、脯胺酸 (Proline) 和天門冬醯胺酸 (Asparagine) 之所有可能的解離結構。

問題 2.2 (每小題 3 分 ×2，共 6 分)

進行兩次滴定时，請紀錄加入之氫氧化鈉的體積(ml)和觀察到之未知胺基酸的 pH 值。

問題 2.3 (每小題 5 分 ×2，共 10 分)

請將你兩次滴定所得到的數據，分別畫於**答案卷**所提供的圖 1 和圖 2 (Y 軸為 pH 值，X 軸為氫氧化鈉的體積)。

問題 2.4 (每小題 2 分 ×2，共 4 分)

從你的滴定曲線，找出等電點 (pI)，並且標示於每一個圖上。

問題 2.4.1 (2 分)

你得到的平均 pI 值為何？

問題 2.5 (每小題 4 分 ×2，共 8 分)

找出並標示出每一個圖上的 pK_{a1} 和 pK_{a2}

問題 2.5.1 (每小題 2 分 ×2，共 4 分)

pK_{a1} 的平均值為何？ pK_{a2} 的平均值為何？

問題 2.6 (5 分)

0.9210 克的未知胺基酸 Z 被溶解於 80 ml 的去離子水，請計算出未知胺基酸 Z 的分子量。注意：為了讓一開始時之胺基酸是處於完全接上氫的狀況，鹽酸溶液已經被加在樣品當中了。這相當於 3.2 ml 的氫氧化鈉溶液。因此為了決定達到等電點所需之實際氫氧化鈉的莫耳數，請從達到第一個滴定終點的氫氧化鈉體積扣除 3.2 ml。

問題 2.7 (2 分)

依據表二，請鑑定出胺基酸 Z 為何？

- a. 甘胺酸 b. 脯胺酸 c. 天門冬醯胺酸 d. 酪胺酸 e. 色胺酸

表 1：20 個標準胺基酸的化學結構

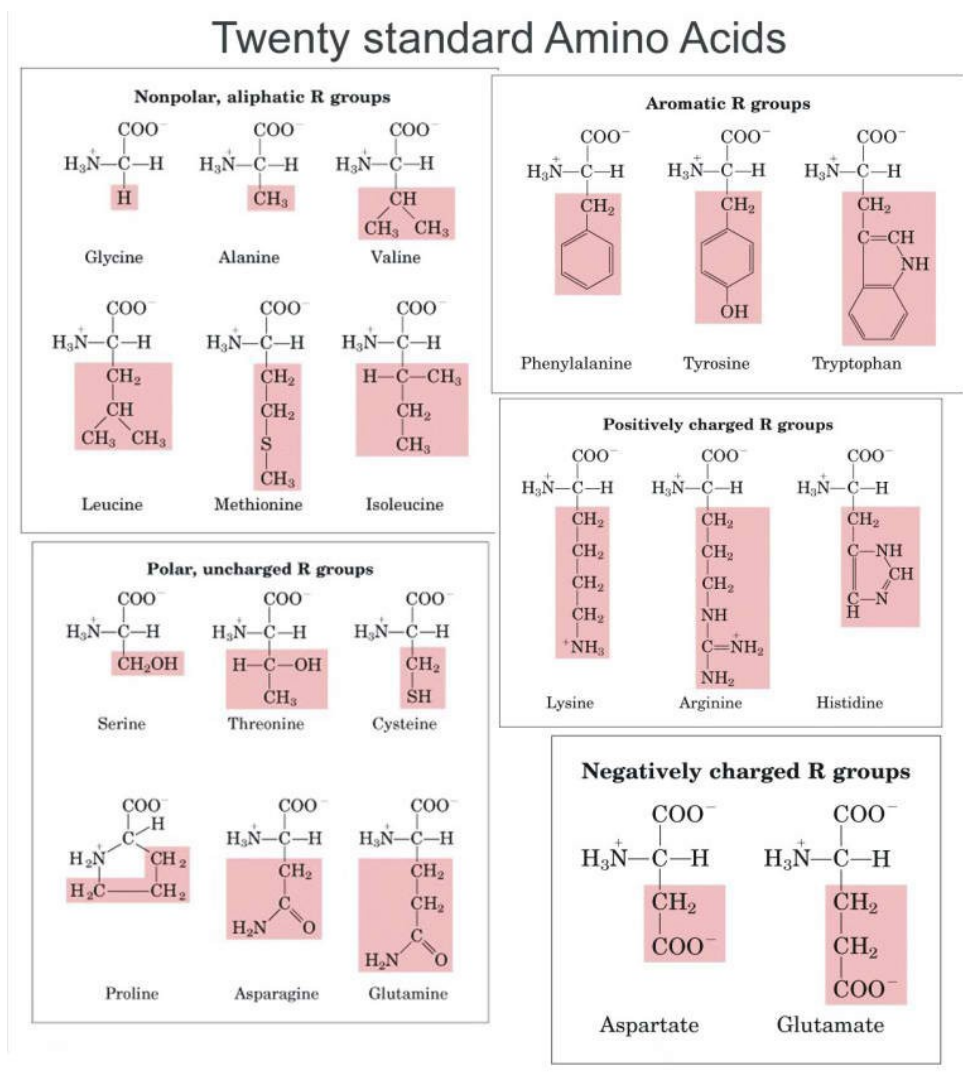


表 2：胺基酸的分子量

Amino acid 胺基酸	MW (g/mole)分子量
Glycine 甘胺酸	75
Proline 脯胺酸	115
Asparagine 天門冬醯胺酸	132
Tyrosine 酪胺酸	181
Tryptophan 色胺酸	204

實驗三：植物多樣性、解剖及生理學

總分：100 分

總操作時間：90 分鐘

【實驗材料與器材】

第一部分：植物多樣性及解剖學

Materials and equipment	Quantity	Unit
四種小苗 A, B, C and D (置於塑膠杯中)	1	標本
種子/繁殖體 1 ~ 7 (置於有編號的塑膠袋中)	1	標本
標本 E (置於有編號的塑膠袋中)	1	標本
刀片(用於種子 3 及 5)	1	片
剪刀(用於種子 4 及標本 E)	1	把
小型放大鏡	1	Piece 支

第二部分：植物解剖及生理學

Materials and equipment	Quantity	Unit
葉片 L (置於 L 培養皿中)	2	個
莖段 S (置於 S 培養皿中)	2	個
濃鹽酸 (放在燒杯內且標示 H 的瓶中)	1	瓶
染劑 (標示為 P 的瓶中)	1	瓶
水 (洗瓶中)	1	瓶
濾紙	2	張
鑷子	1	支
刀片	2	片
塑膠滴管	1	個
裝了水的培養皿 (標示為 W)	1	個
培養皿(標示為 LL,LU 及 SS 並有正確的考生編號)	3	個
小燒杯	1	個
載玻片	3	片
蓋玻片	3	片
光學顯微鏡	1	台

第一部分：植物多樣性及解剖學**A 部分：小苗形態(總共 14.25 分)**

問題 1.1 (每小題 0.5 分, 共 8 分, 繪圖清楚程度 2 分; 保持標本完整、未遭破壞 2.25 分)

在答案紙上的對應方格中, 分別畫出小苗 A-D 的簡圖, 用下列所示的英文字母(a~e)來標示出適當構造, 並將該小苗沒有的構造, 填在該方格下方橫線上。

- a. 子葉 b. 上胚軸 c. 下胚軸 d. 葉片 e. 種皮

B 部分：種子形態及解剖學(總共 27.25 分)

前題所用的小苗分別來自種子 1-4

問題 1.2 (每小題 0.25 分, 共 2.75 分)

在答案紙上的對應方格中, 分別畫出整個種子 1-6 的簡圖, (注意: 不用畫種子 7; 種子 5 的種皮已經被移除), 用下列所示的英文字母(a 及 b)來標示出適當構造, 並將該種子沒有的構造, 填在該方格下方橫線上。

- a. 種皮 b. 連接在胚珠柄的位置

問題 1.3 (每小題 0.5 分, 共 12 分, 繪圖清楚程度 1 分)

在畫完每個種子的外形後, 將種子縱切, 在答案紙上的對應方格中, 分別畫出種子的縱剖面圖, (注意: 部分種子已先幫你切好了; 種子 5 的種皮已經被移除), 並用下列所示的英文字母(a ~ d)來標示出適當構造

- a. 子葉 b. 養分儲存處 c. 下胚軸 d. 種皮

問題 1.4 (每小題 0.5 分, 共 11.5 分)

在答案紙上的表格中填入 Q1.3 所用的種子各構造(a~d)之染色體套數(1N, 2N or 3N)

C 部分：榕屬植物繁殖體(散播單位) (5 分)

問題 1.5 (1+1+3 分, 共 5 分)

將標本 E 作縱切, 先畫出此繁殖體(散播單位)的縱切面, 再畫出一小部分放大圖指出下列微細部分(a ~ c)

- a. 果實 b. 種子 c. 柱頭

D 部分：種子及小苗的功能、生態及親緣關係(13.5 分)

問題 1.6 (每小題 0.5 分 ×9, 共 4.5 分)

根據在以上 A, B and C 三項中的觀察, 與答案紙上所提供的表格, 寫出該子葉的主要功能: P 代表光合作用或是 S 代表儲存養分, 以及種子可能萌發型式: O 代表種子可進入休眠或是 R 代表種子不會進入休眠。

問題 1.7 (每小題 1 分 ×5，共 5 分)

根據以上表格及你所畫的圖，判斷下列敘述的真(✓)或偽(✗)。

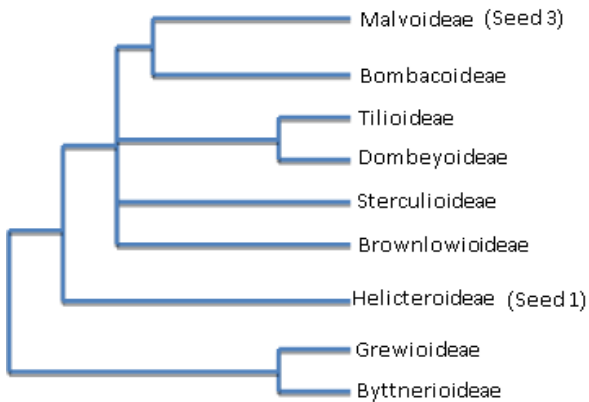
- a. 所有熱帶植物皆為種子不休眠型
- b. 裸子植物大多具有 2 片子葉
- c. 子葉功能可顯示植物有親緣關係之重要特徵
- d. 同科植物的種子大小差異很大，且可能不會是顯示科內親緣關係之重要特徵
- e. 大型種子可能對某些生長在熱帶雨林之植物是有利的

問題 1.8 (每小題 1 分 ×4，共 4 分)

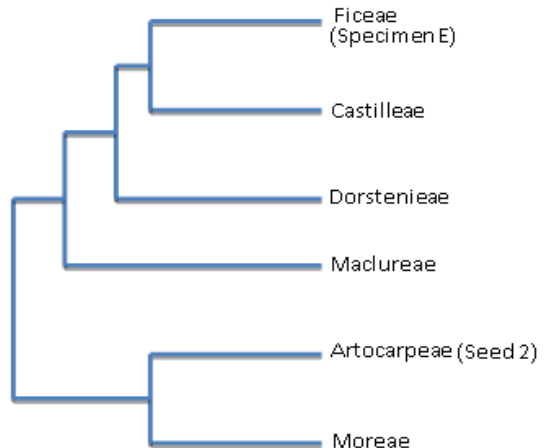
在下一頁的圖分別為錦葵科(Malvaceae)與桑科(Moraceae)親緣關係樹、及種子植物之簡化親緣關係樹。根據此資訊以及在本實作中你所觀察的標本，判斷下列敘述的真(✓)或偽(✗)，或用(-) 代表證據不足以判斷，請在答案紙上以適當符號標示。

- a. 大型種子分別在多個不同支系中出現
- b. 大型種子在某些支系中已經重複演化過多次
- c. 相對於溫帶植物，不休眠型的種子與熱帶植物比較有相關
- d. 裸子植物不能產生與動物傳播有關的多汁構造，因為這些植物沒有子房

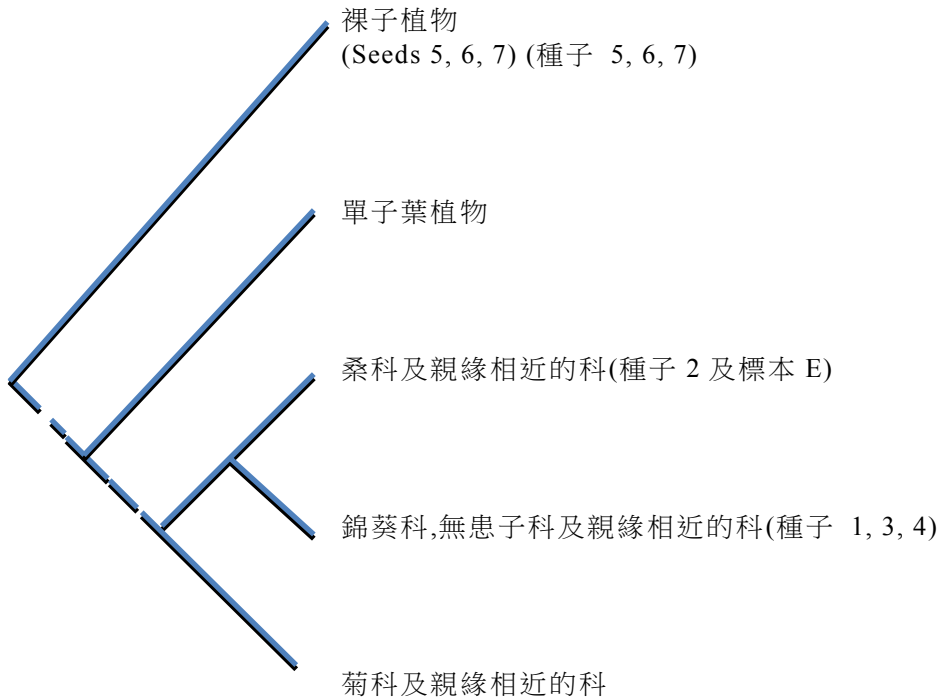
Phylogeny of Malvaceae
錦葵科親緣關係樹



Phylogeny of Moraceae
桑科親緣關係樹



Simplified phylogeny of seed plants 種子植物之簡化親緣關係樹



第二部分：植物解剖及生理學(40 分)

A 部分：某植物莖的解剖學(13 分)

【步驟】

1. 用刀片將莖橫切(盡可能切薄)
2. 將切下的切片浮在裝水的培養皿 W 中
3. 在載玻片加一滴水並取最好的切片放在玻片中央
4. 加一滴 phloroglucin 染劑(P)在橫切切片上，再加一滴濃鹽酸(H) (注意：小心使用強酸)
5. 等一分鐘，然後以濾紙將多餘染料吸掉
6. 蓋上蓋玻片，在光學顯微鏡下以低倍(4×)物鏡觀察

在答案紙上回答下列問題

問題 2.1 (1 分)

S 為單子葉或雙子葉植物的莖？用 M 代表單子葉；D 代表雙子葉

問題 2.2 (1 分)

此莖切片中有髓嗎？以(✓)代表有；(✗)代表無

問題 2.3 (1 分)

維管束位於此莖中的何處？以 C 代表中央；P 代表近邊緣

問題 2.4 (每小題 0.5 分 ×3，共 1.5 分)

根據你的觀察，S 是灌木、喬木或草本植物的莖？在答案紙上分別以(✓)代表正確、(✗)代表錯

問題 2.5 (每小題 0.5 分)

在答案紙上以(✓) 標出下列哪個組織會染成紅色？

- a. 皮層 b. 內皮 c. 表皮 d. 韌皮部 e. 木質部

7. 當你完成 A 部分，將你作好的切片玻片放在標有 SS 的培養皿中，以作為評分之用。

問題 2.6 (8 分)

B 部分：探討葉片表皮及其生理學(17 分)

(i) 下表皮【步驟】

1. 以鑷子撕下葉片 L 的下表皮
2. 載玻片上加一滴水，將下表皮放在水中，再蓋上蓋玻片
3. 在光學顯微鏡 10×物鏡下檢視之

在答案紙上回答下列問題

問題 2.7 (2 分)

有看到氣孔嗎？以(✓)代表有；(✗)代表沒有

問題 2.8 (3 分)

測量 5 個可代表大部分細胞形態的表皮細胞之長度與寬度，10×物鏡下的目鏡測微尺之最 小刻度為 10 μm，計算其平均的長度與寬度，並填入表中。

4. 當你完成 B 部分 (i)，將你作好的表皮玻片放在標有 LL 的培養皿中，以作為檢查你的測量是否正確之用。

(ii) 上表皮【步驟】

1. 以鑷子撕下葉片 L 的上表皮，你可用之前使用的葉片，或再從培養皿 L 中取另一

新鮮葉片

- 載玻片上加一滴水，將下表皮放在水中，再蓋上蓋玻片
- 在光學顯微鏡 10×物鏡下檢視之

在答案紙上回答下列問題

問題 2.9 (2 分)

有看到氣孔嗎?以(✓)代表有; (✗)代表沒有

問題 2.10 (3 分)

測量 5 個可代表大部分細胞形態的表皮細胞之長度與寬度，10×物鏡下的目鏡測微尺之最小刻度為 10 μm，計算其平均的長度與寬度，並填入表中。

- 當你完成 B 部分 (ii)，將你作好的表皮玻片放在標有 LU 的培養皿中，以作為檢查你的測量是否正確之用。

問題 2.11 (每小題 0.5 分 ×3，共 1.5 分)

根據你在 B 部分(i)及(ii)的觀察，判斷下列敘述的正確(✓)或錯誤(✗)。

- 下表皮的氣孔較上表皮多
- 上表皮的表皮細胞較下表皮小
- 氣孔之間至少有一個表皮細胞將它們隔開

問題 2.12 (1 分)

根據你的觀察，判斷此植物為哪一類型? 在答案紙上的適當空格打鉤(✓)

- 水生植物
- 中生植物
- 旱生植物

問題 2.13 (每小題 0.5 分 ×5，共 2.5 分)

下列有關氣孔構造、功能及發育之敘述，判斷其真(✓)或偽(✗)

- 氣孔由一對高度特化的保衛細胞所構成，且通常被一對較大的副衛細胞所包圍
- 保衛細胞與其他表皮細胞的顯著差別在於保衛細胞具有葉綠體
- 保衛細胞的葉綠體不同於葉肉組織的葉綠體：保衛細胞的葉綠體沒有基粒(grana)
- 任何葉片表面的氣孔數目是由基因調控，不會因任何環境因子而改變
- 氣孔的發育與細胞的不對稱分裂有關

(待續)