

有關國中生物實驗“糖測定液” 作用之解釋

國立臺灣師範大學生物系 王月雲

現行國中生物教材中，試驗“種子萌芽時養分的分佈”，使用“糖測定液”以測定糖分。通常測定糖分用本氏液，在該實驗中，為何改用糖測定液？因本氏液在實驗過程中要加熱，但是萌芽的種子不能加熱，故改用糖測定液應為權宜之計。這種試劑可用以測定細胞呼吸，當種子萌芽時，子葉中的澱粉必須先水解為葡萄糖，種子才能進行呼吸作用。由此觀之，細胞進行呼吸時必定有糖分存在，故滴加這種試劑也可以顯示有無糖分。

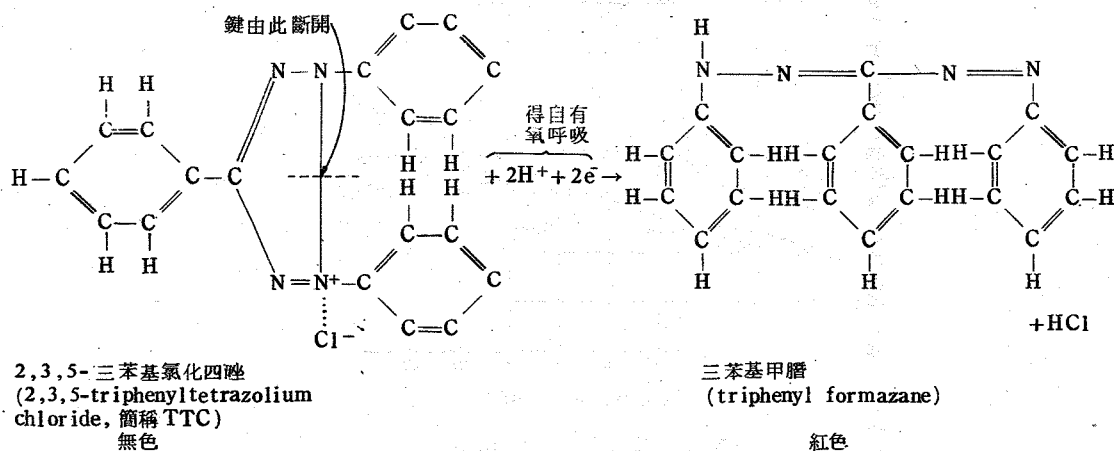
此藥原名為 2, 3, 5, Triphenyl-tetrazolium chloride，中名為“氯化四唑”或“四氮五環素”。它為白色粉末，通常裝於黑色玻璃瓶內，在室溫下可存放數年，若藏放冰箱內可保存更久。非

不得已；儘量不要買配好的溶液，因其甚易變質，若變成粉紅色時，即已失去效用。國內化學藥品代理商均有現貨，價格並不貴。

本藥品使用濃度為 0.1% ~ 0.5%；即 0.1 克 ~ 0.5 克藥粉溶在 100 ml 蒸餾水中。此藥應在使用時始行配置，配置後溶液應盛於褐色玻璃瓶中，若用透明玻璃瓶則需外包鋁箔，在低溫暗處環境下，可保持一星期左右，使用前最好先檢查藥品色澤。

本藥品之主要作用原理是“氧化還原反應”；因此儘量不要任其與空氣中的氧發生作用。實驗時，使用量必須蓋過組織面，組織不能暴露空氣中。

本藥品之詳細作用機制如下圖：



圖中 2H^+ , 2e^- 是細胞呼吸作用發生去氫氧化作用時所放出，由於在活細胞內有去氫酶 (Dehydrogenase)，進行去氫作用，放出 2H^+ 及 2e^- ，此 H^+ 及 e^- 與氯化四唑作用，即可使無色的氯化四唑還原為赤色的甲臍 (Formazene)。

根據上述的作用機制，本試劑可應用於檢定種子活力及估計種子發芽率。因種子的活力是用肉眼所看不見的，要檢定其活力通常需用發芽實驗求其發芽率。但有些種子有休眠現象，例如新採的蘋果種子需在 $5^\circ\text{C} \sim 10^\circ\text{C}$ 下先處理三個多月才會發芽，這種種子不能在短時間內靠實際的發芽實驗檢定活力，唯有靠快而準確的檢定方法——利用氯化四唑溶液檢定。因為有發芽活力的種子雖然在休眠期，但仍不斷進行緩慢的呼吸作用，也可放出 2H^+ , 2e^- 。一般檢定方法如下：將種子泡水一段時間（因種子種類不同，水溫不同，其時間也各有差異，如綠豆種子在溫水 35°C 泡約 3 小時。），胚就開始活化，去其種皮，置于錶玻璃內加入此試劑後，約 10 至 15 分鐘，可在種子的胚處先發現紅色。如此由一批種子中任意取出五十顆種子，用上法處理，若有三十顆種子得正反應，便可估計其發芽率為 60%，故毋須下土播種即可檢定，既省時又省力。此外也可測知那些細胞生長較旺盛——例如檢查馬鈴薯塊莖組織中芽眼及非芽眼組織，便可發現何者先變紅，判斷那部份的組織生長較旺盛。

此外需控制浸泡豆子的時間；由於各種種子的種皮厚薄不一，個別差異很大，實驗時若不易買到蠶豆種子；可用常見較大型的豆類種子；例如黃豆、菜豆、花豆或綠豆均可。控制浸泡豆子

的時間，要注意水溫及室溫等條件。其方法如下：將欲試用的種子泡水，記錄當時水溫、室溫及時間，每隔半小時取四至五顆種子出來檢驗，要能控制在種子內胚的部位變紅而其他部位都不變紅的條件最理想，此時學生可得明確概念。因為泡水過久則子葉所貯存的澱粉已被分解為葡萄糖並且正進行呼吸作用了，所以此時測定糖分不但在胚的部位不顯著，反而子葉顯色比胚還要深，易生誤解。

當剝離種皮或子葉時；切勿傷及種子的幼根、幼芽及子葉，因受傷的傷口也會跟氯化四唑溶液起反應。

有關種子發芽的內部生理，簡述如下：一般種子若能發芽，其胚已成熟了。此時泡水幾小時後，胚有了充足水分及氧，胚就活化了，並分泌一些激素，例如吉貝素 (Gibberleins) 等，吉貝素將促使種子內的糊蛋白層 (Aleurone layer) 產生一系列的水解酶，進行水解作用。如 α -澱粉酶 (α -Amylase)，蛋白酶 (Protease)，脂質酶 (Lipase)，及磷酸水解酶 (Phosphatase) 等。其中 α -澱粉酶可將貯存在子葉或胚乳中的澱粉分解產生葡萄糖，葡萄糖就可再進行糖解 (Glycolysis)，克氏循環 (Krebs's cycle)，及電子傳遞作用，如此發生了一連串化學反應產生大量高能化合物—ATP，供種子萌發時所需能源。此外蛋白酶，脂質酶及磷酸水解酶則分別將種子內的蛋白質、脂質、磷酸化合物分解為胺基酸、脂肪酸及甘油、無機磷酸鹽類，這些水解產物一方面可供種子萌發形成胚根、胚芽時所需的原料。另一方面可供給細胞分裂生長所需的能量。

□