

2022 年中華民國生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

第 1 試場實作

生物化學實驗

注意：操作時間有限，請善用等待實驗作用的時間。

※ 實驗所需要的器材及藥品，都已放在桌上，請按照下面的清單清點。若有缺少請舉手告訴評審老師。實驗完畢後，請將用過的器材清洗乾淨並放置整齊。

實驗器材與試劑：

器材	數量	試驗與實驗材料	數量
微量分注器 P20	1 支	丙酮 (acetone)	1 管
微量分注器 P1000	1 支		
20 μ L 微量吸管尖	1 盒	己烷 (hexane)	1 管
1000 μ L 微量吸管尖	1 盒	樣品 A	1 管
微量離心管	8 管	樣品 B	1 管
防爆夾	3 支	樣品 C	1 管
離心機	一台	薄層層析片	1 張
展開槽 (500mL 燒杯)	1 槽	尺	1 隻
震盪混合機	1 台	鉛筆	1 隻
油性筆	1 隻	計算機	1 台
加熱器 (乾浴槽)	共用	膠帶台	1 台

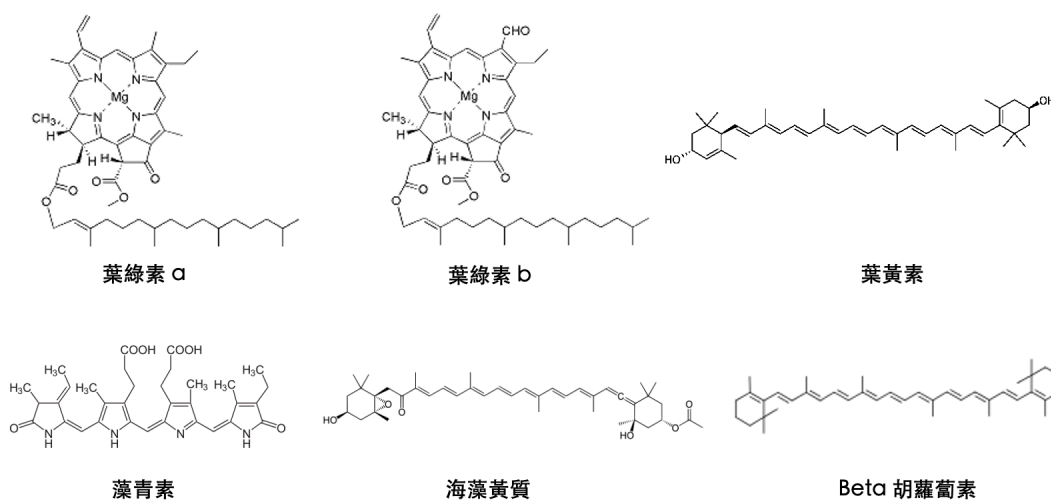
※ 請注意：

1. 桌上的材料及器材用完後，將不再補充。
2. 本試卷(含封面、試題卷)共 6 頁，於交卷時全部繳回。
3. 作答時間共為 90 分鐘
4. 請於本卷上作答，試題答案可寫在試卷背面，但請註明並標上題號。

一、 實驗主題：光合色素

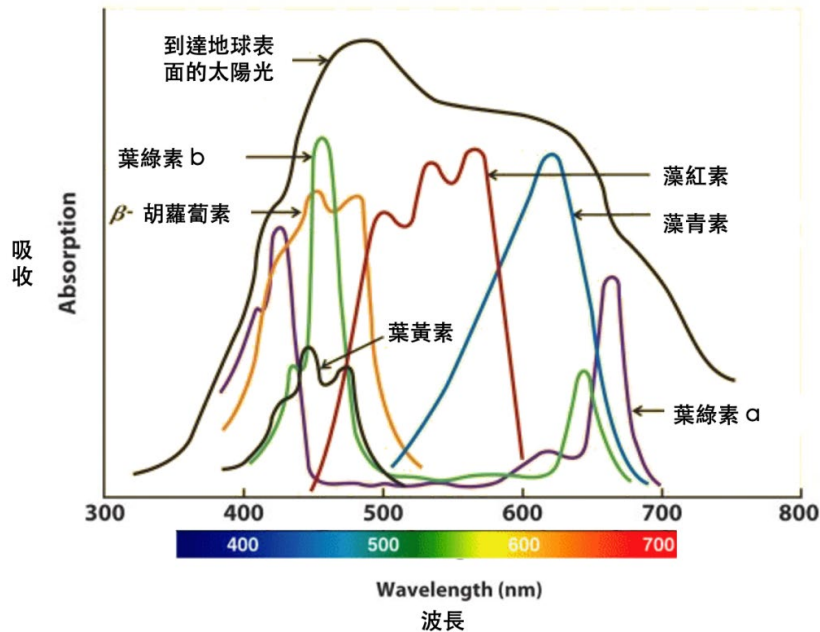
地球上許多生物都能進行光合作用，最早的光合作用源自於細菌。1988 年諾貝爾化學獎頒給 Deisenhofer, Huber 與 Michel 三位德國科學家，表彰他們對於紫細菌 (purple bacteria) 光合作用機制的貢獻。紫細菌的細胞膜上有細菌葉綠素 (Bacteriochlorophyll)、脫鎂細菌葉綠素 (Bacteriorhodopsin) 以及一些類胡蘿蔔素。這些色素會與一些穿膜蛋白質結合，形成捕捉光能的天線或是轉換光能的光反應中心。但是根據科學家的研究，不同的生物會採用不同的光合色素。常見的光合色素包含葉綠素 a、葉綠素 b、葉黃素、藻膽素、藻青素以及海藻黃質等等。

細胞決定選擇哪些光合色素，一方面與演化來源有關。例如藍綠菌與紅藻都含有葉綠素 a 以及藻青素，也因此紅藻的葉綠體被認為是由藍綠菌經由內共生演化而來。綠藻與陸生植物都含有葉綠素 a 與葉綠素 b。還有一類包含矽藻與褐藻則是富含葉綠素 a、葉綠素 c 與海藻黃質。另外，光合色素也會與生物的生長棲地有關。例如紅藻可以在海洋較深的水層中生長，長波長的光在此處較少。因此會含有較多藻膽蛋白這種能捕捉較短波長光的蛋白質，而藻紅素就是其中的一種。



圖一：常見光合色素的結構

從化學結構來看，光合色素都具有許多共軛雙鍵，這使得它們容易吸收光能。然後再加上一些官能基的變化，可以調整各種色素的最大吸收波長。例如葉綠素 a 與葉綠素 b，兩者在結構上非常相似，只是葉綠素 b 多了一個醛基 (圖一)。最後就造成兩者的最大吸收波長有所差異 (圖二)。另外，光合色素也會帶有一些能幫助與蛋白質結合的結構，例如長的碳氫鏈提供疏水作用力，或是能與蛋白質形成共價鍵的官能基。



圖二：常見光合色素的吸收光譜

要分析細胞內的各種光合色素，第一個步驟就是要將各種色素分離開。薄層層析法是常用的實驗方法。各位都會拿到一片由矽膠均勻塗佈的一片薄鋁片，此矽膠層稱為「靜相」。之後我們會準備一個展開液作為「動相」。透過各種色素在靜相與流動相之間的作用力差異將各種色素分離。我們可以計算每一個成分在薄層層析移動的距離，除以展開液前緣移動的距離，得到一個 R_f 值（滯留值）。如果在相同的實驗條件下，相同的成分應該會有一樣的 R_f 值。如果我們手上有某一色素的標準品，就可以利用比對 R_f 值來確定細胞中擁有哪一種光合色素。

本次實驗，各位將取得三種藻類的組織樣品，分別是紅藻、綠藻以及矽藻。請依照提示萃取藻類的光合色素，以薄層層析分析所含有的光合色素，判斷各個樣品分別屬於哪種藻類，以及回答實驗相關的問題。

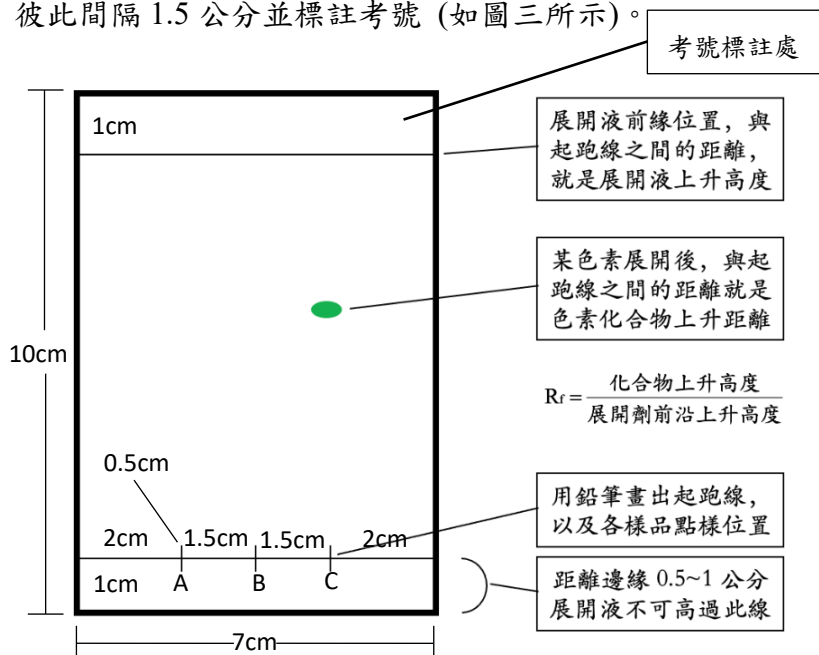
二、實驗操作：(10 分)

2-1 藻類樣品處理：

1. 先觀察三個 A、B、C 藻類樣品的外觀，在第 5 頁做記錄。
2. 分別加入 1ml 丙酮，緊閉上蓋並裝上防爆夾，震盪混合機震盪 2 分鐘。
3. 將樣品放入 80 度加熱器，加熱 5 分鐘。
4. 加熱完後將樣品插入冰桶冷卻 1 分鐘，再以震盪混合機震盪 1 分鐘。
5. 取下防爆夾，將樣本對稱放置入桌上型離心機中，在室溫下離心 5 分鐘（小烏龜離心機）。
6. 離心完後，使用微量分注器 P1000，吸取 700 μL 上清液。
7. 觀察上清液與沈澱物的顏色並在第 5 頁做紀錄。

2-2 薄層層析色素分析:

1. 取一片薄層層析片，白色面朝上，在短邊的一端距離邊緣 1 公分處，用鉛筆畫一條線作為起跑線。然後在起跑線上，縱向劃 3 條短線，長度約 0.5 公分，彼此間隔 1.5 公分並標註考號 (如圖三所示)。



圖三：薄層層析示意圖

2. 將步驟 2-1-6 的上清液樣品，分別用微量分注器 P1000 取 100 μL 裝到新的微量離心管(標示 A、B、C)中備用。
3. 點樣：在薄層層析片上的點樣位置，各組用微量分注器 P20 取 4 μL x 20 次 (共 80 μL) 的上清液點上去。

● 提示

- i. 上清液點上去後會先擴散，然後丙酮揮發後即可重複點樣
 - ii. 為了讓薄層層析的解析效果更好，樣品點的直徑不可超過 0.6 公分
 - iii. 在起跑線畫 3 個點樣位置，分別用鉛筆標示 A、B、C 樣品。
4. 配置展開液：取 8 ml 丙酮及 12 ml 己烷混合，並倒入展開槽。
 5. 將點好樣品的薄層層析片放入展開槽，注意展開液液高不可超過起跑線，在展開槽上方用保鮮膜覆蓋。
 6. 約 20-25 分鐘後，當展開液前緣距離上方約 1 公分時，即可結束。用鉛筆標示前緣位置，取出薄層層析片後，等溶劑揮發乾燥後觀察結果。

三、實驗結果 (50 分)

1. 樣品觀察(9 分,每格 1 分)

	樣品 A	樣品 B	樣品 C
原本樣品顏色			
上清液顏色			
沈澱物顏色			

2. 點樣結果：你各組樣品點樣的直徑各是多少，並請簡單描述你點樣的過程。(12 分)

3. 請將薄層層析板用膠帶貼在下方，並計算各組樣品中所有綠色的色素之 Rf 值。

(9 分,每格 3 分)

	樣品 A	樣品 B	樣品 C
由上而下寫出樣品中含有的綠色色素 Rf 值			

請將薄層層析板用膠帶貼在下方：實驗操作成果(20 分)

四、問題回答 (50 分)

1. 哪個綠色的色素是所有樣品都有的 (請寫出它的 Rf 值)，你推測它是哪一種光合色素？(10 分)

2. 哪些色素對於橘黃色光的吸收能力最差((請寫出哪個樣品，Rf 值多少的色素)？(5 分)，你推測它是哪一種光合色素？(10 分)

3. 為何經過丙酮萃取後，尤其是紅色的色素，仍然大量存在於沈澱物中，請提出可能的解釋。(10 分)

4. 依照實驗的結果，請問樣品 A、B、C 各是哪一種藻類？(5 分) 你的判斷基準是什麼？(10 分)