

Datum: 30.6. 2003

Priimek in ime: _____

Vpisna številka: _____

1. 300 mg sojine moke suspendiraš v ekstrakcijskem pufru (skupen volumen suspenzije je 25 ml). Po končani ekstrakciji odvzameš 1,5 ml ekstrakta (suspenzije) in ga preliješ v 50 ml bučko ter razrediš z destilirano vodo. Nato narediš test encimske aktivnosti tripsina (tripsin+ substrat+ voda) in primerjaš dobljeno absorbanco po desetih minutah z meritvijo kjer si poleg tripsina in substrata namesto vode dodal 1,5 ml razredčenega ekstrakta. V epurveti kjer si imel samo tripsin in substrat je absorbanca pri 410 nm 0,48. V primeru, ko si poleg encima in substrata dodal še ekstrakt je absorbanca pri 410 nm 0,20!
- Izračunaj koliko tripsinskih enot vsebuje 1mg sojine moke (TIU/mg)! (18 %)

2. 15 ml sadnega soka naneseš na kolono napolnjeno z močno bazičnim ionskim izmenjevalcem Merc III. Nevezane komponente spreješ z vodo, vezane kisline pa v 100 ml bučko s 7,1 % natrijevim sulfatom in dopolniš do oznake. Od eluata odvzameš 4 ml in dodaš vse potrebne reagente (H_2SO_4 , glicerol, NH_4VO_3), tako, da je končni volumen 12 ml. Tako pripravljena raztopina ima absorbanco proti slepi probi 0,6. Vzporedno pripraviš tudi umeritveno krivuljo kjer odmeriš ustrezne volumne vinske kisline s koncentracijo 0,1 mg/ml (glej tabelo), dopolniš do 2 ml s 7,1 % natrijevim sulfatom in dodaš vse potrebne reagente, da je končni volumen 6 ml.

Dodatek stand. raztopine (0,1 mg/ml)	0,4 ml	0,8 ml	1,2 ml	1,6 ml	2,0 ml
Absorbanca pri 530 nm	0,18	0,41	0,62	0,79	1,0

Nariši graf in izračunaj masno koncentracijo vinske kisline v sadnem soku! (18 %)

3. Pojme na desni poveži z ustreznimi spojinami in ioni na levi strani glede na njihove lastnosti in uporabo pri vaji določevanja glukoze in saharoze v skupnem vzorcu! (12 %)

Cu_2O	reducent
Glukoza	oksidant
I_2^-	indikator (povzeto v v. v.)
$Na_2S_2O_3$	reducent
Škrob	oksidant
Cu^{2+}	reducent

4. Primerjaj metodi - določevanje saharoze po Schoof-Luffu z metodo določevanja škroba s 3,5-dinitrosalicilno kislino glede na naslednje kriterije:

- Način priprave monosaharida (4 %)
- Korekcijski faktor (ni vezan na razredčitev), ki ga moraš upoštevati, ko iz mase glukoze preračunaš maso disaharida oziroma polisaharida. Utemelji! (4 %)
- Samo meritev s pomočjo katere določimo maso ogljikovega hidrata v vzorcu! (4 %)

5. Pri določanju aktivnosti tripsinskega inhibitorja je pomembno, da v primeru dodanega ekstrakta izmerimo za 40 % do 60 % manjšo absorbanco (to dosežemo z razredčitvami). Kaj meniš zakaj je temu tako? Zakaj rezultat ne bi bil smiseln (primerljiv), če bi v primeru dodanega ekstrakta izmerili le npr. 5% absorbance brez dodanega inhibitorja! (8 %)

6. Ionski izmenjevalec Merc III smo pred nanosom vzorca spirali z raztopino razredčene očetne kisline. Pojasni kaj bi se zgodilo (kako bi to vplivalo na meritev - določena vsebnost vinske kisline v soku), če bi se zmožili in bi

7. Pri vaji določevanje aktivnosti polifenol oksidaze v krompirju smo opazili zmanjševanje reakcijske hitrosti (če smo hoteli določiti začetno hitrost smo morali risati tangento na krivuljo). Pojasni kaj je vzrok opažega pojava. (8 %)
8. V analizo dobiš vzorec mleka. Vzameš 2,5 ml mleka, dodaš ustrezno količino KOH in etanola ter hidroliziraš. Nato dodaš 3 ml vode ter 7 ml heksana. Od heksanske faze odvzameš 2 ml in z uporabo standardnih raztopin določiš, da je v 2 ml heksanske faze 145 μg holesterola.

Izračunaj:

- a) Na osnovi podatkov v nalogi izračunaj kakšna je vsebnost holesterola v 100 ml mleka? (8 %)
- b) Med vajo se nam je tako kot ponavadi mudilo, zato nismo počakali predpisanih 30 minut, da se razvije barva, ampak smo merili absorbcijo nastalega kompleksa (A^{550}) že po 10 minutah. Tudi pri pripravi umeritvene »točke« nismo bili najbolj načelni. Tu smo absorbcanco določali po 20 minutah. Kakšna je dejanska vsebnost holesterola v mleku, če je prirast absorbcance takšna funkcija časa kot je razvidno iz grafa? (8 %)

