

Pristopni kolokvij (Določanje aktivnosti polifenol oksidaze v krompirju)

Datum: 18.5.2006

Ime in priimek: Zigoro Kucer

93%

1. Za test encimske aktivnosti odpipetiraš v kiveto z dolžino optične poti 1 cm, 0,8 ml standardne raztopine substrata, 0,4 ml nerazredčenega krompirjevega ekstrakta, ki vsebuje 0,3 U/ml polifenol oksidaze, in dopolniš do končnega volumna 5 ml z ustreznim puflom. Do 30 sekund se absorbanca pri 475 nm zaradi nastalega o-kinona (molski absorpcijski koeficient je 5012 l·mol⁻¹·cm⁻¹) linearno povečuje s časom. Izračunaj kolikšna je absorbanca pri 475 nm po 30 sekundah. (50 %)

1U (enota encimske aktivnosti) je tista količina encima, ki pri izbranih pogojih reakcije pretvori 10⁻⁶ mol substrata v produkt v eni minuti

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

$$m = c \cdot V = 0,005$$

$$V = \frac{m}{c} = 0,5 \text{ min}$$

$$U/\text{ml} = \frac{U}{0,4 \text{ ml}}$$

$$5012 \frac{\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}}{\text{mol}} = \frac{m}{V} = \frac{0,06 \cdot 10^{-6} \text{ mol}}{0,005} = 0,000012$$

$$m = U \cdot 0,5 \text{ min} = 0,06 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}}$$

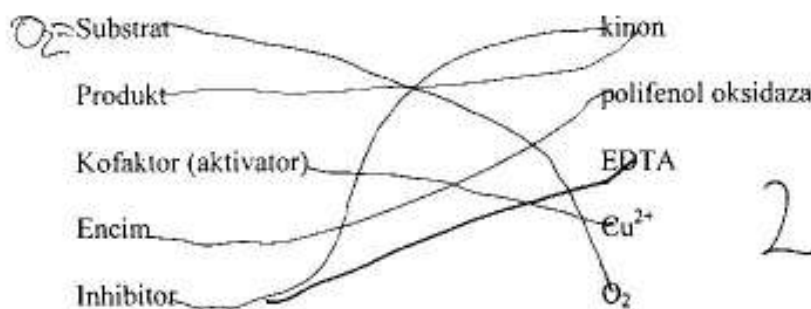
$$U = \frac{m}{V} = \frac{0,06 \mu\text{mol}}{0,4 \text{ ml}} = 0,15 \frac{\mu\text{mol}}{\text{ml} \cdot \text{min}}$$

$$A = 5012 \frac{\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}}{\text{mol}} \cdot 1 \cdot 0,000012 = 0,060144$$

2. Encimsko porjavenje je v živilski tehnologiji največkrat nezaželeno. Predlagaj tri neodvisne postopke s katerimi bi upočasnili oziroma preprečili encimsko porjavenje narezanega sadja in zelenjave in postopke na kratko tudi pojasni. (25 %)

vakuumsko pakiranje, s tem bi preprečili da bi kisik v okolju sprožil porjavenje
 antioksidativna sredstva preprečijo delovanje encima
 tako da so prisotnost kisika mi otežijo!!
 vakuumiranje
 ↓
 DENATURACIJA encima
 pri nizkih temperaturah
 ka delovanje
 22%

3. Pojme na levi poveži z ustreznimi pojmi na desni! (25 %)



21%

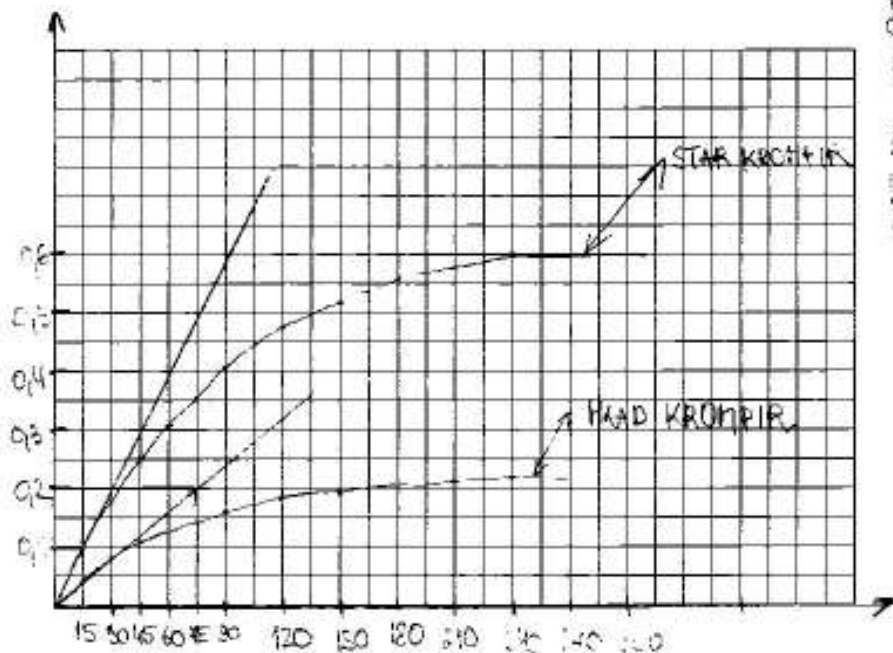
Poročilo (Določanje aktivnosti polifenol oksidaze v krompirju)

80%

Datum: 18.5.2006

Ime in priimek: Bojana Kladar

1. Nariš graf odvisnosti količine nastalega kinona od časa in izračunaj! Koliko enot encimske aktivnosti vsebuje 1 ml surovega ekstrakta (U/ml) mladega krompirja in koliko starega krompirja? (55%)



Star krompir $A = 0,1$
 $t = 15 \mu = 0,25 \text{ min}$
 $A = \epsilon \cdot l \cdot c$
 $c = \frac{A}{\epsilon \cdot l} = \frac{0,1 \text{ mol/l}}{5012 \text{ l} \cdot 1 \mu\text{m}} = 0,00001995$
 $N = c \cdot V = 0,00001995 \text{ mol} \cdot 0,2 \text{ ml} = 3,99 \cdot 10^{-6} \text{ mol} = 0,00399 \mu\text{mol}$
 $n = \frac{0,00399 \mu\text{mol}}{1,2 \text{ min}} = 0,333 \mu\text{mol/min}$
 $\frac{U}{\text{ml}} = \frac{0,333 \mu\text{mol}}{0,2 \text{ ml}} = 1,665 \text{ U/ml} \approx 1,7 \text{ U/ml}$
 1 ml je 2/4 U v starim krompirju

mlad krompir $A = 0,2$
 $t = 75 \mu = 1,25 \text{ min}$
 $c = \frac{A}{\epsilon \cdot l} = \frac{0,2 \text{ mol/l}}{5012 \text{ l} \cdot 1 \mu\text{m}} = 0,0000399$
 $N = c \cdot V = 0,0000399 \text{ mol} \cdot 0,2 \text{ ml} = 7,98 \cdot 10^{-6} \text{ mol}$
 $U = \frac{7,98 \cdot 10^{-6} \text{ mol}}{1,2 \text{ min}} = 6,65 \cdot 10^{-6} \text{ mol/min}$
 $\frac{U}{\text{ml}} = \frac{6,65 \cdot 10^{-6} \text{ mol}}{0,2 \text{ ml}} = 3,325 \cdot 10^{-5} \text{ mol/ml}$

55%

V mladen krompirju je 0,333 μmol

2. Pojasni zakaj je v pufer v katerem homogeniziramo dodan NaF (15%)

Zato da katalitično deluje in sicer preden pride do reakcije s surovo ekstraktom pa ti encimi katalitično delujejo. Dodamo krompirjev ekstrakt in ti encimi katalitično delujejo. 10%

3. Poglej na digram in napiši ob katerem času (meritvi) je hitrost reakcije največja! (15%)

Star krompir, mlad krompir, to je 0-25 s.

mlad krompir, 0-35 s

15%

ANTIOKSIDANT

4. Ko rastlino poškodujemo se sprožijo signali, ki privedejo do indukcije biosinteze polifenolov. Kaj meniš zakaj? (15%)

Zato ker rastlino poškoduje to stik s kisikom (kisik na površini delovanje polifenolov) in zaradi tega tudi nastanejo polifenoli. Nade karminjski ekstrakti delujejo na polifenole. Tvorijo se novi fenoli.

○

Tvorijo se novi fenoli

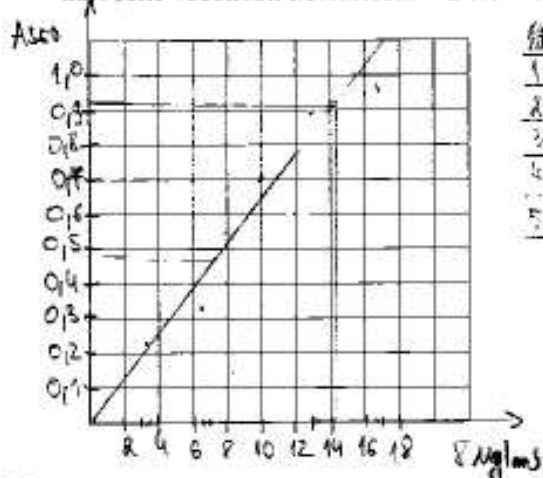
Poročilo (Določitev holesterola v mleku)

95%

Datum: 11.5.2006

Ime in priimek: Bajana Keser

Izračunaj vsebnost holesterola v mleku (mg/100 ml mleka) z 0,5 %, 1,6 % in 3,2 % maščobe. Razloži ali se določene vsebnosti holesterola v mleku z različnim deležem maščob skladajo s pričakovanji! (60 %)



Številka	Maščoba (mg/ml)	Asso
1	3,34	0,212
2	6,67	0,322
3	10,0	0,493
4	13,33	0,774
5	16,67	0,956

POVPREČNA DELEŽI DERIVAT

MLEKO	Asso
3ml { 0,5%	0,445
2ml { 1,6%	0,550
2ml { 3,2%	0,921

0,5% $\gamma = 7,12 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$
 $M_{\text{Hol}} = 7,12 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \cdot 6 \text{ ml} = 42,72$
 42,72 --- 3 ml
 71,4 --- 5 ml
 142,8 --- 2 ml
 100 ml

3,6 mg / 100 ml

1,6% $\gamma = 8,33 \mu\text{g}$
 $M_{\text{Hol}} = 8,33 \mu\text{g} \cdot 6 \text{ ml} = 49,98$
 49,98 --- 2 ml
 124,5 --- 5 ml
 124,5 --- 2 ml
 622,5 --- 100 ml

6,2 mg / 100 ml

3,2% $\gamma = 14,2 \mu\text{g/ml}$
 $M_{\text{Hol}} = 14,2 \mu\text{g/ml} \cdot 6 \text{ ml} = 85,2$
 85,2 --- 2 ml
 213 --- 5 ml
 213 --- 2 ml
 10650 mg / 100 ml

60%

Določene vsebnosti holesterola se skladajo s pričakovanji, bolj kot je mleko maščobno, več ima holesterola, saj je holesterol iz maščobe. Zato 0,5% mleko vsebuje samo 3,6 mg / 100 ml, 1,6% vsebuje 6,2 mg / 100 ml in 3,2% vsebuje 10,65 mg / 100 ml.

2. Predpostavi, da si epruveto z mlekom z 1,6% maščobe pred centrifugiranjem uravnovežili z

- a) 0,6 ml heksana
- b) 0,6 ml H₂O

Izračunaj kakšen je pravi rezultat v primeru a) in v primeru b)! (20 %)

b) Se mi spominam rezultat = $\frac{6,2 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$ ✓

20%

a) se spominam
 49,98 --- 2 ml
 139,44 --- 5,6
 139,44 --- 2 ml
 x --- 100 ml

Pravi rezultat 1,6% mleko bi vsebovalo $\frac{6,2 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$ - torej 6,2 mg holesterola na 100 ml mleka

$x = 6372 \mu\text{g} / 100 \text{ ml}$

3. Ali je holesterol vitamin? Pojasni. (10 %)

NE, ampak je potreben kar ni vitamini podobna D

5%

4. Ali holesterol uvrščamo med aromastke spojine (pomoč-benzen in derivato so aromatske spojine)? Utemelji. (10 %)

Molekula holesterola je sestavljena iz 4 in 6 členov, od tega so trije 6 členski - molen ni funkcionalni in zato holesterol spada pod ciklično spojine NI PA

AROMATSKA!!! ✓

10%

Pristopni kolokvij (Kvantitativna določitev holesterola v mleku)

Datum: 11.5.2006

Ime in priimek: Bojana Kezun

79/1

1. V analizo dobiš vzorec mleka. Vzameš 2,5 ml mleka, dodaš 2 ml KOH in 2 ml etanola ter hidroliziraš. Nato dodaš 3 ml vode ter 7 ml heksana. Od heksanske faze odvzameš 4 ml in z uporabo standardnih raztopin določiš, da je v 4 ml heksanske faze 270 µg holesterola. Koliko holesterola je v 100 ml mleka? (40%)

4 ml - - - 270 µg
 7 ml - - - x
 4 * 2,5 µg - - - 2,5 ml
 18900 µg - - - 100 ml

V 100 ml mleka je 18,9 mg holesterola.
 40%

2. Predpostavi, da si delal enako kot v prvi nalogi in dodal 7 ml heksana. Med ekstrakcijo je 0,8 ml heksana izparelo in šele potem si odpiptiral 4 ml heksana in določil, da je v teh 4 ml 270 µg holesterola. Koliko je holesterola v 100 ml mleka? (20%)

4 ml - 270 µg
 6,2 ml x
 418,5 µg
 418,5 µg - 2,5 ml
 x - 100 ml
 16740

V 100 ml mleka je 16740 µg ali 16,74 mg holesterola
 20%

2. Dejansko se ves holesterol ne ekstrahira v heksansko fazo in nekaj holesterola ostane tudi v vodni fazi. Predpostavi, da je razmerje molarnih koncentracij holesterola v vodni in heksanski fazi 1:5. Kolikšna je v tem primeru dejanska vsebnost holesterola v mleku. Vsi ostali podatki so enaki kot v prvi nalogi.

OPOMBA: heksan predstavlja organsko fazo, vse ostale raztopine pa vodno fazo (mleko, KOH, etanol, voda). (20%)

1:5

~~4 ml - 270 µg~~
~~7 ml - x~~
~~4 * 2,5 µg - 2,5 ml~~
~~18900 µg - 100 ml~~

270:6 = 45
 45 * 5 = 225

0%
 $C = \frac{m}{V}$
 $m = C \cdot V$
 $m = 225 \cdot 2,5$
 $m = 562,5$

4 ml - 225 µg
 7 ml - 393,75
 393,75 - - - 2,5 ml
 15750 µg - - - 100 ml

V 100 ml mleka je 15,75 mg holesterola.

3. Zakaj smo vzorec mleka kuhali v KOH? (10%)

Zato da smo razbili triglicerole, oz. da smo cepili estersko vez in razbili maščobe na maščobne kisline/holesterol. 9/1

4. Zakaj bomo heksan odparevali z dušikom in ne npr. s kisikom? (10%)

Holesterol ima 2 reaktivni mesti, če bi ga odparevali s kisikom bi se kisik vezal na reaktivne mesti. Zato heksan odparujemo. 6/4

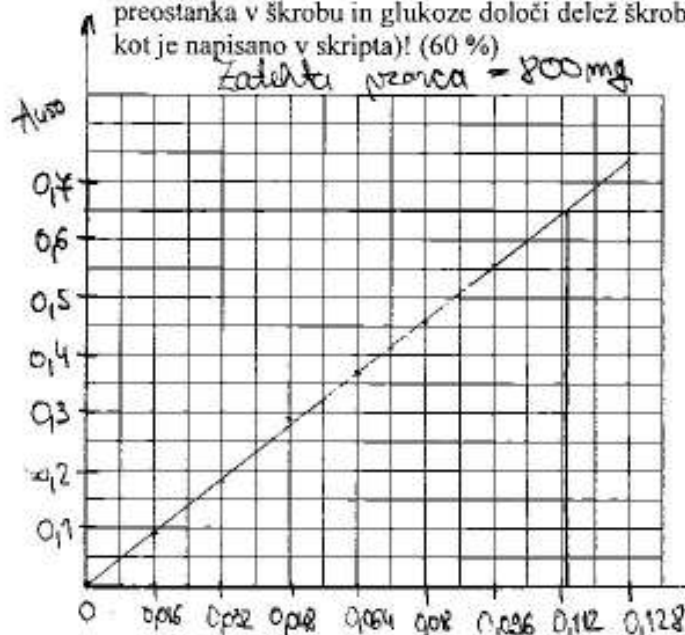
Poročilo (Določitev škroba v moki)

Datum: 4.5.2006

Ime in priimek: Krista Bojanc

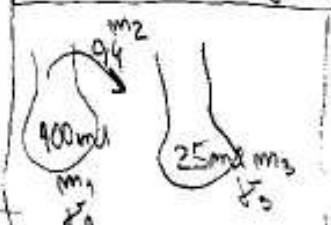
90%

1. Iz izmerjenih absorbanč pri 540 nm za raztopine znanih koncentracij glukoze nariši umeritveno krivuljo. S pomočjo umeritvene krivulje in ob upoštevanju razredčitve ter razmerja med molskima masama glukoze in preostanka v škrobu in glukoze določi delež škroba v moki (uporabi meritev, kjer smo postopek izvedli tako kot je napisano v skriptu)! (60%)



δ (mg/ml)	A_{540}
0	0.0
0.016	0.028
0.032	0.120
0.048	0.285
0.064	0.371
0.08	0.460
0.96	0.557

$A_{540} = 0.645$
 δ (mg/ml) = 0.113 mg/ml



$V_1 = V_2$
 $m_1 = \delta \cdot V_1$
 $m_1 = 7.06 \text{ mg/ml} \cdot 100 \text{ ml} = 706 \text{ mg}$
 $m_2 = m_1 \cdot \frac{V_2}{V_1}$
 $\delta_2 \cdot V_2 = \delta_1 \cdot V_1$
 $\delta_2 = \delta_1 \cdot \frac{V_1}{V_2}$
 $\delta_2 = 7.06 \text{ mg/ml} \cdot \frac{100 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} = 28.24 \text{ mg/ml}$
 $W = \frac{706 \text{ mg}}{800 \text{ mg}} \cdot 100 = 88.25\%$
 $W = 9.4\%$
 60%

2. Na vajah smo hidrolizo škroba izvajali na različne načine. Naš namen je bil, da ugotovimo pomen posameznih postopkov (dodatek kisline, segrevanje, prisotnost encimov) na uspešnost hidrolize. Napiši izmerjene absorbanče in komentiraj pomen posameznih postopkov za uspešen potek hidrolize! (40%)

	Dodatek HCl	Kuhanje	Encimska hidroliza	A_{540}
1.	✓	✓	✓	0.645
2.	✓	✓	✓	0.625
3.	✓	✓	✓	0.038
4.	✓	✓	✓	0.003 = 0
5.	✓	✓	✓	0.186
6.	✓	✓	✓	0.008 = 0
7.	✓	✓	✓	0.075
8.	✓	✓	✓	0.002 = 0

Le najpogostejša napaka pri tem vzorcu, vemo nič narediti, da bi sploh reakcija šlo potekla. Določimo samo moko in vode. Ni škroba v vzorcu, ni razgradnje zato je $A = 0!!!$
 Pri primerjavi 2. in 4. vzorca. V 4. vzorcu smo imeli samo HCl pri 80°C. Pri 2. vzorcu smo imeli samo HCl pri 80°C. Pri 2. vzorcu smo imeli samo HCl pri 80°C. Pri 2. vzorcu smo imeli samo HCl pri 80°C.

Prva vzorca potekla je kuhanje pripravljeno ka delovanje HCl take in prvotni vzorec je absorbanca manjša kot pri 2. to pa zato, ker je se encim pripravljeno k malo in je absorbanca. Encim je pri pripravljeno zelo malo 24. pri razgradnji škroba.
 Vzorec 5 si pa lahko razložimo tako, da smo moko in vodo dali skupaj, moko je natriknilo, pride do hidratacije moki so lažje dostopne, in encim opravi svojo delo. Absorbance je večja, ni tako visoka, le primerjamo z 5. vzorcem 6. in 7. vzorec ugotovimo, da je samo kuhano in efimo, pri njih absorbance 0, nič se ni zgodilo in tudi pri opravi samo encimske hidrolize brez kuhanja ne more tako dostopne in je absorbance manjša.
 Pri vzorcu 3. je absorbance manjša kot pri vzorcu 7. ker smo imeli samo encim, to je nezjutno, eden ker smo vzorcu 3 dodali kisline in baze, pripravljeno se je ionski jontost, ki je uplinjala moko slabi delovanje encima.

30%

Dodatek k vaji določevanje škroba v moki

*Kiara
Korun*

Optimalno izvajamo hidrolizo škroba tako kot je napisano v skripta.

Na vajah bomo pri določenih skupinah izpustili posamezne stopnje v postopku hidrolize škroba na glukozo, da bomo lahko ovrednotili pomen posameznih stopenj (dodatek kisline, kuhanje, encimska hidroliza).

Vajo bomo izvajali na 8 načinov

Za RACON	Dodatek HCl	Kuhanje	Encimska hidroliza	A ⁵⁴⁰	
1. Skupina (ZATEHTA 1)	✓	✓	✓	0,1645	NA SOČASE DELAVANJE ENCIMA VSE VSE
2. Skupina (ZATEHTA 1)	✓	✓ <i>poteci, temperaturo, aktivator</i>	✓	0,1635	
3. Skupina (ZATEHTA 2)	✓		✓	0,032	- vire - vire - vire
4. Skupina (ZATEHTA 2)	✓	<i>pri sobni temperaturi</i>	✓	0,025	
5. Skupina (ZATEHTA 3)		✓	✓	0,126	
6. Skupina (ZATEHTA 3)		✓	✓	0,006	= 0
7. Skupina (ZATEHTA 4)			✓	0,1075	
8. Skupina (ZATEHTA 4)			✓	0,002	= 0

ZATEHTA 1

1. SKUPINA dodamo kislino, kuhamo, po nevtralizaciji dodamo encime
2. SKUPINA dodamo kislino, kuhamo, po nevtralizaciji nato namesto encimov dodamo vodo

ZATEHTA 2

3. SKUPINA dodamo kislino, ne kuhamo, po nevtralizaciji dodamo encime
4. SKUPINA dodamo kislino, ne kuhamo, po nevtralizaciji dodamo namesto encimov vodo

ZATEHTA 3

5. SKUPINA ne dodamo kisline, kuhamo, nevtralizacija ni potrebna, dodamo encime
6. SKUPINA ne dodamo kisline, kuhamo, nevtralizacija ni potrebna, namesto encimov dodamo vodo

ZATEHTA 4

7. SKUPINA Škrob samo raztopimo (ne dodamo kisline, ne kuhamo), po nevtralizaciji dodamo encime
8. SKUPINA Škrob samo raztopimo (ne dodamo kisline, ne kuhamo), po nevtralizaciji dodamo namesto kisline vodo

*61,5 - 100
6,5*

61,5

Skupina	A ₅₄₀
0	0,900
0,016	0,1088
0,032	0,1870
0,048	0,285
0,064	0,371
0,08	0,460
0,096	0,557

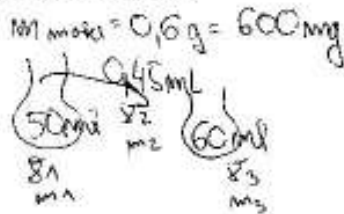
Pristopni kolokvij (Kvantitativna določitev škroba v moki)

Datum: 4.5. 2006

Ime in priimek: KESER BOJANA

78%

1. Izračunaj, koliko odstotkov škroba vsebuje moka, če si uporabil za analizo 0,60 g moke. Po končani kislinski hidrolizi si hidrolizat razredčil na 50 mL in za encimsko hidrolizo odpipetiral 0,45 mL tega hidrolizata. Mešanici kislinskega hidrolizata in encimov si dodal 2 mL 3,5-dinitrosalicilne kisline, segreval in razredčil z vodo do 60 mL ter prelił v kiveto. Iz umeritvene krivulje si odčital, da je koncentracija glukoze v kiveti 0,072 mg/mL. (50 %)



$$m_2 = m_3$$

$$s_2 \cdot v_2 = s_3 \cdot v_3$$

$$s_2 = s_3 \cdot \frac{v_3}{v_2}$$

$$s_2 = 0,072 \text{ mg/ml} \cdot \left(\frac{60 \text{ ml}}{0,45 \text{ ml}} \right) = 9,6 \text{ mg/ml}$$

$$s_1 = s_2$$

$$s_1 = \frac{m_1}{v_1} \rightarrow m_1 = s_1 \cdot v_1 = 9,6 \text{ mg/ml} \cdot 50 \text{ ml}$$

$$m_1 = 480 \text{ mg}$$

$$w = \frac{480 \text{ mg}}{600 \text{ mg}} = 0,8 \cdot 100 = 80\%$$

50%

Moka vsebuje 72% škroba



2. Pojasni kakšna je kemijska sestava škroba (monomerne enote, vezi) (30 %)

Monomere škroba so glukoze enote. Škrob je sestavljen iz polimeriziranih enot kot sta amilopektin in amilaza. Amilopektin in amilaza sta sestavljeni iz monomerov glukoze. V amilopektinu se glukoza povezuje s α -(1,4) in α -(1,6) vezmi. Tam kjer so α -(1,6) vezi nastopijo razvejitve, zato je amilopektin razvejana molekula in neopno amilopektin pa vsebuje glukoze enote, ki so povezane s α -(1,4) vezmi, ta molekula ni tako razvejana in je n- vodi topna.

3. Predpostavi, da si pri vaji določevanje škroba v moki naredil napako. Tako vzorec kot raztopino za umeritveno krivuljo si v prisotnosti 3,5-dinitrosalicilne kisline segreval 3 minute, namesto 5 minut. Na osnovi izmerjenih absorbanca si določil, da je v moki 80 % škroba, ne da bi upošteval, da po 3 minutah nastane le 70 % obarvanega produkta (po 5 minutah je ta delež 100 %). Koliko odstotkov škroba dejansko vsebuje moka? (20 %)



Moka dejansko vsebuje 77,5% škroba

Poročilo (Določanje aktivnosti tripsinskega inhibitorja v soji)

Datum: 20.4. 2006

Ime in priimek: Bajana Koroš

95%

1. Izračunaj koliko enot encimske aktivnosti vsebuje 1mg moke in koliko enot encimske aktivnosti vsebuje 1 ml nerazredčenega ekstrakta! Izračunaj tako za rumeno kot za rdečo sojo. (80 %)

RDEČA SOJA $V = 48 \text{ ml}$

$A_1 = 0,455$
 $A_2 = 0,228$
 $\text{TIU}/\text{mg} = \frac{0,228}{0,01} = 22,7$

Diagram: $48 \text{ ml} \xrightarrow{16 \text{ ml}} 50 \text{ ml} \xrightarrow{22,7} 22,7$
 $16 \cdot 16 = 256$
 $22,7 \cdot 16 = 363,2$
 $363,2 + 256 = 619,2$
 $619,2 / 27 = 22,93$

$\rho_1 = \frac{m}{V} = \frac{1000 \text{ mg}}{48 \text{ ml}} = 20,83 \text{ mg/ml}$
 $m = 20,83 \cdot 1,6 \text{ ml} = 33,33 \text{ mg}$
 $\rho_2 = \frac{33,33 \text{ mg}}{50 \text{ ml}} = 0,667 \text{ mg/ml}$
 $\text{TIU} = 0,667 \text{ mg/ml} \cdot 2 \text{ ml} = 1,334 \text{ TIU}$
 $\text{TIU} = \frac{22,7}{0,667} = 34,03 \text{ TIU/mg}$

80%

1 mg moke vsebuje 34,03 TIU/mg

1 ml moke vsebuje 33,33 mg moke

RUMENA SOJA $V = 48,5 \text{ ml}$

$A_1 = 0,444$
 $A_2 = 0,201$
 $\text{TIU} = \frac{0,444 - 0,201}{0,01} = 24,3$

Diagram: $48,5 \text{ ml} \xrightarrow{0,8 \text{ ml}} 50 \text{ ml} \xrightarrow{24,3} 24,6$
 $0,8 \cdot 615 = 492$
 $492 + 48,5 = 540,5$
 $540,5 / 22 = 24,57$

$\text{TIU}/\text{mg} = 34,3$
 $\text{TIU}/\text{ml} = 468,8$

2. V soji določamo aktivnost tripsinskega inhibitorja na način, ki je opisan v skripta. Ali se izmerjena aktivnost tripsinskega inhibitorja v TIU enotah razlikuje od prave vrednosti, če sojin ekstrakt poleg tripsinskih inhibitorjev vsebuje tudi proteine, ki so podobno kot BAPNA substrat za tripsin. Peptidi, ki so produkti reakcije ne absorbirajo pri 410 nm kjer merimo količino nastalega produkta iz substrata BAPNA. Pojasni ali to vpliva na izmerjeno aktivnost tripsinskega inhibitorja in odgovor utemelji! (20 %)

Te proteine tripsin tudi razgradi ker mu podobne kot BAPNA predstavljajo substrat. To pomeni da ima tripsin več substrata, kot so primeru, da soja ne bi absorbirala teh proteinov. Ampak ti proteini ne absorbirajo pri 410 nm kjer merimo količino nastalega produkta BAPNA, to pomeni da bomo izmerili manjša odčitavanja, kot bi jo sicer, ker tripsin ne bo deloval samo na BAPNA, ampak bo deloval tudi na proteine, ki

Narša TIU bi bila manjša kot pa prava vrednost

pa jim ne bomo določili pri 410 nm

75%

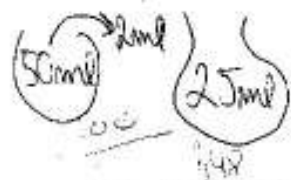
Pristopni kolokvij (Določanje aktivnosti tripsinskega inhibitorja v soji)

Datum: 20.4.2006

Ime in priimek: Bajana Klemen

40%

- 0,471 g sojine moke suspendiraš v ekstrakcijskem pufru (skupen volumen suspenzije je 50 ml). Po končani ekstrakciji odvzameš 2 ml ekstrakta (suspenzije) in ga preliješ v 25 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 2,5 ml razredčenega ekstrakta. V epruveti kjer si imel samo tripsin in substrat je absorbanca pri 410 nm 0,45. V primeru, ko si poleg encima in substrata dodal še ekstrakt, je absorbanca pri 410 nm 0,17! (50 %)
- Izračunaj koliko tripsinskih enot vsebuje 1mg soje (TIU/mg).!
- Eksperimentalni podatki kažejo na to, da bi bilo potrebno pri eksperimentu nekaj spremeniti. Pojasni kaj je narobe in kako bi to popravil.



$$A_{\text{tripsin}} = 0,45$$

$$A_{\text{inhibitorja}} = 0,17$$

75%

RAZREDIČ VE

$$A_{\text{tripsin}} - A_{\text{inhibitorja}} = 0,45 - 0,17 = 0,28$$

$$TIU/mg = \frac{0,28}{0,010} \cdot \frac{1}{0,471g} = 28 \cdot \frac{1}{0,471g} = 59,45 \text{ TIU/mg}$$

Kritični miselnih postavitev

Nismo si pripravili plepega vzorca, zato ni obeh vzorcih uporabili bi morali uimeriti na slepi vzorec, to pomeni da bi izmerili absorbanco glede na slepi vzorec. Obe vzorci reakciji bi morali še nato dodati ocatno kislino, po 10 min.

2. S kljukico označi ali je trditev pravilna ali ne. Če je odgovor napačen se v okviru naloge odšteje 5%. (25 %)

	DRŽI	NE DRŽI
Tripsinski inhibitorji iz soje so proteini	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tripsinski inhibitorji iz soje v prisotnosti tripsina razgrajujejo substrat BAPNA	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Praktično vsi tripsinski inhibitorji s toplotno obdelavo izgubijo učinek	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tripsin dodamo zato, da aktivira tripsinski inhibitor katerega učinek določamo	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
✓ slepem vzorcu, kjer bomo dodali ocatno kislino pred tripsinom, bomo izmerili večjo absorbanco kot v vzorcu, kjer bomo zmešali substrat BAPNA, tripsin in tripsinski inhibitor ter šele nato dodali ocatno kislino.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3. Kaj meniš koliko TIU bi določil v vzorcu v primerjavi s pravo vrednostjo, če bi reakcijo izvajal pri sobni temperaturi in ne pri 37 °C. Odgovor obvezno utemelji! (25 %)

TIU bi določili manjše, to pa zato ker bi sam vzorec tripsin pri 20°C počasneje deloval, kot pri 37°C. Pri 37°C ima tripsin ~~optimalno aktivnost~~ svoj optimalni, to pomeni da pri tej temperaturi najboljše deluje. ~~tripsin inhibitorji~~

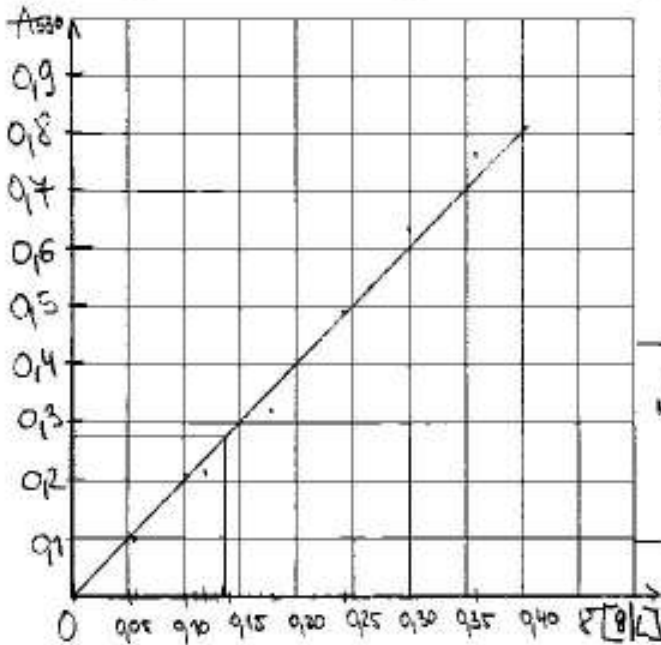
Poročilo (Določanje vinske kisline v sadnem soku)

Datum: 11.4.2006

Ime in priimek: BOJANA KESSER

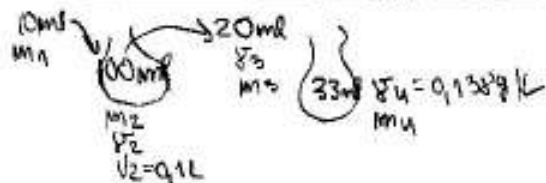
58%

1) Nariši umeritveno krivuljo in iz umeritvene odčitaj masno koncentracijo vinske kisline v kiveti. Ob upoštevanju razredčitev izračunaj masno koncentracijo vinske kisline v sadnem soku! (60%)



V_{STANO}	A_{530}
$0,1 \cdot 0,6060 \rightarrow$	$0,061$ $0,103$
$0,2 \cdot 0,6060 \rightarrow$	$0,121$ $0,221$
\vdots	$0,182$ $0,335$
\vdots	$0,242$ $0,451$
\vdots	$0,303$ $0,645$
$0,364$	$0,766$

60%



$$m_2 = m_4 \rightarrow c_2 \cdot V_2 = c_4 \cdot V_4$$

$$c_2 = c_4 \cdot \frac{V_4}{V_2}$$

$$c_2 = 0,138 \text{ g/L} \cdot \frac{0,33 \text{ L}}{0,02 \text{ L}} = 0,2277 \text{ g/L}$$

$$c_1 = c_2 \rightarrow m_1 = c_1 \cdot V_1 = 0,2277 \text{ g/L} \cdot 0,1 \text{ L} = 0,02277 \text{ g}$$

$$c_1 = \frac{m_1}{V_1} = \frac{0,02277 \text{ g}}{0,01 \text{ L}} = 2,277 \text{ g/L}$$

Hoj razredc $A_{530} = 0,280$

Koncentracija primarne kisline v razredci $c_4 = 0,138 \text{ g/L}$

Massna koncentracija vinske kisline v sadnem soku je $2,28 \text{ g/L}$

2) Pretvori-obvezno tudi nakaži kako si pretvoril! (10%)

$$25,3 \text{ } \mu\text{g/mL} = \frac{25,300}{10^{-6}} \text{ mg/m}^3$$

$$67 \text{ mol/(L}\cdot\text{s)} = \frac{67 \cdot 1000}{60} \text{ mmol/(L}\cdot\text{min)}$$

$$67 \cdot \frac{1000}{60} = 1116,67$$

$$\frac{1}{1} = x \cdot \frac{60}{60}$$

3) Predpostavi, da si se pri eksperimentu zmotil in si za spiranje vinske kisline uporabil raztopino NaCl in ne Na_2SO_4 . Ali bi v tem primeru v eluatu določil kaj vinske kisline? Utemelji! (15%)

Vinsko kislino lahko spazemo le k močnejšim kislinam, saj je vinska kislina šibka. Tako da bi k raztopini NaCl, ki je raztopina soli, v eluatu $\text{HOO-C-CH(OH)-CH(OH)-COOH}$ se pridružila vinska kislina.

4) Pod določenimi pogoji bi tudi pri pripravi vzorca lahko dodali perjodovo kislino (H_5IO_6). To je pogojeno z vrstnim redom dodajanja raztopin. Kakšen bi moral biti vrstni red dodajanja, omeji se le na vzorec, perjodovo kislino in glicerol, da bi to lahko storil. Predlagan vrstni red obvezno utemelji! (15%)

redarac \rightarrow glicerol \rightarrow perjodova kislina \rightarrow OXSIDIRA OB 1

Najprej bi k glicerolu kaurifanili reakcije tako da se bi dodali perjodovo kislino se vinska kislina ne bi oksidirala in bi to tvorila reakcijo talca

Pristopni kolokvij (Določanje vinske kisline v sadnem soku)

Datum: 6.4. 2006

Ime in priimek: Bajana Škeren

45%

1. Kakšen naboj bo imel ionski izmenjevalec, ki ga bomo uporabili pri vaji in zakaj? (15 %)

Ionski izmenjevalec bo prečno koristen, uporabili bomo Merck III v anionski obliki.
Ionski izmenjevalec bo pozitiven, ker bomo nanašali negativne ione in se marajo odvrtni od ionskega izmenjevalca.

15%

2. Zakaj bomo v postopku priprave slepega vzorca uporabili perjodovo kislino in zakaj glicerol? (20 %)

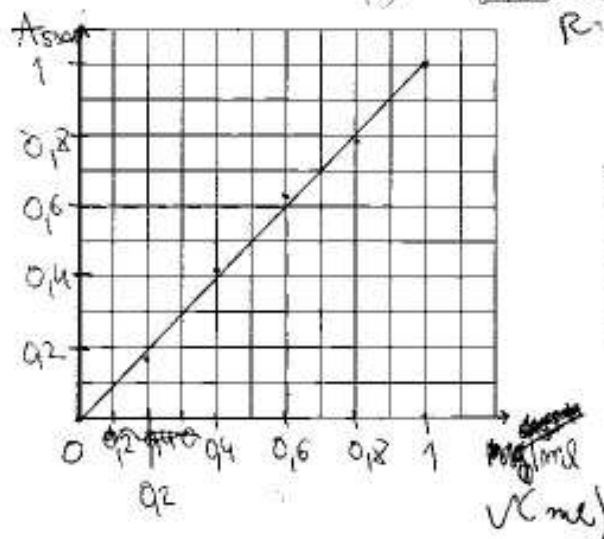
Perjodova kislina bomo uporabili zato, da oksidiramo vinsko kislino. Po oksidaciji bomo preostle perjodove kisline oprali z glicerolom. Vinska kislina reagira po dodatku NH_4VO_3 me bo obarvala, obarvali se bodo samo spojine, ki imajo to so drugi kisline.

3. 5 ml sadnega soka naneseš na kolono napolnjeno z ionskim izmenjevalcem Merck III. Nevezane komponente speresh z očetno kislino in vodo. Vežane kisline pa v 20 ml bučko s 7,1 % natrijevim sulfatom in dopolniš do oznake. Od eluata odvzameš 3 ml in dodaš vse potrebne reagente (H_2SO_4 , glicerol, NH_4VO_3), tako, da je končni volumen 10 ml. Tako pripravljena raztopina ima absorbanco merjeno proti slepi probi 0,6. Vzporedno pripraviš tudi umeritveno krivuljo kjer odmeriš ustrezne volumne vinske kisline s koncentracijo 5 mg/ml (glej tabelo), dopolniš do 3 ml s 7,1 % natrijevim sulfatom in dodaš vse potrebne reagente, da je končni volumen 10 ml.

Dodatek stand. raztopine (5 mg/ml)	0,2 ml	0,4 ml	0,6 ml	0,8 ml	1,0 ml
Absorbanca pri 530 nm	0,18	0,41	0,62	0,79	1,0

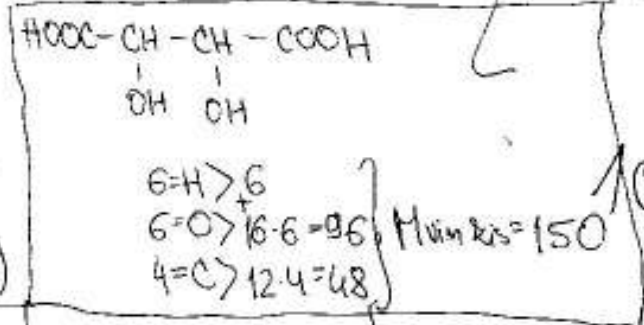
$A = c \cdot \epsilon \cdot l$
 $A = 0,6$

Nariši graf, ustrezno označi osi in izračunaj masno koncentracijo vinske kisline v sadnem soku! (65 %)



$R = 3,3$ razredni faktor
 $R = 13,4$

$m = n \cdot M$ $c = \frac{n}{V}$ $n = c \cdot V$ $m = c \cdot V \cdot M$
 $\rho = \frac{m}{V_{\text{razred}}} = \frac{c \cdot V \cdot M}{V}$



10%

$\rho = c \cdot M$
 $\rho = \frac{m}{V} \cdot M$
 $\frac{m}{5 \text{ ml}} = \frac{m}{0,6 \text{ ml}} \cdot 150$
 $\frac{m}{5 \text{ ml}} = \frac{m}{0,6 \text{ ml}} \cdot 10^{-3}$

$\rho = 150 \text{ g/mol} \cdot c \cdot R$
 $\rho = \frac{m}{V} \cdot R = \frac{900 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = 0,09 \text{ g/ml}$
 $m = m \cdot M$
 $m = 150 \text{ g/mol} \cdot 0,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol}$