

KOLOKVIJ IZ VAJ ŽIVILSKA KEMIJA

Datum: 30.5. 2003

Priimek in ime: _____

Vpisna številka: _____

1. Umeritveno krivuljo za določitev škroba v moki pripraviš tako kot je razvidno iz tabele. Izračunaj kakšen je delež škroba v moki, če si z vzorcem postopal takole:

Zatehtali smo 0,47 g vzorca, dodali ustrezno količino vode in HCl ter hidrolizirali pri temperaturi vrelišča 20 minut. Hidrolizat smo ohladili in nevtralizirali ter razredčili z vodo do 100 ml. Nato smo od te raztopine odvzeli 0,3 ml. izvedli encimsko hidrolizo, dodali 3,5 dinitrosalicilno kislino, nekaj časa segrevali in razredčili z vodo do 50 ml ter pomerili, da je absorbanca tako pripravljene raztopine pri 540 nm 0,145. (20 %)

$V_{\text{raztopine glukoze z } \gamma = 4\text{mg/ml}} \text{ (ml)}$	A^{540} po dodatku 3,5 dinitrosalicilne kisline in redčenju z vodo do 25 ml
0,1	0,094
0,2	0,214
0,3	0,302
0,4	0,388
0,5	0,511

2. Pred merjenjem aktivnosti polifenol oksidaze iz krompirja pripraviš standardno raztopino substrata, tako, da raztopiš 1,32 mg DOPA (molska masa 197,2 g mol^{-1}) v 4 ml pufru. Za test encimske aktivnosti odpipetiraš v kiveto z dolžino optične poti 1 cm, 0,8 ml standardne raztopine substrata ter 0,4 ml nerazredčenega krompirjevega ekstrakta in dopolniš do 3 ml z ustreznim pufrom. Po petih minutah naraste absorbanca pri 475 nm zaradi nastalega o-kinona (molski absorpcijski koeficient je 5012 $\text{lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) na vrednost 0,66.

- Izračunaj specifično aktivnost polifenol oksidaze (U/ml ekstrakta) v nerazredčenem ekstraktu! (10 %)
- Izračunaj tudi preostalo množino substrata v kiveti po 5 minutah, delovanja encima na substrat! (10 %)

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

3. Odgovori na naslednja vprašanja (36 %)

- Zakaj smo v postopku določevanja vinske kisline v soku uporabili ionsko izmenjevalno kromatografijo?
- Zakaj smo v postopku določevanja vinske kisline dodali perjodovo kislino?
- Pri Schoorl-Luffovi metodi določevanja glukoze si pri titraciji vzorca z 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ opazil, da je poraba enaka 0. Pojasni kaj se je zgodilo!
- Kaj bi moral narediti-nanaša se na prejšnje vprašanje, da bi bila določena vsebnost glukoze v vzorcu realna (napiši eno od možnosti)?

- V soji določamo aktivnost tripsinskega inhibitorja na način, ki je opisan v skripta. Ali se izmerjena aktivnost tripsinskega inhibitorja razlikuje od prave vrednosti (večja, manjša, enaka)
 - če sojin ekstrakt poleg tripsinskih inhibitorjev vsebuje tudi encime, ki razgrajujejo substrat BAPNA s katerim merimo encimsko aktivnost tripsina (ti encimi niso inhibirani s tripsinskimi inhibitorji)? Utemelji!
 - če so v sojinem ekstraktu prisotni proteini, ki so dober substrat za tripsin? Utemelji!

4. 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:

- Na osnovi podatkov v nalogi izračunaj kakšna je vsebnost holesterola v 100 ml mleka? (8 %)
- Pri računanju predpostavi, da holesterol, ki si ga uporabil za pripravo standardnih raztopin ni bil čist, ampak je vseboval 15 % nečistoč (tega nismo vedeli-kar pomeni da je bilo pri npr. zatehti 1g le 0,85 g holesterola). Nečistoče z orto-ftalaldehidom ne dajo obarvanega produkta! (8 %)
- Med vajo se nam je tako kot ponavadi mudilo, zato nismo počakli predpisanih 30 minut, da se razvije barva, ampak smo merili absorbcio nastalega kompleksa (A^{550}) že po 10 minutah. Tudi pri pripravi umeritvene »točke« nismo bili najbolj načelni. Tu smo absorbanco določali po 20 minutah. Kakšna je dejanska vsebnost holesterola v mleku, če je prirast absorbance takšna funkcija časa kot je razvidno iz grafa? (8 %)

