

## KOLOKVIJ IZ VAJ ŽIVILSKA KEMIJA

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 razredčiš 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 epruveti 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 spereš 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. Vzoredno 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
$Na_2S_2O_3$	reducent
Škrob	oksidant
$Cu^{2+}$	reducent

4. Primerjaj metodi – določevanje saharoze po Schoorl-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 smislen (primerljiv), če bi v primeru dodanega ekstrakta izmerili le npr. 5% absorbance brez dodanega inhibitorja! (8 %)
6. Ionski izmenjevalec Merck 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 zmotili in bi kolono pred nanosom vzorca spirali z 7,1 % raztopino natrijevega sulfata. Odgovor utemelji! (8 %)

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 ustrežno 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  $\mu\text{g}$  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 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 absorbcio določali po 20 minutah. Kakšna je dejanska vsebnost holesterola v mleku, če je prirast absorbance takšna funkcija časa kot je razvidno iz grafa? (8 %)

