

ÚLOHY Z ANALYTICKEJ PRAXE

Chemická olympiáda – kategória EF – 61. ročník – šk. rok 2024/2025

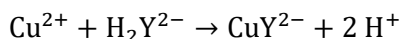
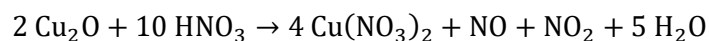
Školské kolo

Matúš Tomášik

Maximálne 100 pomocných bodov = 50 bodov

Doba riešenia: 375 minút

Ovocie obsahuje predovšetkým monosacharidy glukózu a fruktózu. Pri spracovaní ovocia a výrobe sorbetov a zmrzlín sa na dosadenie a zlepšenie senzorických vlastností pridáva glukózový sirup a sacharóza. Sacharózu je možné titračne stanoviť po inverzii, teda po jej hydrolytickom rozklade na glukózu a fruktózu. V školskom kole budeme stanovovať celkový obsah cukrov a obsah sacharózy vo vzorke mrazeného ovocného sorbetu titračnou metódou podľa Potterata–Eschmanna, s využitím enzýmovej hydrolýzy sacharózy. Metóda podľa Potterata–Eschmanna je založená na komplexometricom stanovení oxidu meďného, ktorý sa vyredukuje účinkom redukujúcich sacharidov z alkalického roztoku síranu meďnatého. Vyredukovaný oxid meďný sa rozpustí v kyseline dusičnej a roztok sa neutralizuje vodným roztokom amoniaku. Vzniknutý meďnatý komplex sa následne stanoví chelatometricky na murexid. Pri stanovení prebiehajú nasledovné deje:



Náplňou úloh školského kola je:

- upraviť vzorku mrazeného ovocného sorbetu na stanovenie,
- stanoviť celkový obsah sacharidov a obsah sacharózy vo vzorke mrazeného ovocného sorbetu metódou podľa Potterata–Eschmanna,
- stanoviť aktivitu zriedeného enzýmového preparátu *INVERTOFIX*[®] a enzýmový preparát aplikovať pri inverzii sacharózy prítomnej vo vzorke,

*Pozn.: Pred samotnou realizáciou práce je potrebné si dôkladne prečítať celé zadanie a vhodne si zvoliť poradie riešenia jednotlivých úloh (time management). Nie je nutné začať riešením úlohy A. Na prečítanie zadania a rozvrhnutie postupu práce máte k dispozícii **15 minút**, ktoré sa **nepočítajú do celkového času** na riešenie úloh.*

Pri svojej práci budete potrebovať kalibračnú čiaru, ktorú ste si pripravili počas študijného kola.

K dispozícii sú nasledovné chemické látky a roztoky:

- tuhý chelatón 3, p.a.,
- tuhý oxid zinočnatý, p.a.,
- roztok kyseliny chlorovodíkovej (1 : 3),
- amoniakálny tlmivý roztok NH₄OH/NH₄Cl (pH = 10),
- Carrezov roztok I (vodný roztok hexakvanoželeznatánu draselného),
- Carrezov roztok II (vodný roztok síranu zinočnatého),
- zásobný roztok sacharózy ($c = 2 \text{ mol dm}^{-3}$),
- acetátový tlmivý roztok CH₃COOH/CH₃COONa (pH 4,8; $c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$),
- zriedený enzýmový preparát INVERTOFIX® (1 : 9),
- reagentia s kyselinou 3,5-dinitrosalicylvou (roztok DNS v hydroxide sodnom s prídavkom tetrahydrátu vínanu draselného-sodného),
- alkalický roztok síranu meďnatého s chelatónom 3,
- koncentrovaná kyselina dusičná ($w = 0,65$),
- roztok kyseliny dusičnej ($c = 1,5 \text{ mol dm}^{-3}$),
- roztok amoniaku ($c = 4 \text{ mol dm}^{-3}$),
- tuhý indikátor eriochrómová čerň T,
- tuhý indikátor murexid.

Tab. 1 Identifikácia nebezpečnosti použitých látok a zmesí podľa nariadenia (ES) č. 1272/2008 (CLP).

Názov chemikálie	H vety	P vety
Chelatón 3 (Na ₂ EDTA · 2H ₂ O)	H332, H373, H412	P260, P271, P273, P304+P340+P312, P314, P501
Oxid zinočnatý	H410	P273, P391, P501
Kyselina chlorovodíková, roztok	H290, H314, H335	P280, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338, P310
Amoniakálny tlmivý roztok (NH ₄ OH/NH ₄ Cl)	H302, H314, H400	P273, P280, P310
Carrezov roztok I	H318, H412	P273, P280, P305+P351+P338, P337+P313
Carrezov roztok II	Zmes nespĺňa kritériá pre klasifikáciu v súlade s nariadením č. 1272/2008/ES.	
Sacharóza, roztok	Látka nespĺňa kritériá pre klasifikáciu v súlade s nariadením č. 1272/2008/ES.	
D-glukóza	Látka nespĺňa kritériá pre klasifikáciu v súlade s nariadením č. 1272/2008/ES.	
D-fruktóza	Látka nespĺňa kritériá pre klasifikáciu v súlade s nariadením č. 1272/2008/ES.	
Acetátový tlmivý roztok (CH ₃ COOH/CH ₃ COONa)	Zmes nespĺňa kritériá pre klasifikáciu v súlade s nariadením č. 1272/2008/ES.	
Enzýmový preparát INVERTOFIX®	Zmes nespĺňa kritériá pre klasifikáciu v súlade s nariadením č. 1272/2008/ES.	
Kyselina 3,5-dinitrosalicylvá	H302, H318	P280, P301+P312, P305+P351+P338
Kyselina dusičná ($w = 0,65$)	H272, H290, H314, H331	P210, P220, P280, P303+P361+P353, P304+P340+P310, P305+P351+P338+P310, P370+P378, P403+P233, EUH071
Kyselina dusičná, roztok	H290, H314, H331	P260, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310, EUH071
Amoniak, roztok	H315, H319	P280, P302+P352, P305+P351+P338, P337+P313
Fehlingov roztok I	H318, H410	P273, P280, P305+P351+P338, P310, P391
Fehlingov roztok II	H290, H314	P260, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310
Etanol ($w = 0,96$)	H225, H319	P210, P233, P305+P351+P338
Dietyléter	H224, H302, H336	P210, P280, P303+P361+P353, P304+P340, P312, P403+P235
Eriochrómová čerň T	Látka nespĺňa kritériá pre klasifikáciu v súlade s nariadením č. 1272/2008/ES.	
Murexid	Látka nespĺňa kritériá pre klasifikáciu v súlade s nariadením č. 1272/2008/ES.	

Úloha A: Príprava roztokov a stanovenie ich presnej koncentrácie

Úloha A1: Príprava roztokov

- A1.1. Vypočítajte množstvo chelatónu 3 potrebné na prípravu 200 cm³ odmerného roztoku s koncentráciou blízkou $c = 0,02 \text{ mol dm}^{-3}$. Odmerný roztok následne pripravte navážením a rozpustením vypočítaného množstva chelatónu 3 v deionizovanej vode a doplnením odmernej banky po značku.
- A1.2. Vypočítajte hmotnosť oxidu zinočnatého potrebnú na prípravu 50 cm³ štandardného roztoku s koncentráciou Zn²⁺ iónov $c = 0,02 \text{ mol dm}^{-3}$. Roztok pripravte podľa nasledovného postupu: S analytickou presnosťou navážte vypočítané množstvo ZnO a pomocou malého množstva deionizovanej vody návažok kvantitatívne preneste do 100 cm³ vysokej kadičky. K návažku pridávajte po kvapkách za stáleho miešania zriedený roztok kyseliny chlorovodíkovej (1 : 3) do úplného rozpustenia tuhej látky. Vzniknutý roztok kvantitatívne prevedte do 50 cm³ odmernej banky, doplňte deionizovanou vodou po značku a zhomogenizujte. Do odpovedového hárka zapíšte stechiometrickú rovnicu rozpúšťania ZnO v kyseline chlorovodíkovej a vypočítajte presnú koncentráciu štandardného roztoku.

Úloha A2: Stanovenie presnej koncentrácie odmerného roztoku chelatónu 3

- A2.1. Do titračnej banky pipetujte 10,0 cm³ štandardného roztoku Zn²⁺ pripraveného v úlohe A1.2. Prídavkom 10 cm³ amoniakálneho tlmivého roztoku (NH₄OH/NH₄Cl) upravte pH na hodnotu 10. Pridajte malé množstvo indikátora eriochrómová čerň T a titrujte odmerným roztokom chelatónu 3 z fialového do modrého sfarbenia. Vykonajte potrebný počet paralelných stanovení.
- A2.2. Na základe nameraných hodnôt vypočítajte presnú koncentráciu odmerného roztoku chelatónu 3. Do odpovedového hárka zapíšte rovnicu deja prebiehajúceho pri štandardizácii.

Úloha B: Príprava vzorky ovocného sorbetu na stanovenie cukrov

Úloha B1: Extrakcia sacharidov do kvapalnej fázy

- B1.1. Na prípravu zásobného cukorného roztoku odvážte zo vzorky zmrzliny asi 5 g s presnosťou na 2 desatinné miesta do 150 cm³ kadičky. Presnú hmotnosť vzorky zapíšte do odpovedového hárka.
- B1.2. Návažok v kadičke rozpustíte v 100 cm³ deionizovanej vody o teplote cca 30 °C. Kadičku prikryte hodinovým sklíčkom a jej obsah nechajte za občasného premiešania 30 minút digerovať pri laboratórnej teplote.

Úloha B2: Čírenie roztoku vzorky

- B2.1. Po uplynutí predpísaného času k roztoku vzorky v kadičke pridajte po kvapkách za stáleho miešania najskôr 5 cm³ Carrezovho roztoku I a následne 5 cm³ Carrezovho roztoku II.
- B2.2. Zostavte aparatúru na jednoduchú filtráciu za atmosférického tlaku a vzniknutú zrazeninu prefiltrujte cez hladký filter. Filtrát zachytávajte do odmernej banky objemu 500 cm³. Zrazeninu na filtri ešte niekoľkokrát premyte deionizovanou vodou. Po ukončení filtrácie obsah banky doplňte po značku deionizovanou vodou a dôkladne zhomogenizujte.

Úloha C: Určenie aktivity enzýmového prípravku INVERTOFIX®

Úloha C1: Sledovanie priebehu enzýmovej reakcie pri rôznych začiatočných koncentráciách substrátu

- C1.1. Do troch Eppendorfových skúmaviek (2 ml) označených číslami 1 až 3 pipetujte po 200 µl acetátového tlmivého roztoku (CH₃COOH/CH₃COONa; pH 4,8; c = 1 mol dm⁻³) a 10 µl enzýmového preparátu INVERTOFIX® zriedeného v pomere 1 : 9 deionizovanou vodou. Pridajte predpísaný objem deionizovanej vody podľa tabuľky Tab. 2.
- C1.2. Enzýmovú reakciu spustíte prídavkom predpísaného množstva zásobného roztoku substrátu (roztok sacharózy s približnou koncentráciou c = 2 mol dm⁻³), skúmavku uzavrite a reakčnú zmes dôkladne pretrepte. Po prídavku substrátu ihneď začnite merať reakčný čas stopkami ($t_{R,start}$)!

Tab. 2 Príprava reakčných zmesí pre stanovenie enzýmovej aktivity.

Objem [µl]	1	2	3
Acetátový tlmivý roztok (pH 4,8; c = 1 mol dm ⁻³)	200	200	200
Enzýmový preparát (1:9)	10	10	10
Deionizovaná voda	170	150	30
Substrát (c = 2 mol dm ⁻³)	580	600	720

- C1.3. Po uplynutí približne 30 minút reakciu zastavte povarením reakčných zmesí pri teplote 100 °C asi 5 minút. Meranie reakčného času sa preruší v momente vloženia skúmavky do vriaceho vodného kúpeľa ($t_{R,stop}$). Vypočítajte presnú dĺžku reakčného času t_R odčítaním hodnoty $t_{R,start}$ od hodnoty $t_{R,stop}$ pre každú enzýmovú reakciu.
- C1.4. Enzýmovú reakciu pre každú počiatočnú koncentráciu substrátu uskutočnite aspoň trikrát. Vypočítané hodnoty reakčných časov zapíšte do odpovedového hárka a vypočítajte presné počiatočné koncentrácie sacharózy v jednotlivých reakčných zmesiach. Zapíšte stechiometrickú rovnicu hydrolýzy sacharózy účinkom invertázy.

- C1.5. Uskutočnite kontrolné stanovenie podľa nasledovného postupu: Do troch 2 ml Eppendorfových skúmaviek pipetujte po 200 μ l acetátového tlmivého roztoku a objemy deionizovanej vody a zásobného roztoku substrátu predpísané v tabuľke Tab. 2. Zmes v každej skúmavke dôkladne premiešajte a nechajte inkubovať približne 30 minút pri laboratórnej teplote.
- C1.6. Po 30 minútach zmesi 5 minút povarte na vriacom vodnom kúpeli pri teplote 100 °C.
- C1.7. Inaktivujte 30 μ l zriedeného enzýmového preparátu povarením na vriacom vodnom kúpeli po dobu 5 minút pri teplote 100 °C.
- C1.8. K vychladnutým reakčným zmesiam pipetujte po 10 μ l zriedeného inaktivovaného enzýmového preparátu.

Úloha C2: Stanovenie koncentrácie produktov enzýmovej reakcie metódou podľa Millera

- C2.1. Z vychladnutých reakčných zmesí pripravených v úlohe C1 pipetujte do 2 ml Eppendorfových skúmaviek po 2 μ l. Upravte objem na 40 μ l prídavkom deionizovanej vody a pridajte po 160 μ l reagentie s DNS (v prípade blanku sa pipetuje iba 40 μ l deionizovanej vody). Roztoky inkubujte na vriacom vodnom kúpeli 5 minút pri teplote 100 °C. Po ochladení pridajte po 1,6 cm³ deionizovanej vody a zmerajte absorbanciu pri 540 nm oproti blanku. Každé meranie opakujte trikrát a do odpovedového hárka zapíšte priemernú hodnotu týchto meraní.
- C2.2. V prípade kontrolných reakčných zmesí sa absorbancia zmeria rovnakým spôsobom, aký je opísaný v predošlom bode.
- C2.3. Z kalibračnej krivky, ktorú ste si pripravili v študijnom kole, odčítajte koncentrácie redukujúcich sacharidov v alikvotnom podiele reakčnej zmesi odobratom na stanovenie. Vypočítajte presnú koncentráciu produktu inverzie v pôvodnom objeme reakčnej zmesi, pričom od výsledku odčítajte výsledok kontrolného stanovenia.

Úloha C3: Výpočet špecifickej enzýmovej aktivity enzýmového preparátu INVERTOFIX®

- C3.1. Pre každú enzýmovú reakciu vypočítajte množstvo zreagovaného substrátu (sacharózy) vzhľadom na objem reakčnej zmesi, ekvivalentné stanovenej koncentrácii produktu. Vychádzajte zo stechiometrie prebiehajúceho deja.
- C3.2. Pre každú enzýmovú reakciu vypočítajte špecifickú aktivitu enzýmového preparátu podľa vzťahu

$$EA_s = \frac{c_{S,r}}{t_R} \cdot \frac{V_{RZ}}{V_{EP}} \cdot 10$$

kde EA_s je špecifická aktivita enzýmového preparátu v mol min⁻¹ dm⁻³,
 $c_{S,r}$ je koncentrácia zreagovaného množstva substrátu v mol dm⁻³,

t_R je reakčný čas v min,

V_{RZ} je objem reakčnej zmesi v dm^3 ,

V_{EP} je objem pridaného enzýmového preparátu v dm^3 .

Násobenie desiatimi zohľadňuje 10-násobné riedenie pôvodného enzýmového preparátu. Výsledná špecifická aktivita enzýmového preparátu INVERTOFIX® sa určí ako aritmetický priemer vypočítaných hodnôt pre jednotlivé stanovenia.

Úloha D: Stanovenie obsahu sacharidov vo vzorke ovocného sorbetu

Úloha D1: Stanovenie množstva redukujúcich sacharidov pred inverziou metódou podľa Potterata–Eschmanna

- D1.1. Do Erlenmayerovej banky o objeme 100 cm^3 pipetujte $10,0 \text{ cm}^3$ alkalického roztoku síranu meďnatého a $10,0 \text{ cm}^3$ vyčíreného roztoku vzorky pripraveného v úlohe B2. K reakčnej zmesi pridajte niekoľko varných kamienkov a roztok počas 2 minút privedte k varu. Mierny var udržiajte presne 10 minút (čas merajte stopkami). Aby sa zabránilo odparovaniu reakčnej zmesi, do hrdla banky vložte malý sklenený lievik.
- D1.2. Po uplynutí predpísaného času var okamžite prerušte prídavkom 25 cm^3 deionizovanej vody a reakčnú zmes dokonale ochladte pod prúdom studenej vody.
- D1.3. Zostavte aparatúru na jednoduchú filtráciu pri atmosférickom tlaku a vzniknutý oxid meďný prefiltrujte cez hladký filter. Zrazeninu na filtri niekoľkokrát premyte studenou deionizovanou vodou.
- D1.4. Zachytený Cu_2O kvantitatívne preneste spolu s filtračným papierom do titračnej banky a rozpustite ho 4 – 5 kvapkami koncentrovanej kyseliny dusičnej (*Pozn.: S koncentrovanou kyselinou dusičnou pracujte opatrne pod dohľadom dozoru v digestóriu, s náležitými ochrannými pomôckami!*). Potom odmerným valcom pridajte ešte 5 cm^3 roztoku kyseliny dusičnej s koncentráciou $c = 1,5 \text{ mol dm}^{-3}$ a zmes v banke krátko povarte, pričom dbajte na to, aby sa všetok oxid meďný kvantitatívne previedol do roztoku.
- D1.5. Po vychladnutí k roztoku v banke pridávajte po kvapkách roztok amoniaku ($c = 4 \text{ mol dm}^{-3}$) až do vzniku slabo modrého zákalu. Potom ku zmesi pridajte ešte 5 cm^3 roztoku amoniaku, čím sa tmavomodrý roztok vyjasní.
- D1.6. Obsah titračnej banky zriedte deionizovanou vodou približne na objem 100 cm^3 , pridajte indikátor murexid a titrujte odmerným roztokom chelatónu 3 zo zeleného do modrofialového sfarbenia. Vykonajte potrebný počet paralelných stanovení a namerané hodnoty zapíšte do odpovedového hárka.

- D1.7. Aby ste eliminovali vplyv nečistôt použitých roztokov na presnosť stanovenia, vykonajte slepý pokus. Pri prevedení slepého pokusu postupujte rovnako podľa postupu opísaného v bodoch **Chyba! Nenašiel sa žiaden zdroj odkazov.** až D1.6., pričom roztok vzorky nahradíte 10,0 cm³ deionizovanej vody. Nameraný údaj zapíšte do odpovedového hárka.
- D1.8. Z experimentálne získaných hodnôt vypočítajte pre každé stanovenie ekvivalentný objem odmerného roztoku chelatónu 3 o presnej koncentrácii, zodpovedajúci obsahu redukujúcich sacharidov, podľa vzťahu

$$V_{ekv} = \frac{(V_{ST} - V_{SP}) \cdot c_{OR}}{0,02}$$

kde V_{ST} je objem odmerného roztoku spotrebovaný na vlastné stanovenie vzorky,
 V_{SP} je objem odmerného roztoku spotrebovaný na slepý pokus,
 c_{OR} je presná koncentrácia odmerného roztoku.

- D1.9. Na základe vypočítaného ekvivalentného objemu odmerného roztoku odčítajte z empirickej tabuľky pre každé stanovenie hmotnosť redukujúcich sacharidov m_{RS} (glukózy a fruktózy) v alikvotnom podiele vzorky použitom na stanovenie. Vypočítajte priemernú hmotnosť redukujúcich sacharidov na 100 g ovocného sorbetu vzhľadom k presnej hodnote návažku vzorky použitého pri príprave extraktu.

Tab.3 Empirická tabuľka pre stanovenie redukujúcich cukrov metódou podľa Potterata–Eschmanna.

V_{ekv} [cm ³]	m_{RS} [mg]	V_{ekv} [cm ³]	m_{RS} [mg]	V_{ekv} [cm ³]	m_{RS} [mg]
10,0	7,80	13,4	10,45	16,8	13,14
10,2	7,96	13,6	10,61	17,0	13,30
10,4	8,11	13,8	10,76	17,2	13,46
10,6	8,27	14,0	10,92	17,4	13,62
10,8	8,42	14,2	11,08	17,6	13,78
11,0	8,58	14,4	11,23	17,8	13,94
11,2	8,74	14,6	11,39	18,0	14,10
11,4	8,89	14,8	11,54	18,2	14,26
11,6	9,05	15,0	11,70	18,4	14,42
11,8	9,20	15,2	11,86	18,6	14,58
12,0	9,36	15,4	12,02	18,8	14,74
12,2	9,52	15,6	12,18	19,0	14,90
12,4	9,67	15,8	12,34	19,2	15,06
12,6	9,83	16,0	12,50	19,4	15,22
12,8	9,98	16,2	12,66	19,6	15,38
13,0	10,14	16,4	12,82	19,8	15,54
13,2	10,30	16,6	12,98	20,0	15,70

Úloha D2: Stanovenie množstva redukujúcich sacharidov po inverzii metódou podľa Potterata–Eschmanna s využitím enzýmovej inverzie sacharózy

- D2.1. Na základe stanovenej aktivity enzýmového preparátu INVERTOFIX® vypočítajte objem 10-násobne zriedeného enzýmového prípravku potrebný na inverziu množstva sacharózy obsiahnutého v 50 cm³ vyčíreného roztoku vzorky. Predpokladajte, že sacharóza tvorí cca 50 % celkového obsahu cukrov udaného výrobcom. Reakčný čas uvažujte 30 minút.
- D2.2. Na inverziu sacharózy obsiahnutej vo vzorke pipetujte do 100 cm³ odmernej banky 50,0 cm³ vyčíreného roztoku vzorky. Prídavkom 15,0 cm³ acetátového tlmivého roztoku (CH₃COOH/CH₃COONa; pH 4,8; c = 1 mol dm⁻³) upravte pH na 4,8. Pridajte dvojnásobok vypočítaného množstva enzýmového prípravku INVERTOFIX® zriedeného deionizovanou vodou v pomere 1 : 9, reakčnú zmes dôkladne zhomogenizujte a nechajte inkubovať cca 30 minút pri laboratórnej teplote.
- D2.3. Po približne 30 minútach doplňte objem reakčnej zmesi po značku deionizovanou vodou a zhomogenizujte. Na stanovenie redukujúcich sacharidov po inverzii pipetujte do 100 cm³ Erlenmayerovej banky 10,0 cm³ alkalického roztoku síranu meďnatého a 10,0 cm³ roztoku vzorky po inverzii. Stanovenie vykonajte podľa postupu uvedeného v úlohe D1. Vykonajte potrebný počet paralelných stanovení.
- D2.4. Z experimentálne získaných hodnôt určte obsah redukujúcich sacharidov v alikvotnom podiele vzorky použitom na stanovenie po inverzii. Z rozdielu obsahu redukujúcich sacharidov pred inverziou a po inverzii vypočítajte obsah sacharózy na 100 g ovocného sorbetu vzhľadom k presnej hodnote návažku vzorky použitého pri príprave extraktu.
- D2.5. Vypočítajte celkový obsah cukrov v gramoch na 100 g ovocného sorbetu. Výsledok udajte s presnosťou na 2 desatinné miesta.

ODPOVEĎOVÝ HÁROK Z ANALYTICKEJ PRAXE

Chemická olympiáda – kategória EF – 61. ročník – šk. rok 2024/2025

Školské kolo

Škola:			
Meno súťažiaceho:			
Počet pridelených bodov:	Podpis hodnotiteľa:		
Úloha A			
A1.1.	Výpočet hmotnosti chelátónu 3 ($M_r(\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}) = 372,25$):		
A1.2.	Zápis stechiometrickej rovnice prebiehajúceho deja:		
	Výpočet hmotnosti oxidu zinočnatého ($M_r(\text{ZnO}) = 81,38$):		
	Navážená hmotnosť ZnO	$m(\text{ZnO}) =$	
	Výpočet presnej koncentrácie štandardného roztoku Zn^{2+} :		
A2.1.	Spotreba odmerného roztoku chelátónu 3:		
Akceptovaná hodnota $V_{\text{OR}}(\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}) =$			
A2.2.	Zápis stechiometrickej rovnice deja prebiehajúceho pri štandardizácii:		
	Výpočet presnej koncentrácie odmerného roztoku chelátónu 3:		

Úloha B							
B1.1.	Navážená hmotnosť vzorky sorbetu			$m(\text{vzorka}) =$			
Úloha C							
C1.4.	Zápis stechiometrickej rovnice inverzie sacharózy:						
	Vzorový výpočet reakčného času t_R pre ľubovoľnú enzýmovú reakciu:						
	Vzorový výpočet počiatočnej koncentrácie substrátu v objeme reakčnej zmesi:						
	Celkový objem reakčnej zmesi			$V_{RZ} =$			
		1	2	3			
	$V(\text{pufor}) / \mu\text{l}$	200	200	200			
	$V(\text{substrát}) / \mu\text{l}$	580	600	720			
	$V(\text{dH}_2\text{O}) / \mu\text{l}$	170	150	30			
	$V(\text{enzým}) / \mu\text{l}$	10	10	10			
	$c_{S0} / \text{mol dm}^{-3}$						
	$t_{R,\text{start}} / \text{min}$	1.	1.	1.			
		2.	2.	2.			
		3.	3.	3.			
	$t_{R,\text{stop}} / \text{min}$	1.	1.	1.			
2.		2.	2.				
3.		3.	3.				
t_R / min	1.	1.	1.				
	2.	2.	2.				
	3.	3.	3.				
C2.1.		$c_{S0,1} = \dots\dots$ mol dm^{-3}	kontrola 1	$c_{S0,2} = \dots\dots$ mol dm^{-3}	kontrola 2	$c_{S0,3} = \dots\dots$ mol dm^{-3}	kontrola 3
a	$A_{540\text{nm}} / -$	1.		1.		1.	
C2.2.		2.		2.		2.	
		3.		3.		3.	

C2.3.	Vzorový výpočet koncentrácie produktu (invertu) v pôvodnom objeme reakčnej zmesi pre ľubovoľnú enzýmovú reakciu ($M_r(\text{glukóza/fruktóza}) = 180,16$):						
		$C_{S0,1} = \dots\dots$ mol dm ⁻³	<i>kontrola 1</i>	$C_{S0,2} = \dots\dots$ mol dm ⁻³	<i>kontrola 2</i>	$C_{S0,3} = \dots\dots$ mol dm ⁻³	<i>kontrola 3</i>
	$C_{RS} / \text{g dm}^{-3}$	1.		1.		1.	
		2.		2.		2.	
		3.		3.		3.	
$C_{PIRZ} / \text{mol dm}^{-3}$	1.		1.		1.		
	2.		2.		2.		
	3.		3.		3.		
C3.1. a C3.2.	Vzorový výpočet koncentrácie zreagovaného množstva sacharózy pre ľubovoľnú enzýmovú reakciu:						
	Vzorový výpočet špecifickej enzýmovej aktivity pre ľubovoľnú enzýmovú reakciu:						
		$C_{S0,1} = \dots\dots$ mol dm ⁻³	$C_{S0,2} = \dots\dots$ mol dm ⁻³	$C_{S0,3} = \dots\dots$ mol dm ⁻³			
	$C_{S,r} / \text{mol dm}^{-3}$	1.	1.	1.			
		2.	2.	2.			
3.		3.	3.				

	$EA_s / \text{mol min}^{-1} \text{dm}^{-3}$	1.	1.	1.
		2.	2.	2.
		3.	3.	3.
	Priemerná špecifická enzýmová aktivita		$EA_s(\text{avg}) =$	
Úloha D				
D1.6.	Spotreba odmerného roztoku chelátónu 3:			
D1.7.	Spotreba OR na slepý pokus:		$V_{SP} =$	
D1.8.	Vzorový výpočet ekvivalentného objemu V_{ekv} pre ľubovoľné stanovenie:			
	Ekvivalentný objem odmerného roztoku chelátónu 3:			
D1.9.	Odčítaná hmotnosť redukujúcich sacharidov v alikvotnom podiele vzorky:			
	Výpočet priemernej hmotnosti redukujúcich sacharidov pred inverziou v 100 g vzorky ovocného sorbetu:			
	Priemerná hmotnosť RS v 100 g vzorky:		$m_{RS}(\text{avg}) =$	
D2.1.	Výpočet potrebného objemu 10-násobne zriedeného enzýmového preparátu:			
	Objem enzýmu použitý na inverziu:		$V_E =$	

D2.3.	Spotreba odmerného roztoku chelatónu 3:			
D2.4.	Ekvivalentný objem odmerného roztoku chelatónu 3:			
	Odčítaná hmotnosť redukujúcich sacharidov v alikvotnom podiele vzorky:			
	Výpočet priemernej hmotnosti redukujúcich sacharidov po inverzii v 100 g vzorky ovocného sorbetu:			
Priemerná hmotnosť RS v 100 g vzorky:		$m_{RS,i}(avg) =$		
Výpočet obsahu sacharózy v 100 g vzorky ovocného sorbetu ($M_r(\text{glukóza/fruktóza}) = 180,16$; $M_r(\text{sacharóza}) = 342,3$):				
Hmotnosť sacharózy v 100 g vzorky:		$m_{\text{sacharóza}} =$		
D2.5.	Výpočet celkového obsahu cukrov na 100 g ovocného sorbetu:			
Obsah cukrov v 100 g ovocného sorbetu:		$m_{\text{cukry}} =$		

DOPLNKOVÉ ÚLOHY Z PRAXE

Chemická olympiáda – kategória EF – 61. ročník – šk. rok 2024/2025

Školské kolo

Matúš Tomášik

Maximálne 20 pomocných bodov = 10 bodov

Doba riešenia: 60 minút

Úloha 1: Stanovenie obsahu cukrov v jablčnej šťave metódou podľa Bertranda

10,0 cm³ vzorky jablčnej šťavy sa vyčírilo prídavkom 5 cm³ Carrezovho roztoku I a následne 5 cm³ Carrezovho roztoku II. Zmes sa prefiltrovala cez hladký filter za atmosférického tlaku, pričom filtrát sa zachytával do odmernej banky o objeme 500 cm³. Po ukončení filtrácie sa objem roztoku doplnil po značku deionizovanou vodou. Z vyčíreného filtrátu sa na stanovenie ku zahriatej zmesi Fehlingových činidiel pipetovalo do 250 cm³ Erlenmayerovej banky 20,0 cm³. Zmes sa zahriala do varu a mierny var sa udržiaval presne 2 minúty. Po prerušení varu a ochladení reakčnej zmesi sa vylúčený oxid meďný zachytil na filtri pri atmosférickom tlaku. Dokonale premytá zrazenina sa v titračnej banke kvantitatívne rozpustila v 50 cm³ nasýteného roztoku síranu železitého v koncentrovanej kyseline sírovej. Vzniknutá železnatá soľ sa následne ihneď titrovala odmerným roztokom manganistanu draselného o približnej koncentrácii $c = 0,02 \text{ mol dm}^{-3}$.

- 1.1. Vypočítajte presnú koncentráciu odmerného roztoku manganistanu draselného, ktorý bol štandardizovaný na kyselinu šťaveľovú. 100 cm³ štandardného roztoku kyseliny šťaveľovej sa pripravilo rozpustením presne 0,2572 g základnej látky v deionizovanej vode a doplnením objemu po značku. Na štandardizáciu sa pipetovalo 25,0 cm³ štandardného roztoku. Roztok sa na zahrial na teplotu 80 – 90 °C, okysliť sa 10 cm³ kyseliny sírovej ($c = 2 \text{ mol dm}^{-3}$) a ihneď sa titroval odmerným roztok KMnO₄ do slaboružového sfarbenia. Priemerná spotreba odmerného roztoku bola 9,4 cm³. Zapište stechiometrickú rovnicu štandardizácie.
- 1.2. Zapište stechiometrickú rovnicu oxidačno-redukčnej reakcie vylúčeného oxidu meďného so síranom železitým a kyselinou sírovou za vzniku meďnatej a železnatej soli.
- 1.3. Zapište stechiometrickú rovnicu manganometrického stanovenia železnatej soli vzniknutej reakciou Cu₂O so síranom železitým a kyselinou sírovou, a vypočítajte množstvo medi ekvivalentné množstvu Cu₂O vyredukovaného účinkom prítomných redukujúcich sacharidov v miligramoch, ak spotreba odmerného roztoku manganistanu draselného na slepý pokus bola $V_{SP} = 0,1 \text{ cm}^3$ a priemerná spotreba odmerného roztoku na vlastné stanovenie bola $V_{ST} = 11,4 \text{ cm}^3$.

- 1.4. Určte obsah redukujúcich sacharidov v alikvotnom podiele roztoku vzorky použitom na stanovenie v miligramoch, odčítaním hodnoty prislúchajúcej vypočítanému množstvu vyredukovanej medi v priloženej empirickej tabuľke. Ak je to potrebné, na odčítanie presnej hodnoty použite metódu lineárnej interpolácie.

Tab.4 Empirická tabuľka pre stanovenie redukujúcich cukrov metódou podľa Bertranda.

m_{Cu} [mg]	m_{RS} [mg]	m_{Cu} [mg]	m_{RS} [mg]
71,0	36,8	79,9	41,6
71,9	37,3	80,8	42,0
72,8	37,8	81,7	42,5
73,7	38,2	82,6	43,0
74,6	38,7	83,5	43,5
75,5	39,2	84,4	43,9
76,4	39,7	85,2	44,4
77,3	40,2	86,1	44,8
78,1	40,6	87,0	45,3
79,0	41,1	87,9	45,8

- 1.5. Vypočítajte celkový obsah cukrov v gramoch na 100 ml jablčnej šťavy. Výsledok udajte s presnosťou na 2 desatinné miesta.
- 1.6. Prítomnosť ktorých monosacharidov by ste s najväčšou pravdepodobnosťou očakávali v jablčnej šťave?

$$M_r((COOH)_2 \cdot 2H_2O) = 126,07; M_r(Cu) = 63,546$$

Úloha 2: Stanovenie obsahu laktózy v kravskom mlieku metódou podľa Scheiba

Zo vzorky plnotučného kravského mlieka sa na stanovenie pipetovalo 75,0 cm³ do 100 cm³ odmernej banky. Mlieko sa vyčírilo prídavkom 7,5 cm³ 20%ného roztoku kyseliny sírovej a 7,5 cm³ Brückovho činidla (roztok HgI₂ a KI). Po premiešaní sa objem roztoku doplnil po značku deionizovanou vodou. Objem vzniknutej zrazeniny bol približne 6 cm³. Zrazenina sa od vyčíreného roztoku oddelila filtráciou za atmosférického tlaku a číry filtrát sa polarizoval v trubici dlhej 400 mm pri 20 °C a vlnovej dĺžke žltých čiar sodíkového spektra $D = 589,3$ nm. Pri týchto podmienkach mal roztok otáčavosť +8,12 °.

- 2.1. Vypočítajte obsah laktózy v gramoch na 100 cm³ plnotučného mlieka, ak špecifická otáčavosť laktózy je $[\alpha]_D^{20} = +55,30$ °. Výsledok korigujte na objem zrazeniny.
- 2.2. Na stanovenie laktózy v odstredenom kravskom mlieku bol použitý sacharimeter s Ventzkeho sacharimetricou stupnicou. Pri úprave vzorky sa postupovalo rovnako, ako v prípade plnotučného mlieka. Objem zrazeniny bol 3 cm³. Nameraná otáčavosť vyčíreného filtrátu v trubici dlhej 400 mm pri 20 °C a $D = 589,3$ nm bola +23,69 °V.

Vypočítajte obsah laktózy na 100 cm³ odstredeného mlieka, ak 1 °V zodpovedá 0,16428 g laktózy na 100 ml mlieka. Výsledok korigujte na objem zrazeniny.

2.3. Vysvetlite, aký význam má čírenie mlieka pri polarimetrickom stanovení laktózy.

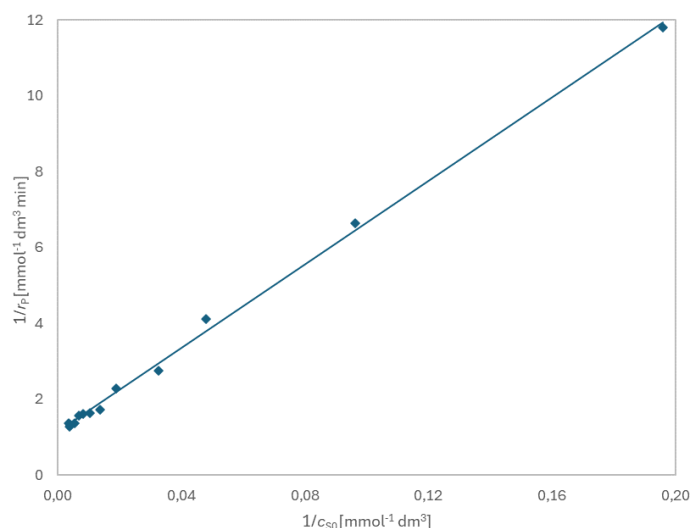
2.4. Možno Scheibeho metódu stanovenia laktózy označiť ako stanovenie metódou priamej polarizácie? Svoje tvrdenie zdôvodnite.

Úloha 3: Určenie enzýmovej aktivity z parametrov Michaelis–Mentenovej kinetického modelu

Metódou počiatkových rýchlostí boli namerané kinetické parametre Michaelis–Mentenovej modelu pre systém invertáza–sacharóza. Na enzýmovú reakciu sa do 1,5 ml Eppendorfových skúmaviek pipetovalo po 80 µl zásobného roztoku enzýmu s koncentráciou $c = 4 \text{ mg cm}^{-3}$. Reakcia sa spustila prídavkom 750 µl zásobného roztoku sacharózy v acetátovom tlmivom roztoku o danej koncentrácii. Po približne 30 minútach sa enzýmová reakcia zastavila prídavkom 100 µl roztoku hydroxidu sodného ($c = 2 \text{ mol dm}^{-3}$). Z experimentálnych údajov sa vyhodnotila linearizovaná závislosť rýchlosti enzýmovej reakcie na počiatkovej koncentrácii substrátu (sacharózy) podľa Lineweavera–Burka v tvare

$$\frac{1}{r_P} = 55,157 \cdot \frac{1}{c_{S0}} + 1,1239$$

kde r_P predstavuje rýchlosť enzýmovej reakcie v $\text{mmol dm}^{-3} \text{ min}^{-1}$ a c_{S0} počiatkovú koncentráciu sacharózy v reakčnej zmesi v mmol dm^{-3} .



Obr. 1 Linearizovaná závislosť r_P na c_{S0} podľa Lineweavera–Burka.

3.1. Z predpisu linearizovanej závislosti rýchlosti enzýmovej reakcie na počiatkovej koncentrácii substrátu vypočítajte kinetické parametre Michaelis–Mentenovej modelu, ak smernica linearizovanej závislosti predstavuje podiel K_M/v_{max} a úsek prevrátenú hodnotu maximálnej rýchlosti enzýmovej reakcie $1/v_{max}$.

- 3.2. Na základe vypočítanej hodnoty maximálnej rýchlosti enzýmovej reakcie v_{max} vypočítajte špecifickú aktivitu vzťahnutú na 1 liter enzýmového preparátu invertázy s koncentráciou 4 g dm^{-3} vzhľadom na celkový objem reakčnej zmesi.
- 3.3. Vypočítajte, koľko gramov čistej invertázy je potrebných na prípravu 100 litrov glukózového sirupu s koncentráciou $c = 600 \text{ g dm}^{-3}$, ak reakčný čas je 8 hodín.

$$M_r(\text{glukóza}) = 180,16$$

ODPOVEĎOVÝ HÁROK K DOPLNKOVÝM ÚLOHÁM Z PRAXE

Chemická olympiáda – kategória EF – 61. ročník – šk. rok 2024/2025

Školské kolo

Škola:	
Meno súťažiaceho:	
Počet pridelených bodov:	Podpis hodnotiteľa:
Úloha 1	
1.1.	Zápis stechiometrickej rovnice deja prebiehajúceho pri štandardizácii:
	Výpočet presnej koncentrácie odmemného roztoku manganistanu draselného:
1.2.	Zápis stechiometrickej rovnice prebiehajúceho deja:
1.3.	Zápis stechiometrickej rovnice deja prebiehajúceho pri stanovení:
	Výpočet ekvivalentného množstva medi:

1.4.	Výpočet hmotnosti redukujúcich sacharidov:	
	Odčítaná hmotnosť RS:	$m_{RS} =$
1.5.	Výpočet celkového obsahu cukrov v 100 ml jablčnej šťavy:	
	Obsah cukrov v 100 ml šťavy:	$m_{cukry} =$
1.6.	Monosacharidy prítomné v jablčnej šťave:	
Úloha 2		
2.1.	Výpočet obsahu laktózy v 100 ml plnotučného kravského mlieka:	
2.2.	Výpočet obsahu laktózy v 100 ml odstredeného kravského mlieka:	
2.3.	Význam čírenia vzorky:	

2.4.	Zdôvodnenie:	
Úloha 3		
3.1.	Výpočet parametrov Michaelis–Mentenovej kinetického modelu:	
	Vypočítaná hodnota v_{\max} :	$v_{\max} =$
	Vypočítaná hodnota K_M :	$K_M =$
3.2.	Výpočet špecifickej enzýmovej aktivity:	
3.3.	Výpočet hmotnosti suchého enzýmu:	

Autori: Ing. Daniel Vašš, Ing. Alena Olexová, Mgr. Ladislav Blaško,
Ing. Ľudmila Glosová, Bc. Matúš Tomášik

Recenzenti: Ing. Jozef Urban, Eva Jazmína Tomečková, Ing. Juraj Malinčík,
Patrik Hollý, Ing. Anna Ďuricová, PhD., Ing. Martina Gánovská,
Ing. Elena Kulichová

Redakčná úprava: Ing. Anna Ďuricová, PhD

Vydal: Národný inštitút vzdelávania a mládeže, Bratislava 2025