

**SLOVENSKÁ KOMISIA CHEMICKEJ OLYMPIÁDY**

---

# **CHEMICKÁ OLYMPIÁDA**

**61. ročník, školský rok 2024/2025**

- **Kategória EF**

**Celoštátne kolo**

**ÚLOHY Z PRAXE**

## ÚLOHY Z ANALYTICKEJ PRAXE

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

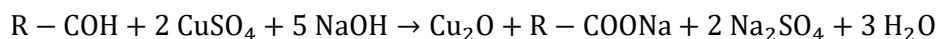
Celoštátne kolo

**Matúš Tomášik**

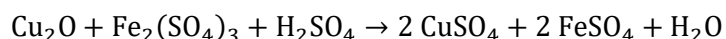
Maximálne 100 pomocných bodov = 50 bodov

Doba riešenia: 300 minút + 15 minút na prečítanie zadania

Sirupy sú z potravinárskeho hľadiska koncentrované cukorné roztoky, ktoré môžu obsahovať aromatické látky, farbivá a stabilizátory. Príprava sirupu zahŕňa extrakciu aromatických a ďalších prírodných látok z ovocia alebo ovocných kvetov do koncentrovaného cukorného roztoku. Pri varení ochutených sirupov sa ako stabilizátor pridáva kyselina citrónová. Kyselina citrónová spolu so zvýšenou teplotou pri varení sirupu zapríčiňuje čiastočné hydrolytické štiepenie sacharózy, čo má za následok nižší obsah sacharózy vo výslednom produkte, aký sa na výrobu sirupu použil. Cieľom celoštátneho kola bude stanoviť celkový obsah cukrov a podiel zinvertovanej sacharózy vo vzorke domáceho bazového sirupu titračnou metódou podľa Bertranda a refraktometrickým stanovením. Bertandova metóda je založená na manganometrickom stanovení vyredukovaného oxidu meďného zo zmesi Fehlingových roztokov. Rovnicu redukcie meďnatých iónov možno zapísať v tvare:



Vylúčený oxid meďný sa následne rozpustí v nadbytku síranu železitého a látkové množstvo vzniknutej železatej soli sa stanoví manganometricky.



Náplňou úloh celoštátneho kola je:

- stanoviť celkový obsah cukrov vo vzorke bazového sirupu metódou podľa Bertanda,
- stanoviť podiel sacharózy zhydrolyzovanej počas varenia sirupu,
- vypočítať aktivitu zriedeného enzýmového preparátu INVERTOFIX® na základe nameraných dát a enzýmový preparát aplikovať pri inverzii sacharózy prítomnej vo vzorke,
- refraktometricky stanoviť obsah sacharózy vo vzorke bazového sirupu.

*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.*

K dispozícii sú nasledovné chemické látky a roztoky:

- tuhý dihydrát kyseliny šťaveľovej, p.a.,
- tuhý manganistan draselný, p.a.,
- roztok kyseliny sírovej ( $c = 2 \text{ mol dm}^{-3}$ ),
- Carrezov roztok I (vodný roztok hexakyanidoželeznatánu draselného),
- Carrezov roztok II (vodný roztok síranu zinočnatého),
- nasýtený roztok síranu železitého,
- Fehlingov roztok I (vodný roztok pentahydrátu síranu meďnatého),
- Fehlingov roztok II (vodný roztok vínánu draselno-sodného a hydroxidu sodného),
- acetátový tlmivý roztok  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$  (pH 4,8;  $c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ ),
- zriedený enzýmový preparát INVERTOFIX® (1 : 9),
- D-fruktóza, p.a.,
- D-glukóza, p.a.,
- vzorka bazového sirupu,
- zásobný roztok vzorky sirupu po inverzii.

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

| Názov chemikálie   | H vety   | P vety   |
|--|--|--|
| Kyselina šťaveľová, dihydrát   | H302+H312, H318  | P270, P280, P305+P351+P338, P310                                   |
| Manganistan draselný   | H272, H302, H314,<br>H361d, H373, H410   | P220, P273, P280   |
| Kyselina sírová, roztok  | H290, H314   | P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353,<br>P305+P351+P338, P308+P311 |
| 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.  |  |
| Síran železitý   | H302, H315, H318   | P290, P305+P351+P338   |
| Fehlingov roztok I   | H318, H410   | P273, P280, P305+P351+P338, P310, P391                             |
| Fehlingov roztok II  | H290, H314   | P260, P280, P303+P361+P353,<br>P305+P351+P338, P310                |
| Acetátový tlmivý roztok ( $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ ) | 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.  |  |
| 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. |  |

## Úloha A: Príprava roztokov a stanovenie ich presnej koncentrácie

### Úloha A1: Príprava roztokov

- A1.1. Vypočítajte hmotnosť manganistanu draselného potrebnú na prípravu 200 cm<sup>3</sup> odmerného roztoku o približnej koncentrácii  $c = 0,02 \text{ mol dm}^{-3}$ . Odmerný roztok následne pripravte navážením a rozpustením vypočítaného množstva KMnO<sub>4</sub> v deionizovanej vode a doplnením odmernej banky po značku. Roztok dôkladne zhomogenizujte.
- A1.2. Vypočítajte množstvo dihydrátu kyseliny šľaveľovej potrebné na prípravu 100 cm<sup>3</sup> štandardného roztoku o koncentrácii blízkej  $c = 0,03 \text{ mol dm}^{-3}$ . Roztok pripravte a vypočítajte jeho presnú koncentráciu.

### Úloha A2: Stanovenie presnej koncentrácie odmerného roztoku manganistanu draselného

- A2.1. Do titračnej banky pipetujte 25,0 cm<sup>3</sup> štandardného roztoku kyseliny šľaveľovej, ktorý ste pripravili v úlohe A1.2. Roztok v banke zahrejte na 80 – 90 °C, okyslite 10 cm<sup>3</sup> roztoku kyseliny sírovej ( $c = 2 \text{ mol dm}^{-3}$ ) a za horúca titrujte odmerným roztokom manganistanu draselného do slabo ružového sfarbenia stáleho aspoň 30 sekúnd. Vykonajte potrebný počet paralelných stanovení.
- A2.2. Na základe nameraných hodnôt vypočítajte presnú koncentráciu odmerného roztoku manganistanu draselného. Do odpovedového hárka zapíšte stechiometrickú rovnicu deja prebiehajúceho pri štandardizácii.

### Úloha B: Úprava vzorky bazového sirupu na stanovenie cukrov

- B1. Zo vzorky bazového sirupu v liekovke odpipetujte 2,0 cm<sup>3</sup> do 150 cm<sup>3</sup> kadičky. Vzorku v kadičke zriedte asi 10 cm<sup>3</sup> deionizovanej vody.
- B2. K roztoku v kadičke pridajte po kvapkách za stáleho miešania najskôr 5 cm<sup>3</sup> Carrezovho roztoku I a následne 5 cm<sup>3</sup> Carrezovho roztoku II.
- B3. Zostavte aparatúru na jednoduchú filtráciu a vzniknutú zrazeninu prefiltrujte cez hladký filter. Filtrát zachytávajte do 250 cm<sup>3</sup> odmernej banky. Zrazeninu na filtri ešte niekoľkokrát premyte deionizovanou vodou. Po ukončení filtrácie obsah banky doplňte po značku deionizovanou vodou a dôkladne zhomogenizujte.

### Úloha C: Výpočet aktivity enzýmového prípravku INVERTOFIX®

Stanovenie enzýmovej aktivity prebehlo podľa nasledovného postupu: Na enzýmovú reakciu sa do 2 ml Eppendorfových skúmaviiek pipetovalo po 200 μl acetátového tlivého roztoku (CH<sub>3</sub>COOH/CH<sub>3</sub>COONa; pH 4,8;  $c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ ) a po 10 μl enzýmového preparátu INVERTOFIX® zriedeného deionizovanou vodou v pomere 1:9. Ďalej sa pridal predpísaný

objem deionizovanej vody a reakcia sa spustila prídavkom predpísaného objemu zásobného roztoku sacharózy ( $c = 2 \text{ mol dm}^{-3}$ ). Po približne 30 minútach sa reakcia prerušila povarením reakčných zmesí po dobu 5 minút pri teplote  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ . Súbežne sa ku každej enzýmovej reakcii uskutočnenej pri určitej počiatkovej koncentrácii substrátu vykonalo kontrolné stanovenie. Na kontrolné stanovenie sa pipetovalo po  $200 \text{ } \mu\text{l}$  acetátového tlmivého roztoku a príslušné objemy deionizovanej vody a zásobného roztoku substrátu. Po 30 minútach sa zmes povarila 5 minút pri teplote  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  a po vychladnutí sa pridalo po  $10 \text{ } \mu\text{l}$  inaktivovaného zriedeného enzýmového preparátu. Na stanovenie koncentrácie produktu sa do 2 ml Eppendorfovej skúmavky pipetovali  $2 \text{ } \mu\text{l}$  príslušnej reakčnej zmesi, pridalo sa  $38 \text{ } \mu\text{l}$  deionizovanej vody a  $160 \text{ } \mu\text{l}$  reagentie s kyselinou 3,5-dinitrosalicylovou. Roztoky sa nechali 5 minút inkubovať pri teplote  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ . Po ochladení sa objem zmesi doplnil na  $1,8 \text{ ml}$  deionizovanou vodou a zmerala sa absorbancia pri  $540 \text{ nm}$  oproti zmesi deionizovanej vody a DNS (blanku). Všetky experimentálne získané údaje sú uvedené v Tab. 2.

Tab. 2 Experimentálne údaje pre určenie enzýmovej aktivity preparátu INVERTOFIX®.

|  | 1       | 2       | 3       |
|--|---------|---------|---------|
| Acetátový tlmivý roztok ( $\text{pH } 4,8$ ; $c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ ) / $\mu\text{l}$ | 200     | 200     | 200     |
| Enzýmový preparát (1:9) / $\mu\text{l}$  | 10      | 10      | 10      |
| Deionizovaná voda / $\mu\text{l}$  | 170     | 150     | 30      |
| Substrát ( $c = 2 \text{ mol dm}^{-3}$ ) / $\mu\text{l}$                                   | 580     | 600     | 720     |
| Čas začiatku merania ( $t_{R,\text{start}}$ ) / min  | 0,0315  | 0,5343  | 1,2312  |
| Čas ukončenia merania ( $t_{R,\text{stop}}$ ) / min  | 30,0897 | 30,5458 | 31,2413 |
| Objem reakčnej zmesi na stanovenie produktov / $\mu\text{l}$                               | 2       | 2       | 2       |
| Absorbancia ( $540 \text{ nm}$ )   | 0,213   | 0,220   | 0,245   |
| Absorbancia ( $540 \text{ nm}$ ) – kontrolné stanovenie                                    | 0,011   | 0,012   | 0,011   |

- C1. Vypočítajte počiatkové koncentrácie substrátu (sacharózy) v jednotlivých reakčných zmesiach a vypočítajte reakčné časy jednotlivých enzýmových reakcií.
- C2. Pre jednotlivé reakčné systémy vypočítajte výslednú koncentráciu produktu v  $\text{mol dm}^{-3}$  odčítaním koncentrácie redukujúcich sacharidov pri kontrolnom stanovení od stanovenej koncentrácie redukujúcich sacharidov v reakčnej zmesi, ak kalibračná závislosť pre spektrofotometrické stanovenie redukujúcich sacharidov metódou podľa Millera má tvar

$$A_{540} = 7,5818 \cdot c_{RS} - 0,0287$$

kde  $A_{540}$  je absorbancia pri  $540 \text{ nm}$  oproti zmesi deionizovanej vody a DNS (blanku),  
 $c_{RS}$  je koncentrácia redukujúcich sacharidov v  $\text{g dm}^{-3}$ .

- C3. Pre jednotlivé reakčné systémy vypočítajte zreagované množstvo sacharózy, vzťahnuté na objem reakčnej zmesi. Vypočítajte špecifickú aktivitu pôvodného 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  $\text{mol min}^{-1} \text{ dm}^{-3}$ ,  
 $c_{S,r}$  je koncentrácia zreagovaného množstva substrátu v  $\text{mol dm}^{-3}$ ,  
 $t_R$  je reakčný čas v min,  
 $V_{RZ}$  je objem reakčnej zmesi v  $\text{dm}^3$ ,  
 $V_{EP}$  je objem pridaného enzýmového preparátu v  $\text{dm}^3$ .

- C4. Určte priemernú enzýmovú aktivitu pôvodného enzýmového preparátu, ako aritmetický priemer hodnôt vypočítaných v úlohe C3.

### Úloha D: Stanovenie obsahu sacharózy vo vzorke bazového sirupu

#### Úloha D1: Stanovenie množstva redukujúcich sacharidov pred inverziou metódou podľa Bertranda

- D1.1. Do Erlenmayerovej banky o objeme  $250 \text{ cm}^3$  pipetujte po  $20,0 \text{ cm}^3$  Fehlingovho roztoku I a Fehlingovho roztoku II a zmes mierne zahrejte na variči.
- D1.2. Ku zahriatej zmesi Fehlingových roztokov pipetujte  $20,0 \text{ cm}^3$  vyčíreného roztoku vzorky pripraveného v úlohe B. Reakčnú zmes následne uveďte do varu. Mierny var udržiajte presne 2 min (čas merajte stopkami).
- D1.3. Po uplynutí predpísaného času var prerušte prídavkom  $50 \text{ cm}^3$  deionizovanej vody a reakčnú zmes ochladte vo vodnom kúpeli na laboratórnu teplotu.
- D1.4. Zostavte aparatúru na jednoduchú filtráciu pri atmosférickom tlaku a vzniknutý oxid meďný dekantujte cez hladký filter. Zrazeninu na filtri niekoľkokrát premyte horúcou deionizovanou vodou. *Pozn.: Majte na zreteli, aby zachytávaný oxid meďný nebol vystavený oxidačnému pôsobeniu vzdušného kyslíka (zrazeninu stále udržiajte pod vrstvou deionizovanej vody).*
- D1.5. Zrazeninu  $\text{Cu}_2\text{O}$  kvantitatívne preneste spolu s filtračným papierom do titračnej banky a rozpustite ju v prídavku  $40 \text{ cm}^3$  kyslého nasýteného roztoku síranu železitého.
- D1.6. Po rozpustení zrazeniny obsah titračnej banky ihneď titrujte odmerným roztokom manganistanu draselného do slabo ružového sfarbenia stáleho aspoň 10 sekúnd. 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 slepeho pokusu postupujte rovnako podľa postupu opísaného v bodoch D1.1. až D1.6., pričom roztok vzorky nahradte  $20,0 \text{ cm}^3$  deionizovanej vody. Nameraný údaj zapíšte do odpovedového hárka.

- D1.8. Na základe nameraných hodnôt pre každé stanovenie vypočítajte hmotnosť vyredukovanej medi v mg ekvivalentnú ku hmotnosti vylúčeného oxidu meďného. Jednotlivé spotreby odmerného roztoku korigujte na výsledok slepého pokusu.
- D1.9. K vypočítaným množstvám vyredukovanej medi odčítajte pre jednotlivé stanovenia z empirickej tabuľky zodpovedajúcu hmotnosť invertného cukru v alikvotnom podiele vzorky použitom na stanovenie. Vypočítajte priemernú hmotnosť redukujúcich sacharidov v pôvodnej vzorke v mg, ako aj hmotnostnú koncentráciu glukózy a fruktózy (invertného cukru) v pôvodnej vzorke bazového sirupu. Výsledok uďte v mg cm<sup>-3</sup>. Určte, akému množstvu sacharózy v mg toto množstvo invertného cukru zodpovedá.

Tab.3 Empirická tabuľka pre stanovenie redukujúcich cukrov metódou podľa Bertranda.

| $m_{Cu}$<br>[mg] | $m_{invert}$<br>[mg] | $m_{Cu}$<br>[mg] | $m_{invert}$<br>[mg] | $m_{Cu}$<br>[mg] | $m_{invert}$<br>[mg] | $m_{Cu}$<br>[mg] | $m_{invert}$<br>[mg] |
|------------------|----------------------|------------------|----------------------|------------------|----------------------|------------------|----------------------|
| 59,5             | 30,9                 | 72,8             | 37,8                 | 86,1             | 44,8                 | 99,4             | 51,8                 |
| 60,4             | 31,4                 | 73,7             | 38,2                 | 87,0             | 45,3                 | 100,3            | 52,3                 |
| 61,3             | 31,8                 | 74,6             | 38,7                 | 87,9             | 45,8                 | 101,2            | 52,8                 |
| 62,2             | 32,3                 | 75,5             | 39,2                 | 88,8             | 46,2                 | 102,1            | 53,2                 |
| 63,0             | 32,7                 | 76,4             | 39,7                 | 89,7             | 46,7                 | 103,0            | 53,7                 |
| 63,9             | 33,1                 | 77,3             | 40,2                 | 90,6             | 47,2                 | 103,9            | 54,2                 |
| 64,8             | 33,6                 | 78,1             | 40,6                 | 91,5             | 47,6                 | 104,8            | 54,7                 |
| 65,7             | 34,1                 | 79,0             | 41,1                 | 92,3             | 48,0                 | 105,7            | 55,2                 |
| 66,6             | 34,5                 | 79,9             | 41,6                 | 93,2             | 48,5                 | 106,6            | 55,7                 |
| 67,5             | 35,0                 | 80,8             | 42,0                 | 94,1             | 49,0                 | 107,4            | 56,1                 |
| 68,4             | 35,5                 | 81,7             | 42,5                 | 95,0             | 49,5                 | 108,3            | 56,5                 |
| 69,3             | 35,9                 | 82,6             | 43,0                 | 95,9             | 49,9                 | 109,2            | 57,0                 |
| 70,2             | 36,4                 | 83,5             | 43,5                 | 96,8             | 50,4                 | 110,1            | 57,5                 |
| 71,0             | 36,8                 | 84,4             | 43,9                 | 97,7             | 50,9                 | 111,0            | 58,0                 |
| 71,9             | 37,3                 | 85,2             | 44,4                 | 98,6             | 51,4                 | 111,9            | 58,5                 |

### Úloha D2: Stanovenie množstva redukujúcich sacharidov po inverzii metódou podľa Bertranda s využitím enzýmovej inverzie sacharózy

- D2.1. Na základe vypočítanej aktivity enzýmového preparátu INVERTOFIX® vypočítajte objem 10-násobne zriedeného enzýmového prípravku potrebný na inverziu množstva sacharózy obsiahnutého v 50 cm<sup>3</sup> vyčíreného roztoku vzorky, ak reakčný čas má byť 30 minút. Pri výpočte vychádzajte z údajov, že na prípravu 7 litrov sirupu sa použili 3 kilogramy sacharózy.
- D2.2. Na inverziu sacharózy obsiahnutej vo vzorke pipetujte do 100 cm<sup>3</sup> odmernej banky 50,0 cm<sup>3</sup> vyčíreného roztoku vzorky. Prídavkom 15,0 cm<sup>3</sup> acetátového tlmivého roztoku (CH<sub>3</sub>COOH/CH<sub>3</sub>COONa; pH 4,8;  $c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ ) upravte pH na 4,8. Pridajte vypočítané množstvo 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 250 cm<sup>3</sup> Erlenmayerovej banky po 20,0 cm<sup>3</sup> Fehlingových roztokov I a II a 20,0 cm<sup>3</sup> roztoku vzorky po inverzii. Stanovenie vykonajte podľa postupu uvedeného v úlohe D1. Vykonajte potrebný počet paralelných stanovení.
- D2.4. Na základe nameraných hodnôt pre každé stanovenie vypočítajte hmotnosť vyredukovanej medi v mg, ekvivalentnú ku hmotnosti vylúčeného oxidu meďného. Jednotlivé spotreby odmerného roztoku korigujte na výsledok slepého pokusu.
- D2.5. Z empirickej tabuľky odčítajte pre jednotlivé stanovenia zodpovedajúcu hmotnosť invertného cukru v alikvotnom podiele vzorky použitom na stanovenie. Vypočítajte priemernú hmotnosť redukujúcich sacharidov po inverzii v pôvodnej vzorke v mg.
- D2.6. Z rozdielu obsahu redukujúcich sacharidov pred inverziou a po inverzii vypočítajte hmotnostnú koncentráciu sacharózy v pôvodnom sirupe. Vypočítajte, aký podiel sacharózy zinvertoval pri príprave sirupu vplyvom kyslého prostredia a zvýšenej teploty, ak neuvažujeme prítomnosť žiadnych iných redukujúcich sacharidov.

### **Úloha D3: Refraktometrické stanovenie sacharózy po inverzii**

- D3.1. Pripravte 50 cm<sup>3</sup> štandardného roztoku redukujúcich sacharidov s koncentráciou 100 mg cm<sup>-3</sup> navážením ekvimolárneho množstva D-glukózy a D-fruktózy s analytickou presnosťou. Vypočítajte presnú koncentráciu pripraveného roztoku.
- D3.2. Riedením pripraveného štandardného roztoku pripravte sadu kalibračných roztokov. Do odmerných baniek s objemom 10 cm<sup>3</sup> pipetujte postupne 2,0; 4,0; 6,0 a 8,0 cm<sup>3</sup> štandardného roztoku. Jednotlivé roztoky doplňte po značku deionizovanou vodou a zhomogenizujte. Vypočítajte presnú koncentráciu pripravených kalibračných roztokov.
- D3.3. Odmerajte index lomu pripravených kalibračných roztokov, ako aj index lomu destilovanej vody a pôvodného štandardného roztoku. Každé meranie opakujte trikrát a namerané hodnoty zapíšte do odpovedového hárka.
- D3.4. Z nameraných hodnôt zostrojte na priložený milimetrový papier kalibračnú závislosť pre stanovenie invertného cukru.
- D3.5. K dispozícii máte zásobný roztok vzorky po inverzii. Roztok bol pripravený nasledovne: 50,0 cm<sup>3</sup> vzorky sirupu sa zriedilo na objem cca 100 cm<sup>3</sup> deionizovanou vodou a vyčírilo prídavkom 15 cm<sup>3</sup> Carrezovho roztoku I a 15 cm<sup>3</sup> Carrezovho roztoku II. Na inverziu prítomnej sacharózy sa pridalo 15,0 cm<sup>3</sup> koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej a reakčná zmes sa zahrievala 8 minút pri teplote 68 – 70 °C. Po vychladnutí sa roztok zneutralizoval roztokom hydroxidu sodného ( $c = 4 \text{ mol dm}^{-3}$ ) a doplnil na objem 500 cm<sup>3</sup>



v odmernej banke. Zmerajte index lomu takto pripraveného roztoku vzorky po inverzii. Meranie opakujte trikrát. Namerané hodnoty zapíšte do odpovedového hárka.

- D3.6. Na základe priemernej hodnoty indexu lomu roztoku vzorky z kalibračnej krivky odčítajte hmotnostnú koncentráciu redukujúcich sacharidov v zásobnom roztoku vzorky. Vypočítajte hmotnostnú koncentráciu redukujúcich sacharidov v pôvodnej vzorke bazového sirupu.
- D3.7. Vypočítajte, akej koncentrácii sacharózy zodpovedá stanovená koncentrácia redukujúcich sacharidov, ak predpokladáme, že sirup pôvodne obsahoval iba sacharózu.
- D3.8. Porovnajete výsledky získané odmerným a refraktometrickým stanovením.

## DOPLNKOVÉ ÚLOHY Z PRAXE

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

Celoštátne kolo

**Matúš Tomášik**

Maximálne 20 pomocných bodov = 10 bodov

Doba riešenia: 60 minút

### Úloha 1: Stanovenie laktózy vedľa sacharózy v mliečnej čokoláde metódou podľa Luffa–Schoorla

Návažok presne 10,23 g mliečnej čokolády sa spolu s 0,5 g uhličitanu vápenatého rozpustil pri 50 – 60 °C pod spätným chladičom v 100 cm<sup>3</sup> deionizovanej vody. Po ochladení sa roztok vzorky vyčírnil prídavkom 2 cm<sup>3</sup> 40%ného roztoku zásaditého octanu olovnatého a prefiltraval cez hladký filter. Na jódometrické stanovenie sa z filtrátu pipetovalo 25,0 cm<sup>3</sup> do 100 cm<sup>3</sup> odmernej banky. K filtrátu sa pridal 1 cm<sup>3</sup> nasýteného roztoku hydrogénfosforečnanu sodného a po prefiltrovaní sa doplnil po značku deionizovanou vodou. Z takto upraveného roztoku vzorky sa na vlastné stanovenie laktózy pipetovalo 20,0 cm<sup>3</sup> do 250 cm<sup>3</sup> Erlenmayerovej banky. Pridalo sa 25,0 cm<sup>3</sup> Luffovho roztoku, 5,0 cm<sup>3</sup> deionizovanej vody a zmes sa počas 2 minút priviedla k varu. Mierny var sa udržiaval presne 10 minút. Po ochladení reakčnej zmesi sa pridali 3 g jodidu draselného a 20,0 cm<sup>3</sup> roztoku kyseliny sírovej ( $c = 2 \text{ mol dm}^{-3}$ ). Vylúčený jód sa titroval odmerným roztokom tiosíranu sodného o približnej koncentrácii  $c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  do žltého sfarbenia a po prídavku 3 cm<sup>3</sup> indikátora škrobový maz sa roztok dotitroval do vymiznutia modrého sfarbenia.

- 1.1. Vypočítajte presnú koncentráciu odmerného roztoku tiosíranu sodného, ak sa na štandardizáciu pipetovalo 50,0 cm<sup>3</sup> štandardného roztoku jodičnanu draselného, ktorý sa pripravil rozpustením 0,1452 g tuhého KIO<sub>3</sub> v deionizovanej vode a doplnením celkového objemu na 200 cm<sup>3</sup>. Priemerná spotreba odmerného roztoku na titráciu jódu vylúčeného prídavkom 0,5 g KI a 5,0 cm<sup>3</sup> kyseliny sírovej ( $c = 3 \text{ mol dm}^{-3}$ ) bola 10,4 cm<sup>3</sup>. Zapište stechiometrické rovnice dejov, ktoré prebiehajú pri štandardizácii odmerného roztoku.
- 1.2. Určte obsah laktózy v alikvotnom podiele roztoku vzorky použitom na stanovenie v miligramoch, ak spotreba odmerného roztoku tiosíranu sodného na slepý pokus bola  $V_{SP} = 24,6 \text{ cm}^3$  a priemerná spotreba odmerného roztoku na vlastné stanovenie bola  $V_{ST} = 13,9 \text{ cm}^3$ . Množstvo laktózy odčítajte metódou lineárnej interpolácie z priloženej empirickej tabuľky na základe vypočítaného ekvivalentného objemu odmerného roztoku tiosíranu sodného podľa vzťahu

$$V_{ekv} = \frac{(V_{SP} - V_{ST}) \cdot c_{OR}}{0,1}$$

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

Tab.4 Empirická tabuľka pre stanovenie laktózy metódou podľa Luffa–Schoorla.

| $V_{ekv}$<br>[cm <sup>3</sup> ] | $m_{laktóza}$<br>[mg] | $V_{ekv}$<br>[cm <sup>3</sup> ] | $m_{laktóza}$<br>[mg] |
|---------------------------------|-----------------------|---------------------------------|-----------------------|
| 1                               | 3,6                   | 12                              | 44,6                  |
| 2                               | 7,3                   | 13                              | 48,4                  |
| 3                               | 11,0                  | 14                              | 52,2                  |
| 4                               | 14,7                  | 15                              | 56,0                  |
| 5                               | 18,4                  | 16                              | 59,9                  |
| 6                               | 22,1                  | 17                              | 63,8                  |
| 7                               | 25,8                  | 18                              | 67,7                  |
| 8                               | 29,5                  | 19                              | 71,7                  |
| 9                               | 33,2                  | 20                              | 75,7                  |
| 10                              | 37,0                  | 21                              | 79,8                  |
| 11                              | 40,8                  | 22                              | 83,9                  |

- 1.3. Vypočítajte obsah laktózy v gramoch, vzťahnutý na 100 g mliečnej čokolády. Výsledok uďte s presnosťou na dve desatinné miesta.
- 1.4. Vysvetlite, prečo je možné stanoviť laktózu vedľa sacharózy oxido-redukčnou titračnou metódou. Uvedte hlavný rozdiel medzi týmito sacharidmi.
- 1.5. Vysvetlite, prečo je pri rozpúšťaní vzorky potrebné roztok neutralizovať prídavkom uhličitanu vápenatého.

$$M_r(\text{KIO}_3) = 214,001$$

## Úloha 2: Stanovenie sacharózy vedľa laktózy v mliečnej čokoláde metódou priamej polarizácie podľa Thaleru

Pri príprave cukorného extraktu na polarimetrické stanovenie sacharózy sa postupovalo rovnako, ako pri jódometrickom stanovení laktózy v úlohe 1: Návažok 10,23 g vzorky mliečnej čokolády sa spolu s prídavkom 0,5 g uhličitanu vápenatého digeroval pri teplote 50 – 60 °C pomocou 100 cm<sup>3</sup> deionizovanej vody, vyčírila sa prídavkom 2 cm<sup>3</sup> 40%ného roztoku zásaditého octanu olovnatého a prefiltroval cez hladký filter. Z filtrátu sa na stanovenie pipetovalo 50,0 cm<sup>3</sup> do 100 cm<sup>3</sup> odmernej banky. Na inaktiváciu optickej aktivity laktózy sa pridal 1 g tuhého hydroxidu bárnateho. Reakčná zmes sa za občasného premiešania zahrievala na vodnom kúpeli pri teplote 70 – 80 °C 1 hodinu. Po ochladení sa obsah banky zneutralizoval roztokom kyseliny sírovej ( $w = 0,15$ ) a doplnil po značku deionizovanou vodou. Vzniknutá zrazenina o objeme približne 2 cm<sup>3</sup> sa zachytila na filtri pri atmosférickom tlaku.

Vyčírený filtrát sa polarizoval v trubici dlhej 200 mm pri 20 °C a vlnovej dĺžke žltých čiar sodíkového spektra  $D = 589,3$  nm. Pri týchto podmienkach mal filtrát otáčavosť  $+ 9,1$  °V.

- 2.1. Vypočítajte obsah sacharózy v polarizovanom roztoku (v gramoch), ak špecifická otáčavosť sacharózy je  $[\alpha]_D^{20} = + 66,44$  °kruhových. Pri výpočte uvažujte, že 1 °kruhový zodpovedá 2,8854 °V. Výslednú hmotnosť sacharózy korigujte na objem zrazeniny (od celkového objemu je potrebné odčítať objem zrazeniny!).
- 2.2. Vypočítajte obsah sacharózy v gramoch, vzťahnutý na 100 g mliečnej čokolády. Výsledok uďte s presnosťou na 2 desatinné miesta. Na základe vypočítaného množstva laktózy v úlohe 1.3. vypočítajte celkový obsah cukrov na 100 g analyzovaného výrobku za predpokladu, že mliečna čokoláda obsahuje iba sacharózu a laktózu.
- 2.3. Pre pomerne presné a rýchle stanovenie sacharózy sa v praxi využívajú tzv. sacharimetre. Výhodou použitia sacharimetrov je prakticky okamžitý výsledok merania – zo stupnice °V alebo °S vieme priamo určiť obsah sacharózy v skúmanom roztoku pri dodržaní podmienok stanovenia. Odčítajte obsah sacharózy v nami analyzovanom roztoku a výsledok prepočítajte na 100 g mliečnej čokolády. Výsledok korigujte na objem zrazeniny! Porovnajete výsledok získaný empiricky a výpočtom v úlohe 2.1.

Tab.5 Empirická tabuľka pre priame polarimetrické stanovenie sacharózy v 200 mm trubici pri 20 °C a vlnovej dĺžke  $D = 589,3$  nm (hmotnosť sacharózy v g na 100 ml roztoku).

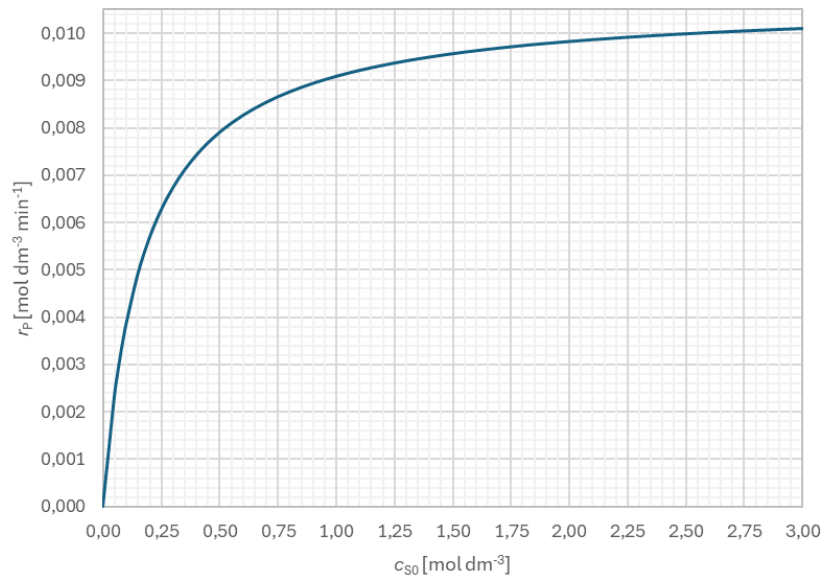
| °V | $m_{\text{sacharóza}}$<br>[g] | °V | $m_{\text{sacharóza}}$<br>[g] |
|----|-------------------------------|----|-------------------------------|
| 1  | 0,260                         | 6  | 1,562                         |
| 2  | 0,521                         | 7  | 1,822                         |
| 3  | 0,781                         | 8  | 2,082                         |
| 4  | 1,041                         | 9  | 2,342                         |
| 5  | 1,301                         | 10 | 2,603                         |

- 2.4. Ďalším spôsobom, ako možno polarimetricky stanoviť obsah sacharózy vo vzorke v prítomnosti ďalšieho cukru je tzv. metóda dvojnej polarizácie. Uvedte, v čom spočíva princíp tejto metódy a aké sú predpoklady pre toto stanovenie. Prečo v prípade stanovenia sacharózy vedľa laktózy nie je možné využiť túto metódu?

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

Metódou počiatočných rýchlostí boli stanovené kinetické parametre Michaelis–Mentenovej kinetického modelu pre systém invertáza–sacharóza. Na enzýmovú reakciu sa do 1,5 ml Eppendorfových skúmaviek pipetovalo po 200  $\mu$ l acetátového tlmivého roztoku ( $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 4,8), 2  $\mu$ l koncentrovaného enzýmového preparátu a 750  $\mu$ l

zásobného roztoku substrátu (sacharózy) o danej koncentrácii. Po približne 30 minútach sa reakcia zastavila povarením reakčných zmesí vo vriacom vodnom kúpeli pri teplote 100 °C. Po vychladnutí sa stanovila koncentrácia produktov (glukózy a fruktózy) vo výslednom objeme reakčnej zmesi. Z experimentálnych údajov sa získala závislosť rýchlosti enzýmovej reakcie na počiatočnej koncentrácii substrátu (sacharózy) zobrazená na Obr. 1.



Obr. 1 Závislosť rýchlosti enzýmovej reakcie  $r_P$  na počiatočnej koncentrácii substrátu  $c_{S0}$ .

- 3.1. Z nameranej závislosti rýchlosti enzýmovej reakcie na počiatočnej koncentrácii substrátu na Obr. 1 odčítajte kinetické parametre  $v_{max}$  a  $K_M$  Michaelis–Mentenovej kinetického modelu.
- 3.2. Na základe odčítanej hodnoty maximálnej rýchlosti enzýmovej reakcie  $v_{max}$  vypočítajte špecifickú aktivitu vzťahnutú na 1 liter koncentrovaného enzýmového preparátu invertázy vzhľadom na celkový objem reakčnej zmesi.
- 3.3. Vypočítajte, koľko litrov 100-násobne zriedeného enzýmového preparátu je potrebných na prípravu 200 litrov glukózo–fruktózového sirupu s koncentraciou cukrov  $c = 1200 \text{ g dm}^{-3}$ , ak reakčný čas je 20 hodín.

$$M_r(\text{glukóza/fruktóza}) = 180,16$$

---

Autor: Matúš Tomášik

Recenzenti: Ing. Martina Gánovská, Ing. Elena Kulichová,

Redakčná úprava: Ing. Anna Ďuricová, PhD.(vedúca autorského kolektívu)

Slovenská komisia Chemickej olympiády

Vydal: NIVAM, Bratislava 2025