

ГОРОДСКАЯ НАУЧНО - ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

«ШАГ В БУДУЩЕЕ»

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СВОЙСТВ
ЭНЗИМНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

Автор: обучающаяся 11 класса

МБУ ДО «Межшкольный учебный комбинат»

Тихомирова Софья Александровна

Руководитель: педагог дополнительного образования

Евстратова Елена Александровна

Ханты-Мансийск

2022

«Исследование ферментативных свойств энзимных препаратов»

Автор: Тихомирова Софья Александровна, 11 класс,
МБУ ДО «Межшкольный учебный комбинат» г. Ханты-Мансийск
Научный руководитель: Евстратова Елена Александровна
педагог дополнительного образования

1. Введение. Актуальность исследования.

Болезни желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются актуальной клинической и социальной проблемой. Согласно официальной медицинской статистике, в России заболевания ЖКТ занимают третье место по причинам смертности. [1] Среди лекарственных средств лечения проблем пищеварения особое место занимают ферментативные препараты. В настоящее время мировая фармацевтическая промышленность выпускает большое количество ферментных препаратов, которые отличаются друг от друга как дозой содержащихся в них пищеварительных ферментов, так и различными добавками [2], но покупать реклама призывает в основном Мезим. И действительно, по данным аптек города Ханты-Мансийска Мезим пользуется у населения популярностью, да и телевидение чаще всего демонстрирует рекламу этого препарата, утверждая, что именно он содержит ферменты, незаменимые для желудка, особенно когда происходят нарушения пищеварения.

Социологи утверждают, что 90% покупок люди делают под влиянием рекламы. При болях в желудке или тошноте в нашей семье также употребляют Мезим и не только его. **Актуальность** работы в том, что многообразие ферментосодержащих лекарственных препаратов создает определенные трудности выбора, следовательно, необходимы исследования в части определения их эффективности и подтверждения особых свойств Мезима. Из курса химии и биологии я знаю, что ферменты (энзимы) — это белки со специфическими свойствами, значит, используя знания химии о методах анализа строения и свойств веществ, я могу исследовать работу ферментов на примере данной группы лекарственных препаратов.

Меня заинтересовало:

- Какие ферментативные препараты предпочитают жители Ханты-Мансийска
- каково их действие на желудочно-кишечный тракт
- как можно исследовать действие данных препаратов на процессы пищеварения
- какие из ферментосодержащих препаратов являются наиболее эффективными

и от чего это зависит.

Цель исследования: выяснить влияние ферментосодержащих лекарственных препаратов на гидролиз пищевых продуктов.

Объект исследования: лекарственные препараты, их строение и свойства.

Предмет исследования: ферментативные свойства лекарственных препаратов.

Задачи исследования:

1. Провести анализ аптечного ассортимента ферментативных препаратов.
2. Выяснить спрос и потребительские предпочтения ферментосодержащих препаратов у населения.
3. Сравнить качественный состав и свойства ферментативных препаратов.
4. Изучить химико-аналитические свойства функциональных групп белков, жиров и углеводов, определить действие ферментов на их гидролиз.
5. Сравнить работу ферментов в различных препаратах.
6. Выяснить влияние среды на работу ферментов.
7. Разработать алгоритм качественного анализа ферментосодержащих препаратов.

Проблема исследования: действие различных ферментативных препаратов на гидролиз белков, жиров и углеводов пищи; возможность замены дорогих ферментативных препаратов на более дешёвые. В работе интегрированы знания из области биологии, химии, экологии, фармакологии.

Практическая значимость: изучение ферментативных препаратов, выявление преимуществ и недостатков позволит выделить наиболее доступные и эффективные для пациентов.

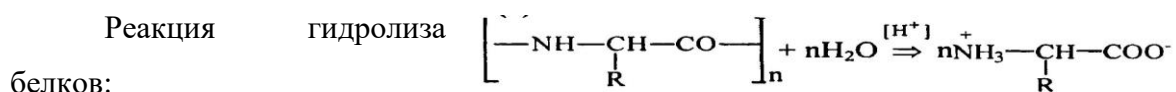
Гипотеза: если Мезим обладает особыми свойствами и гидролизует основные компоненты пищи лучше других препаратов, то он действительно наиболее эффективен.

2. Методы исследования.

Для решения поставленных задач я использовала следующие методы исследования:

1. Изучила литературу по данному вопросу и мнение жителей города путем анкетирования.
2. Сравнила состав и ферментативные свойства препаратов.
3. Экспериментальным путем определила действие ферментов (амилаз, протеаз, липаз) с помощью качественного и ферментативного анализа [3]

Качественная реакция на аминокислоты. Аминокислоты образуются при гидролизе белка. Скорость гидролиза определяла по скорости образования аминокислот. Образующиеся аминокислоты изменяют окраску препарата нингидрина до фиолетового цвета.

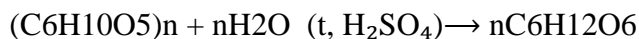


Белок

Аминокислоты

Качественная реакция на углеводы. Наличие крахмала определила реакцией с йодом по появлению синей окраски. Исчезновение синей окраски под действием ферментов показывает скорость гидролиза. При гидролизе крахмала образуется глюкоза, которую легко обнаружить при реакции с гидроксидом меди при нагревании и образовании раствора морковного цвета.

1) Гидролиз крахмала:



Крахмал

глюкоза

2) Окисление глюкозы:

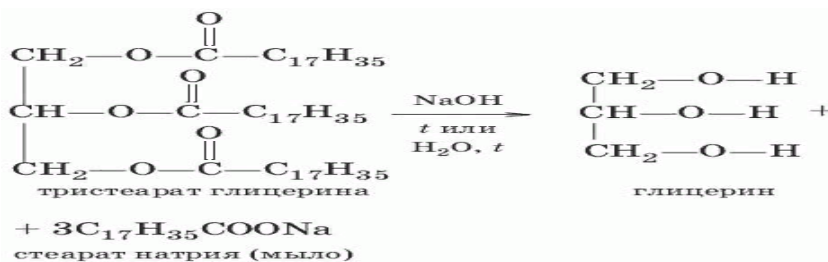


Глюкоза

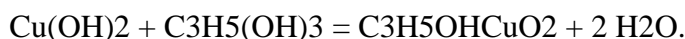
глюконовая кислота

Качественная реакция на жиры. Жиры — это сложные эфиры трехатомного спирта глицерина и высших карбоновых кислот. Скорость гидролиза жира определили по скорости образования глицерина и появлению василькового раствора комплексной соли с гидроксидом меди.

1) Гидролиз
жира:



2) Качественная
реакция на многоатомные
спирты:



Гидроксид меди Глицерин Глицерат меди [4].

3. Экспериментальная часть. Результаты исследования.

3.1 Потребительские предпочтения ферментосодержащих препаратов у населения изучены путем анкетирования 100 жителей нашего города: 60 женщин, 40 мужчин. В результате анкетирования было установлено: 80% опрошенных жителей имели хотя бы раз проблемы с пищеварением и в этом случае прибегали к приему ферментативных препаратов, чаще всего употребляя Мезим и Фестал. Их выбор обусловлен рекламой препарата и доступностью препаратов в аптеках города. Представленные в Приложении №1 диаграммы, подтверждают эти данные.

Анализ данных аптек города (по результатам опросов шести заведующих аптечных сетей) показал наибольший объем продаж у препарата Мезим-46,1%, затем Фестал- 15,6% и Креон 13,7%. По их мнению росту продаж способствует широкая рекламная поддержка и безрецептурный аптечный отпуск (почти 99% ферментосодержащих препаратов отпускается

без рецепта). Поэтому для исследования были выбраны данные препараты, характеристика которых представлена в таблице 1.

Таблица 1. Сравнение качественного состава и свойства ферментативных препаратов.

Название	Единицы активности (ЕД)	Цена (Среднее значение)	Липазы (ЕД)	Протеазы (ЕД)	Амилазы (ЕД)	Дополнительные компоненты
Мезим форте	7950	250р.	3500	250	4200	Целлюлоза микрокристаллическая (тип 12), карбоксиметилкрахмал натрия (тип А), кремния диоксид коллоидный безводный, магния стеарат
Фестал	10800	87р.	6000	300	4500	Гемицеллюлаза, желчи компоненты, натрия хлорид
Креон 10000	18600	330р.	10000	600	8000	Макрогол4000, ипромеллозы фталат,диметикон,этиловый спирт, триэтилцитрат
Панкреатин-Лект	5780	47р.	2800	180	2800	актозы моногидрат (сахар молочный), лактоза (лактопресс), повидон (поливинилпирролидон низкомолекулярный), микрокристаллическая целлюлоза МКЦ, кальция стеарат, сополимер метакриловой кислоты с этилакрилатом, краситель

						азорубин (кислотный красный 2С), титана диоксид (титана двуокись пигментная марка А, полисорбат (твин-80), макрогол (полиэтиленгликоль 6000), тальк.
Панзинорм 10000	17600	161р.	10000	400	7200	Кислоты метакриловой-этилакрилата, триэтилцитрат, тальк 30%, эиульсия симетикона, титана диоксид(Е 171), натрия лаурилсульфат, желатин.

3.2 Определение ферментативной активности лекарств.

Эксперименты проводились на базе лаборатории Межшкольного учебного комбината в 2021-2022 годах. Исследование проведено с водными растворами препаратов, а также в присутствии ацидин-пепсина для создания кислой среды как в желудке. За 2 часа до начала исследования я измельчила и растворила по таблетке Мезима, Фестала, Панкреатина, Панзинорма, и Креона в воде до получения однородной взвеси. Обнаруженная при этом прозрачная плёнка (её вводят в таблетку для защиты ферментов от желудочного сока) оставлена. Полученные суспензии препаратов периодически встряхивали. Анализ проводили с надосадочной фазой, которую развели водой для того, чтобы единиц активности ферментов в каждом препарате было одинаковое количество.

Исследование активности протеазы энзимных препаратов.

Активность протеазы определяли по приросту аминокрупп с помощью нингидриновой реакции в двух-кратной повторности. Для этого 2 мл надосадочной жидкости ферментосодержащих препаратов инкубировали (выдерживание реакционной смеси определенное время при определенной температуре для проведения биохимической реакции); при 38⁰С с 2 мл разбавленного в 10 раз яичного белка в течение 10 мин. Панкреатические протеазы гидролизуют пептидные связи яичного белка и освобождающиеся при этом аминокруппы дают заметное фиолетовое окрашивание в результате реакции с 0,5%-ным водным раствором нингидрина при нагревании. Повторили

еще раз, добавив в смесь препарата и белка, 2 мл раствора ацидин-пепсина (бетаин гидрохлорид-200 мг + пепсин свиной- 0,5 мг), приготовленного растворением одной таблетки на 50 мл воды. Результаты- среднее значение изменений и время в секундах в таблице 2.

Таблица 2. Результаты исследования действия протеазы в препаратах:

Реагенты	Условия	Мезим	Фестал	Панкреати н	Креон	Панзинор м
1.Раствор белка (2мл) + (2мл) 0,5% раствора Нингидрина + энзимный препарат(2м л.)	Время 10 мин. Взаимодейств ие протеазы и белка куриного яйца	Темно- фиолетов ый раствор. (165 с.)	Темно- фиолетов ый раствор. (245 с.)	Темно- фиолетов ый раствор. (183 с.)	Мутный прозрачны й раствор. (587 с.)	Светло- фиолетов ый раствор. (407 с.)
2.Раствор белка (2мл) +(2мл) 0,5% раствора нингидрина + (2мл) раствора ацидин- пепсина+ энзимный препарат(2м л.)	Время 10мин. Взаимодейств ие протеазы и белка в присутствии ацидин- пепсина	Светло- фиолетов ый раствор. (173 с.)	Светло- фиолетов ый раствор. (185 с.)	Розоватый раствор. (438 с.)	Прозрачн ый раствор с фиолетов ым осадком. (556 с.)	Мутный прозрачны й раствор с фиолетов ым осадком. (590 с.)

Вывод:

1) Лучший результат гидролиза показали растворы Мезима и Панкреатина, так как быстрее всех вступили в реакцию гидролиза, наименьшую скорость гидролиза белка продемонстрировал Креон.

2) Все препараты содержат протеазы и в результате расщепления белка образовались аминокислоты, что подтверждается изменением окраски нингидрина.

3) При действии раствора ацидин-пепсина в кислой среде наблюдалось снижение активности протеазы по сравнению с водным раствором, это определено по скорости

реакций и разнице в цвете растворов. Приложение 2.

Исследование активности амилазы энзимных препаратов.

Чтобы в динамике наблюдать как амилазы гидролизуют α-гликозидные связи в крахмале, к 2 мл надосадочной взвеси ферментосодержащих препаратов добавили 2 мл разбавленного раствора крахмала, в который предварительно добавлено 2 капли 2%-го раствора иода, инкубировали в течение 5 минут. Гликозидные связи крахмала при 40°C разрушаются и полученный гидролизат не даёт синего окрашивания с раствором иода. Активность амилазы определяли по времени обесцвечивания раствора крахмала. Эксперимент с каждым ферментативным препаратом повторили в присутствии раствора ацидин-пепсина, аналогично предыдущему опыту. Результаты занесли в таблицу №3.

Таблица № 3. Результаты исследования активности амилазы энзимных препаратов:

Реагенты	Условия	Мезим (время)	Фестал	Панкреати н	Креон	Панзинорм
1. Крахмал(2 мл.) +иод (2 капли) +энзимный препарат(2мл.)	Время 10 мин. Взаимодействие амилазы препарата и раствора крахмала	Полное исчезновение синего цвета, розоватый оттенок раствора. (186 с.)	Полное исчезновение синего цвета, жёлтый оттенок раствора. (206 с.)	Полное исчезновение синего цвета, розовый оттенок раствора. (318 с.)	Синий цвет раствора (574 с.)	Частичное исчезновение синего цвета, полупрозрачный раствор. (568 с.)
2. Крахмал(2 мл.) +иод (2капли) +ацидин-пепсин(2мл.) + энзимный препарат (2мл.)	Время 10 мин. Взаимодействие амилазы и раствора крахмала в присутствии ацидин-пепсина	Небольшой синий осадок, розоватый оттенок раствора. (315 с.)	Полное исчезновение синего цвета, жёлтый оттенок раствора. (248 с.)	Небольшой синий осадок, темно-розовый оттенок раствора. (311 с.)	Синий цвет раствора(559 с.)	Полное исчезновение синего цвета. Прозрачный раствор. (557 с.)

Вывод:

1) Реакция протекала с лучшим результатом в растворах Мезима и Фестала, а с наихудшим в растворе Креона.

2) Все исследуемые препараты содержат амилазу, в результате гидролиза крахмал разрушился до глюкозы, что определено по обесцвечиванию окраски раствора, а также положительной качественной реакцией с гидроксидом меди.

3) При действии раствора ацидин-пепсина в кислой среде наблюдалось снижение активности амилазы по сравнению с водным раствором. но Панзинорм наоборот показал наилучший результат, это определено в разнице цвета растворов. Вероятно кислота способствовала быстрому разрушению микрогранул препарата.

4) Выяснили, что амилаза препаратов расщепляет не только нативный крахмал, но и его йодокрахмальную модификацию. Приложение 2.

1. Исследование активности липазы энзимных препаратов.

При проведении опыта возникли определенные трудности. Дело в том, что этот фермент находится в водной фазе, тогда как субстрат (растительное масло) в воде нерастворим, поэтому, чтобы добиться хорошей скорости гидролиза жира, надо получить мелкодисперсную эмульсию жира, иначе контакт между ферментом и субстратом будет затруднён. Решили эту проблему с помощью энергичного встряхивания пробирок, периодически помещая их в водяную баню. В результате гидролиза жира образуются карбоновые кислоты, которые закисляют реакционную смесь. Чтобы получить наглядный результат, мы взяли пробирки с растворами препаратов, добавили в них 0,5 мл растительного масла и кислотно-щелочной индикатор- бромтимоловый синий (зона перехода pH 6,0 – 7,6). После 20 мин обнаружили, что содержимое пробирки с ферментосодержащими препаратами принимает жёлтый или жёлто – зелёный цвет, тогда как в контрольной пробе окраска не изменяется: цвет индикатора остаётся зелёно – синим. Параллельно провели качественную реакцию на глицерин (растворение $\text{Cu}(\text{OH})_2$ и образование ярко-синего комплекса глицерата меди).

Таблица 4. Результаты исследование активности липазы энзимных препаратов:

Реагенты	Условия	Мези м	Фестал	Панкреатин	Креон	Панзинорм
		Изменения и время в секундах				
1.Растительное масло 2мл + 2 капли индикатора	Температура 38°C . Время 20 мин. Взаимодейст	Желто - зелен ый раство	Желто-зеленыйраствор (925 с.)	Зеленый раствор (1009 с.)	Полупрозрачный раствор с зеленым осадком	Полупрозрачный раствор с зеленым осадком

+ энзимный препарат(2 мл.) + раствор Cu(OH)2(2 мл.)	вие липазы и жира. Встряхивание.	р (804 с.)			(1089 с.)	(1057 с.)
2.Раствор белка 2 мл + 2 капли индикатора + ацидин-пепсин(2 мл.) + энзимный препарат(2 мл.) + Cu(OH)2	Температура 38 ⁰ С. Время 20мин. Взаимодействие липазы и жира в присутствии ацидин-пепсина. Встряхивание.	Зеленый раствор (911 с.)	Темно-зеленый раствор (1034 с.)	Желтый раствор (1089 с.)	Полупрозрачный раствор с зеленым осадком (1136 с.)	Полупрозрачный раствор с зеленым осадком (1167 с.)

Вывод:

- 1) Все препараты содержат липазу, так как в результате изменилась окраска индикатора.
- 2) Под действием гидроксида меди-2 получен раствор василькового цвета в препаратах Мезим, Фестал и Панкреатин, что доказывает образование глицерина в результате гидролиза жира.
- 3) Реакция протекала с лучшим результатом в растворах Фестала, Панкреатина, Мезима и Креона, а с наихудшим в растворе Панзинорма.
- 4) При действии раствора ацидин-пепсина в кислой среде наблюдалось снижение активности липаз по сравнению с водным раствором во всех препаратах.

По результатам исследования мы разработали алгоритм качественного анализа ферментативных препаратов для изучения работы ферментов. Данный алгоритм использован нами при изучении органических соединений и ферментов на практических занятиях по программе «Химия вокруг нас» с учащимися 10-11 классов на базе Межшкольного учебного комбината в 2022 г. Проведены занятия по темам: «Качественный анализ органических соединений», «Ферментативный анализ». Приложение №3.

4. Выводы.

Эффективность 5-ти ферментосодержащих препаратов определена методами ферментативного и качественного анализа органических соединений, всего проанализировано 30 опытных вариантов в 6 экспериментах. Установлено:

1. Все исследуемые препараты содержат действующее вещество –панкреатин.
2. Все исследуемые препараты: Мезим, Панкреатин, Креон, Панзинорм и Фестал содержат ферменты поджелудочной железы- протеазы, амилазы и липазы, которые облегчают переваривание белков, жиров, углеводов, одинаково действуют на процессы пищеварения.
3. Из всех исследуемых препаратов лучшую активность показали Фестал, Мезим и Панкреатин. Препарат Креон не продемонстрировал заявленную активность, хотя по стоимости является самым дорогим препаратом этой группы, оболочка его микрогранул самая устойчивая.
4. Гипотеза о том, что Мезим самый эффективный, не подтвердилась. Мезим можно заменить аналогичными ферментативными препаратами, более дешевыми по цене, но равными по действию.
5. Кислотная среда, созданная раствором ацедина-пепсина, в большинстве случаев оказывала угнетающее воздействие на работу ферментов. Значит использование данных препаратов до еды, когда кислотность в желудке без пищи выше, чем в присутствии еды, менее эффективно.
6. Высокая цена — это не признак качества, а свидетельство оригинальности препарата и средств, затраченных на его разработку. Мезим — это оригинальный препарат (цена 250 руб средняя цена в городе, а панкреатин его копия- 47 рублей). Фестал показал результат не хуже Мезима, а стоит в два раза дешевле.
7. Итогом работы явилась разработка доступного, относительно простого способа количественного анализа ферментативных препаратов. Методика может быть использована в обычных лабораториях, исключает применение дорогостоящего оборудования, высокотоксичных, летучих и взрывоопасных реактивов. Разработанный алгоритм анализа можно использовать при изучении свойств органических соединений, отработки методик качественного и ферментативного анализа веществ, проведении практических и исследовательских работ с учащимися.

6. Заключение.

Данная работа важна для понимания работы ферментативных препаратов, выявление преимуществ и недостатков позволяет выделить наиболее доступные и эффективные. Перспективы дальнейшего исследования проблемы мы видим в более детальном изучении

влияния различных условий (молочно-кислых бактерий, приправ и специй, других лекарственных препаратов) на работу пищеварительных ферментов. Результаты работы могут быть использованы на занятиях в классах с углубленным изучением химии и биологии, в профильных классах, при проведении профессиональных проб со старшеклассниками.

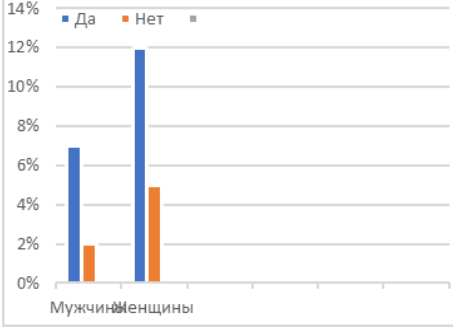

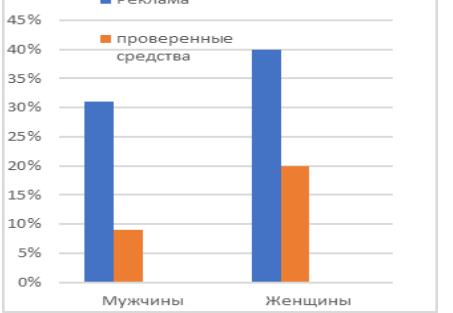
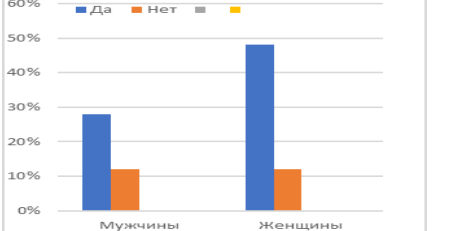
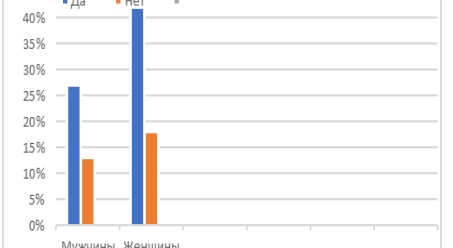
7. Список источников информации

1. Приоритетные направления оптимизации | расстройств ЖКТ [Электронный ресурс]– Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. Режим доступа: [https://www.sechenov.ru/upload/medialibrary/80d/Dissertatsiya_Ermolaeva-A.D..pdf]
2. Применение пищеварительных ферментов в гастроэнтерологической практике. [Электронный ресурс] – Авторы: Охлобыстин А.В. 1, Баярмаа.Н.[https://www.rmj.ru/articles/gastroenterologiya/Primenenie_pischevaritelnyh_fermentov_v_gastroenterologicheskoy_praktike/].
3. Анализ комплексных лекарственных веществ - [Электронный ресурс]. [<https://cyberpedia.su/16x6e55.html>].
4. Химическая идентификация: качественный и количественный анализ, физико-химические методы анализа. - [Электронный ресурс]. [<https://infopedia.su/13x1fec.html>].
5. ФЕРМЕНТЫ – Большая медицинская энциклопедия. [Электронный ресурс]. [<https://бмэ.орг/index.php/ФЕРМЕНТЫ>].
6. Биохимия_Ответы.pdf/[Электронный ресурс]. [<https://studfile.net/preview/5993647/page:3/>].
7. Каталитическая специфичность - [Электронный ресурс]. [<https://infopedia.su/16x73f7.html>].

Приложение №1.

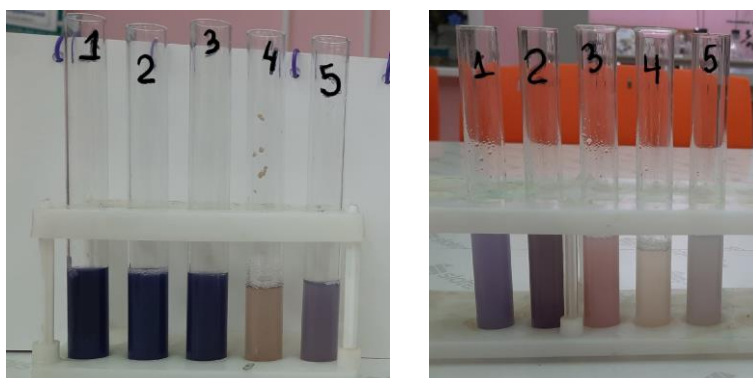
Результаты анкетирования жителей г. Ханты-Мансийска.

Вопросы:	Ответы женщин:	Ответы мужчин:	Диаграммы															
1. Возникают ли проблемы с пищеварением?	ДА- 43 НЕТ -17	ДА – 31 НЕТ – 9	<table border="1"> <caption>Данные для диаграммы 1</caption> <thead> <tr> <th>Пол</th> <th>да (%)</th> <th>нет (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Мужчины</td> <td>31</td> <td>9</td> </tr> <tr> <td>Женщины</td> <td>43</td> <td>17</td> </tr> </tbody> </table>	Пол	да (%)	нет (%)	Мужчины	31	9	Женщины	43	17						
Пол	да (%)	нет (%)																
Мужчины	31	9																
Женщины	43	17																
2. Если да, то как часто?	Раз в месяц -21 Раз в неделю – 17 Не беспокоит – 5	Раз в месяц- 17 Раз в неделю- 9 Не беспокоит – 5	<table border="1"> <caption>Данные для диаграммы 2</caption> <thead> <tr> <th>Пол</th> <th>раз в месяц (%)</th> <th>раз в неделю (%)</th> <th>не беспокоит (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Мужчины</td> <td>17</td> <td>9</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>Женщины</td> <td>21</td> <td>17</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table>	Пол	раз в месяц (%)	раз в неделю (%)	не беспокоит (%)	Мужчины	17	9	5	Женщины	21	17	5			
Пол	раз в месяц (%)	раз в неделю (%)	не беспокоит (%)															
Мужчины	17	9	5															
Женщины	21	17	5															
3. Если да, то что становилось причиной?	Переедание – 19 Нарушение диеты – 18 Отравление - 6	Переедание - 12 Нарушение диеты- 17 Отравление - 2	<table border="1"> <caption>Данные для диаграммы 3</caption> <thead> <tr> <th>Пол</th> <th>переедание (%)</th> <th>нарушение диеты (%)</th> <th>отравление (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Мужчины</td> <td>12</td> <td>17</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>Женщины</td> <td>19</td> <td>18</td> <td>6</td> </tr> </tbody> </table>	Пол	переедание (%)	нарушение диеты (%)	отравление (%)	Мужчины	12	17	2	Женщины	19	18	6			
Пол	переедание (%)	нарушение диеты (%)	отравление (%)															
Мужчины	12	17	2															
Женщины	19	18	6															
4. Какие лекарства при этом употребляете?	«Мезим»- 20 «Фестал» -14 «Панкреатин» - 3 «Иное» - 6	«Мезим»- 14 «Фестал» - 10 «Панкреатин»-3 «Иное»-4	<table border="1"> <caption>Данные для диаграммы 4</caption> <thead> <tr> <th>Пол</th> <th>Мезим (%)</th> <th>Фестал (%)</th> <th>Панкреатин (%)</th> <th>Иное (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Мужчины</td> <td>14</td> <td>10</td> <td>3</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>Женщины</td> <td>20</td> <td>14</td> <td>3</td> <td>6</td> </tr> </tbody> </table>	Пол	Мезим (%)	Фестал (%)	Панкреатин (%)	Иное (%)	Мужчины	14	10	3	4	Женщины	20	14	3	6
Пол	Мезим (%)	Фестал (%)	Панкреатин (%)	Иное (%)														
Мужчины	14	10	3	4														
Женщины	20	14	3	6														

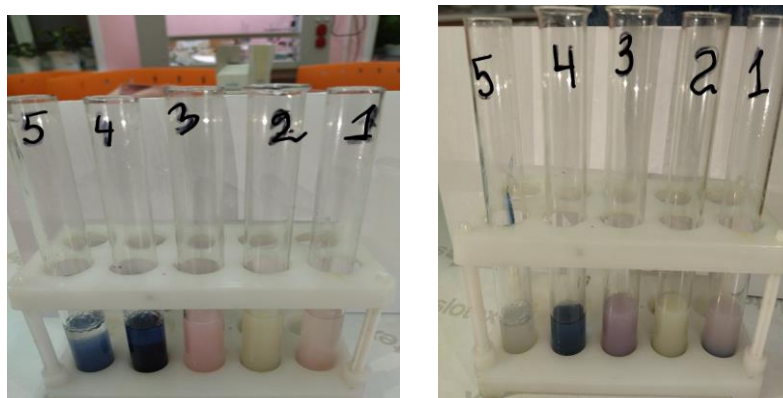
5. Если нет, то знаете ли вы о существовании данных лекарств: Мезим, Панкреатин, Фестал, Иное?	ДА-12 НЕТ-5	ДА-7 НЕТ-2	 <table border="1"> <caption>Chart 5: Awareness of drugs</caption> <thead> <tr> <th>Пол</th> <th>Да (%)</th> <th>Нет (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Мужчины</td> <td>7</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>Женщины</td> <td>12</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table>	Пол	Да (%)	Нет (%)	Мужчины	7	2	Женщины	12	5						
Пол	Да (%)	Нет (%)																
Мужчины	7	2																
Женщины	12	5																
6. Если нет, то, при необходимости употребления, какому из названных препаратов вы отдадите предпочтение?	«Мезим»- 7 «Фестал» -3 «Панкреотин» - 2 «Иное»-5	«Мезим»- 5 «Фестал» -1 «Панкреотин» - 0 «Иное»-3	 <table border="1"> <caption>Chart 6: Preference for drugs</caption> <thead> <tr> <th>Пол</th> <th>Мезим (%)</th> <th>Фестал (%)</th> <th>Панкреатин (%)</th> <th>Иное (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Мужчины</td> <td>5</td> <td>1</td> <td>0</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>Женщины</td> <td>7</td> <td>3</td> <td>2</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table>	Пол	Мезим (%)	Фестал (%)	Панкреатин (%)	Иное (%)	Мужчины	5	1	0	3	Женщины	7	3	2	5
Пол	Мезим (%)	Фестал (%)	Панкреатин (%)	Иное (%)														
Мужчины	5	1	0	3														
Женщины	7	3	2	5														
7. Чем обусловлен ваш выбор?	Реклама – 40 Проверенные средства-20	Реклама – 31 Проверенные средства - 9	 <table border="1"> <caption>Chart 7: Reasons for choice</caption> <thead> <tr> <th>Пол</th> <th>Реклама (%)</th> <th>проверенные средства (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Мужчины</td> <td>31</td> <td>9</td> </tr> <tr> <td>Женщины</td> <td>40</td> <td>20</td> </tr> </tbody> </table>	Пол	Реклама (%)	проверенные средства (%)	Мужчины	31	9	Женщины	40	20						
Пол	Реклама (%)	проверенные средства (%)																
Мужчины	31	9																
Женщины	40	20																
8. Знаете ли вы, как действуют данные препараты?	Да -48 Нет - 12	Да-28 Нет – 12	 <table border="1"> <caption>Chart 8: Knowledge of drug action</caption> <thead> <tr> <th>Пол</th> <th>Да (%)</th> <th>Нет (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Мужчины</td> <td>28</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Женщины</td> <td>48</td> <td>12</td> </tr> </tbody> </table>	Пол	Да (%)	Нет (%)	Мужчины	28	12	Женщины	48	12						
Пол	Да (%)	Нет (%)																
Мужчины	28	12																
Женщины	48	12																
9. Знаете ли вы состав данных препаратов и их отличие друг от друга?	Да – 42 Нет-18	Да – 27 Нет – 13	 <table border="1"> <caption>Chart 9: Knowledge of drug composition</caption> <thead> <tr> <th>Пол</th> <th>Да (%)</th> <th>Нет (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Мужчины</td> <td>27</td> <td>13</td> </tr> <tr> <td>Женщины</td> <td>42</td> <td>18</td> </tr> </tbody> </table>	Пол	Да (%)	Нет (%)	Мужчины	27	13	Женщины	42	18						
Пол	Да (%)	Нет (%)																
Мужчины	27	13																
Женщины	42	18																

Приложение №2

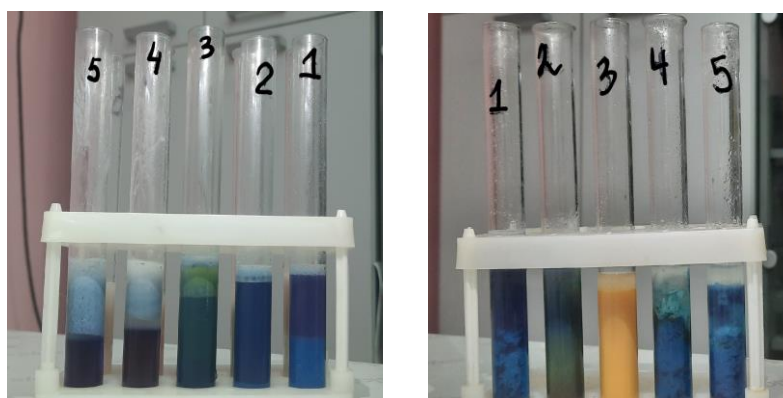
1. Результаты исследования активности протеазы энзимных препаратов.



2. Результаты исследования активности амилазы энзимных препаратов.



3. Результаты исследования активности липазы энзимных препаратов.



Алгоритм качественного анализа ферментативных препаратов.

Подготовка.

За 2 часа до начала исследования растворить по таблетке Мезима, Фестала, Панзинорма, Креона и Панкреатина в воде до получения однородной розовато-серой взвеси. Обнаруженную при этом прозрачную плёнку (её вводят в таблетку для защиты ферментов от желудочного сока) можно оставить, она не мешает. Анализ можно проводить как с надосадочной фазой, так и со взмученной взвесью. Подготовить растворы куриного белка, взвесь растительного масла, раствор крахмала, раствор иода. Водяную баню.

1. Исследование активности протеаз энзимных препаратов.

Оборудование: взвесь исследуемого препарата (Мезима, Фестала, Панкреатина, Панзинорма, Креона), водяная баня, два шприца для забора веществ, пробирки, 0.5 % раствор нингидрина, раствор куриного белка.

Протеазы гидролизуют белок до аминокислот. Скорость гидролиза определить по скорости образования аминокислот. Активность этих ферментов определяется по приросту аминокислот с помощью нингидриновой реакции. Для этого 2 мл надосадочной жидкости препарата инкубируются при 30 – 40 С с 2 мл разбавленного в 10 – 20 раз яичного белка в течение 20 – 30 мин. Панкреатические протеазы гидролизуют пептидные связи яичного белка, и освобождающиеся при этом аминокислоты дают заметное фиолетовое окрашивание в результате реакции с 0,5% - ным водным раствором **нингидрина** при кипячении. Результаты сравнить с контрольной пробой- прокипяченной взвесью препарата.

2. Исследование активности амилазы энзимных препаратов.

Оборудование: взвесь исследуемого препарата (Мезима, Фестала, Панкреатина, Панзинорма, Креона), водяная баня, два шприца для забора веществ, пробирки, 0.5 % раствор йода, раствор крахмала, пипетки.

Амилазы - гидролизуют, а- гликозидные связи в крахмале. Наличие крахмала определяется реакцией с **йодом** по появлению синей окраски. Исчезновение синей окраски под действием ферментов показывает скорость гидролиза.

К 2 мл взвеси энзимных препаратов добавить 2 мл разбавленного раствора крахмала и инкубировать в течение 20 мин при 40 С. Практически все гликозидные связи крахмала разрушаются и полученный гидролизат не дает синего окрашивания с раствором иода.

3. Исследование активности липазы энзимных препаратов.

Оборудование: взвесь исследуемого препарата (Мезима, Фестала, Панкреатина, Панзинорма, Креона), водяная баня, два шприца для забора веществ, пробирки, взвесь растительного масла (эмульгированного с горячей водой), сульфат меди, гидроксид натрия,

пипетки. Чтобы добиться хорошей скорости гидролиза жира, надо получить мелкодисперсную эмульсию жира, иначе контакт между ферментом и субстратом будет затруднён с помощью энергичного встряхивания пробирок, периодически помещая их в водяную баню. В результате гидролиза жира образуются карбоновые кислоты, которые закисляют реакционную смесь. Взять пробирки с растворами препаратов, добавить в них 0,5 мл растительного масла и кислотно-щелочной индикатор- бромтимоловый синий (зона перехода рН 6,0 – 7,6). Содержимое пробирки с ферментосодержащими препаратами принимает жёлтый или жёлто – зелёный цвет.

Жиры — это сложные эфиры трехатомного спирта глицерина и высших карбоновых кислот. Скорость гидролиза жира определяется по скорости образования глицерина и появлению василькового раствора с **гидроксидом меди** на холоде. К 2 мл взвеси энзимных препаратов добавить 2 мл взвесь растительного масла (эмульгированного с горячей водой) и инкубировать в течение 20 мин при 40 С.