

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АМАРАНТА В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМЫ ГИПОКАЛЬЦИЕМИИ

© **Офицеров Евгений Николаевич*** и **Коростелева Юлия Александровна**

*Кафедра общей химии и экологии. Казанский государственный технический университет им. А.М. Туполева.
Ул. К. Маркса, 10. г. Казань 420111. Республика Татарстан. Россия. Тел.: (843) 231-02-01. Факс: (843) 236-60-32.*

*Ведущий направление; +Поддерживающий переписку

Ключевые слова: биогенный кальций, гипокальциемия, амарант, токсичность амаранта, биологически активные добавки, оксалаты, щавелевая кислота.

Резюме

Надземная масса амаранта, названного ЮНЕСКО «культурой XXI века», содержит в больших количествах сбалансированный по незаменимым аминокислотам белок, пектины, флавоноиды, ряд микроэлементов, калий, кальций, дефицит которого в пище в настоящее время испытывает население. Однако широкому использованию амаранта в кормопроизводстве, производстве биологически активных добавок к пище препятствует высокое содержание растворимых оксалатов в биомассе. В обзоре рассмотрена проблема дефицита кальция в организме и пути ее решения за счет освобожденной от щавелевой кислоты и ее растворимых солей биомассы амаранта. Наиболее перспективными являются три рассмотренных в обзоре способа освобождения: генноинженерный, агрохимический и технологический, позволяющие получить сырье, удовлетворяющее требованиям нормативных документов.

Содержание

1. Роль кальция в обеспечении жизнедеятельности организмов и клеток.

1.1. Гипокальциемия: причины дефицита кальция.

1.2. Гипокальциемия и остеопороз.

1.3. Решение проблемы кальция.

2. Растения рода *Amaranthus*.

2.1. Общая характеристика.

2.2. Амарант – уникальный источник биогенного кальция.

2.3. Доступность кальция листьев амаранта.

2.4. О токсичности надземной массы амаранта.

2.5. Проблема токсичности амаранта – проблема растворимых оксалатов.

2.6. Роль дифосфонатов.

1. Роль кальция в обеспечении жизнедеятельности организмов и клеток.

Несмотря на то, что мы содержим достаточно большое количество кальция в организме, в цитоплазме клеток его концентрация составляет всего 50-100 нМ ($5 \cdot 10^{-8}$ - $1 \cdot 10^{-7}$ М). В окружающей среде концентрация кальция может быть на 5-6 порядков выше. Клетки тратят достаточно большую энергию на поддержание такого градиента концентраций. Поэтому можно заключить, что кальций должен быть одним из важнейших элементов живых организмов. Это действительно так. Его концентрация в крови и клетках обуславливает активность ряда ферментов, проницаемость плазматических мембран и межклеточного вещества, свертываемость крови, мышечное сокращение, рост костной ткани и т.п. Кроме того, как вторичный мессенджер, он осуществляет регуляторные функции, принимает участие в транскрипции генов, причем это зависит от пути поступления его в клетку. Кальций влияет на вступление в клеточный цикл, причем он задействован в нескольких регуляторных механизмах. С одной стороны, увеличение содержания кальция в цитозоле необходимо для прогрессии клеточного цикла и экспрессии генов, с другой – оно активизирует процессы деградации при апоптозе. Он принимает участие практически во всех стадиях клеточного цикла и реализации программированной клеточной смерти [1].

Известно, что биологическая активность кальция определяется концентрацией его ионизированной формы, в том числе и в крови. Однако большинство соединений кальция, с которыми мы имеем дело и которые используются при получении кальцийсодержащих препаратов и добавок, например, карбонаты в виде тонко измельченной скорлупы яиц, раковин моллюсков, кораллов, не растворимы в воде, и, следовательно, имеют низкую эффективность. С другой стороны коэффициент активности кальция в сыворотке крови значительно ниже, чем в стандартном растворе той же ионной силы и концентрации, из-за связывания большей части ионов кальция различными белками с образованием недиссоциирующих комплексов в растворе.

Кроме этого, кальций в больших количествах участвует в росте и обмене костной ткани, поэтому наша потребность в нем по сравнению с другими питательными веществами, огромна. Для него установлена и самая высокая рекомендуемая допустимая суточная доза. Однако в настоящее время имеется тенденция к прогрессивному (до 30% от рекомендуемой нормы) уменьшению содержания кальция в среднесуточных рационах больших групп населения [2]. В диете и рационах растет доля искусственных, рафинированных продуктов, содержащих низкое количество доступного кальция. Относительный дефицит кальция может быть обусловлен также снижением его усвоения из желудочно-кишечного тракта. Суточная потребность – 1000-1500 мг (800-1200 мг – рекомендуемое суточное потребление для взрослого человека весом в 70 кг в США и 800 – странах ЕС).

1.1. Гипокальциемия: причины дефицита кальция.

Среди большого количества причин, приводящих к возникновению гипокальциемии, необходимо отметить следующие: неадекватное, несбалансированное по кальцию питание, мягкая вода, избыток в организме фосфора и некоторых тяжелых металлов, таких как свинец, цинк, кобальт, магний, заболевания щитовидной железы, дефицит витамина D, беременность и лактация, постоянное использование слабительных и мочегонных.

В результате низкого уровня кальция в организме начинают страдать следующие органы или системы организма:

- костная ткань, что приводит к остеопорозу, переломам;
- мышечная ткань, что проявляется в виде болей в мышцах и судорогах;
- почки – мочекаменная болезнь;
- щитовидная железа;
- иммунная система (снижение иммунитета, аллергии);
- кровотворение (снижение свертываемости крови).

Как следует из перечисления, нарушения обмена кальция и его недостаток в организме приводят к целому ряду заболеваний и поэтому бесполезно бороться только с мочекаменной болезнью. Необходимо не только обеспечить поступление кальция в организм, но и нормализовать его обмен. Лечить нужно не болезнь, а больного.

1.2. Гипокальциемия и остеопороз.

Необходимо отметить, что при дефиците кальция в организме возникают остеопороз, хрупкость костей даже при достаточном поступлении кальция в организм. С этим заболеванием связаны практически все случаи переломов у людей старше 60 лет. В настоящее время 11 млн. американцев болеют остеопорозом, а еще у 18 млн. отмечено снижение массы костной ткани (остеопения). У нас в организме идет постоянное обновление костной ткани. Каждые 10 лет старая костная ткань рассасывается (процесс рассасывания называется резорбцией) и заменяется новой. В молодом возрасте образование костной ткани идет быстрее, чем ее рассасывание, и ее плотность увеличивается, достигая максимума к 18 годам. Далее оба процесса начинают идти с одинаковой скоростью – наступает равновесие. После 40 лет начинается возрастное истончение костей. Процессы резорбции берут верх над процессами синтеза.

В процессах обновления костей участвуют клетки двух типов – остеобласты, которые продуцируют костное вещество, и крупные многоядерные остеокласты, которые своими ферментами разрушают костную ткань или ведут процесс резорбции. Процесс регенерации происходит всегда одинаково. Сначала происходит быстрое рассасывание костной ткани за 2-3 недели, а затем медленно в течение 3-4 месяцев идет образование новой ткани. Таких участков обновления, разбросанных по всему скелету, насчитывается до 4 млн.

Процесс протекает следующим образом. Сначала остеокласты прикрепляются к кости и начинают продуцировать вещества, которые растворяют кальций и другие минеральные вещества. В результате внутри костного вещества образуется полость резорбции, а остеокласты исчезают. На их место приходят остеобласты, которые начинают секретировать коллаген и другие белковые компоненты. Построенная коллагеновая структура начинает пропитываться солями кальция, фосфора. В результате образуется гидроксипатит – твердое вещество кости, составляющее около 90% ее массы.

Как известно, роль костей заключается не только и не столько в формировании скелета, задачей которого является поддержание формы тела. Скелет выполняет функции склада или депо кальция. Он содержит 99% всех запасов кальция в организме. С помощью гомеостаза кальций высвобождается из костей или включается в них. Его в растворимой форме в организме всегда ровно столько, сколько необходимо для свертывания крови, обеспечения функционирования нервной системы и мышц. В несбалансированном освобождении кальция из костей кроется причина остеопороза. Организм приносит в жертву скелет, когда в крови не хватает кальция.

Поддержание баланса кальция происходит в основном благодаря паратгормону, витамину D и кальцию, поступающему в организм с пищей.

1.3. Решение проблемы кальция.

Отмеченные выше тенденции в питании и образе жизни привели к росту обусловленных дисбалансом кальция заболеваний. По данным Минздрава РФ количество больных с первичным и вторичным остеопорозами, переломами, недостатком минеральных веществ составляет десятки миллионов человек. Для лечения и профилактики этих заболеваний, в основном, применяются медицинские препараты, закупаемые по импорту (Оссопан 800 – фирма «Робофарм», Швейцария, Миакальдик – фирма «Сандоз», Индия, Климен – фирма «Шеринг», Германия, Альфа Дз – фирма «Тева», Израиль). Поэтому разработка отечественных препаратов, которые бы способствовали быстрому протеканию репаративных процессов в костной ткани и восстановлению трудоспособности больного, а также позволили бы в полной мере отказаться от импорта и удовлетворить потребности страны, является актуальной задачей. Рынок таких препаратов оценивается в 50 млрд. таблеток в год.

В последнее время сделано несколько попыток по созданию новых кальцийсодержащих препаратов. Так, авторами [3] подобраны оптимальные параметры получения субстанции на основе костей животных. Изучены физико-химические свойства этого препарата, влияние субстанции костной ткани на восстановительные процессы при переломах, а так же биохимические показатели, характеризующие состояние кальциево-фосфорного обмена на животных. Получены положительные результаты.

Цыгановой Т.Б. [4] в качестве минерального обогатителя хлебных изделий предложен мелкодисперсный порошок из скорлупы куриных яиц с размером частиц до 40 мкм, вырабатываемый НПО «Комплекс». Как полагает автор, в составе минерального обогатителя содержится значительное количество кальция в виде легкоусвояемых организмом человека соединений, хотя их структура не приводится. На основе порошка разработаны рецептуры и специальные технологии хлебобулочных и сахарных изделий лечебно-профилактического назначения, обогащенных кальцием.

С другой стороны, авторы работы [5] считают, что проблема дефицита кальция может быть решена только при его достаточном поступлении с пищей. Так, в экспериментах на крысах, получавших обогащенный кальцием рацион, было установлено, что по сравнению с контрольными животными, получавшими рацион с низким содержанием кальция, у первых наблюдали весьма слабые симптомы контактного дерматита. У контрольных животных наблюдали также массивный дисбактериоз.

Сухановым Б.П. с соавт. установлено [6], что алиментарный дефицит кальция ведет к достоверному снижению антисенсибилизационных способностей организма. Предполагаемыми причинами этого снижения, по их мнению, являются нарушения в гомеостатических системах, выраженный дисбактериоз, ухудшающий состояние желудочно-кишечного тракта и общую иммунобиологическую реактивность организма. Обеспечение физиологического уровня кальция в организме позволяет достичь определенной степени устойчивости организма при действии алергизирующих нагрузок.

В то же время, введение в рацион минеральных обогатителей – порошка яичной скорлупы и тонко измельченной рыбной массы – позволило обеспечить защитное действие в условиях внешнего и внутреннего облучения. Так, в работе [7] в опытах на крысах, получавших радиоизотопы внутрь, а также подвергнутых внешнему гамма-излучению, было установлено, что у животных, получавших обогащенный кальцием рацион, по сравнению с животными, получавшими обычный рацион, происходило меньшее накопление и более интенсивное выведение изотопов из органов и тканей. Гематологические изменения у животных опытной группы также были менее выраженными, чем у контрольных. У последних отмечали также патологические изменения в печени и повышенный метаболизм кальция в костях. У крыс, получавших рацион с минеральными обогатителями, подобных изменений не наблюдалось.

В работе [7] также было показано, что у контрольных животных происходил интенсивный процесс мобилизации кальция из костных депо, из чего сделан вывод о том, что количество кальция, достаточное для нормального гомеостаза, совершенно недостаточно при радиоактивной нагрузке. Возможный механизм защитного действия кальция при внешнем и

внутреннем облучении состоит в блокировании адсорбции радионуклидов в желудочно-кишечном тракте, а также в защитном действии на уровне внутриклеточных процессов (кальций взаимодействует с радионуклидами и блокирует их попадание в клетку, тем самым уменьшается степень специфического и неспецифического поражения различных органов и систем).

В 1974 году американскими исследователями было показано [8], что рост костной ткани определяется не только и не столько поступлением доступного кальция в организм цыплят, сколько наличием специфических промоторов-регуляторов обмена кальция в организме.

В подтверждение важности влияния дополнительных веществ на метаболизм кальция можно привести высказывание Р. Аткинса о кальции: “В выхолощенной версии программы рационального питания, предлагаемой молочной промышленностью, добавки кальция играют роль священной коровы. Продолжающиеся десятилетиями воздействие рекламы убедило миллионы людей, что кальций дарует превосходное здоровье женщинам и растущим детям, в особенности, если они потребляют молочные продукты. Как следствие этого многие люди принимают кальций взамен всех остальных питательных добавок. Поступая таким образом, эти благонамеренные поклонники молока упускают многие полезные свойства кальция, поскольку этот минерал лучше всего действует в сочетании с другими питательными веществами. Но главный секрет состоит в том, что кальций важен не только и не столько для наших костей, зубов и ногтей – на самом деле он играет решающую роль в лечении массы заболеваний в столь различных областях, как акушерство, кардиология и онкология” [9].

Поэтому создание биологически активных, содержащих кальций, пищевых добавок, в которых кальций находится в ионной форме и может участвовать в метаболизме, с одной стороны, и включение в состав таких добавок регуляторов обмена кальция, с другой стороны, позволяет решить проблему гипокальциемии.

Среди огромного числа природных источников кальция, безусловно, наиболее оптимальными должны быть растительные, так как кроме биогенного кальция они содержат целый комплекс соединений, содействующих его транспорту и усвоению в организме. К таким растениям необходимо отнести растения с С4-типом фотосинтеза, отличающихся в силу особенностей фиксации диоксида углерода накоплением больших количеств кальция, и, в первую очередь, растения рода *Amaranthus* L., хотя не для всех видов амаранта эта зависимость справедлива.

2. Растения рода *Amaranthus*.

2.1. Общая характеристика.

Амарант является одним из древнейших, культурных пищевых растений и широко используется в народной медицине. Первые упоминания об амаранте как средстве для очищения желудка и кишок можно найти у средневекового врача 16 века Амисияци. Отвар из верхушек амаранта Дубянский (1918) рекомендовал в качестве эффективного средства от кашля. Позднее отвары листьев были рекомендованы от головной боли и опухолей, а корни от желтухи. Имеются данные об антибактериальной активности нескольких видов амаранта. Водный настой *A. retroflexus* рекомендован при колитах, кишечных коликах, запорах, а так же как кровоостанавливающее средство (Махлаюк, 1967). Листья *A. spinosus* рекомендованы в качестве диуретического средства (Шорга, 1956, Wulf, 1969). Некоторые виды амаранта содержат до 3% рутина или витамина Р, пектины, краситель амарантин и ряд других важных и перспективных физиологически активных соединений. Химический состав надземной части амаранта и его семян позволяет прогнозировать широкие возможности его использования в качестве основы многочисленных БАД и получения ряда субстанций для изготовления готовых лекарственных средств различных фармакологических групп [10].

2.2. Амарант – уникальный источник биогенного кальция.

Химические особенности надземной части амаранта (стебель, листья, метелка, семена), в том числе и содержание кальция, необходимо обсуждать в контексте необычайной пластичности растения. Эту особенность растений семейства *Amaranthaceae* отмечали уже Сондерс и Беккер в одном из первых обзоров, посвященных амаранту [11]. Эта пластичность обуславливает большие расхождения данных об изменении химического состава в процессе роста в зависимости от климата, питания, агрохимических условий культивирования, сорта и возраста листьев в момент сбора урожая.

Как показывают исследования [12], изменение химического состава вегетативной массы амаранта имеет сложную закономерность. Это обусловлено не только пластичностью рода, но так же и тем, что соотношение между тремя разными по химическому составу анатомическими частями растения: стеблями, листовыми пластинками и соцветиями – постоянно меняется в процессе вегетации.

Для амаранта характерной особенностью в первый период вегетации является высокая степень облиственности, которая постепенно снижается к периоду выбрасывания мощной метелки и началу цветения. Поэтому можно полагать, что в течение первых 60 дней вегетации амаранта основной вклад в флуктуации химического состава будет вносить изменение соотношения между листьями и стеблем. В фазу формирования генеративных органов на химический состав будут оказывать влияние метелки и семена. Тем не менее, некоторые параметры роста и развития амаранта, в частности, набор сухого вещества описывается уравнением первого порядка [12]:

$$y = 40.0997 + 2.573x \quad R = 0.98 \quad (1)$$

где y – количество сухого вещества, г/кг зеленой массы, x – количество дней от начала появления всходов.

В работе [12] не приведены данные по изменению содержания кальция в надземной части амаранта в ходе вегетации, однако приведенные значения по изменению содержания золы, описываемые уравнением регрессии

$$y = 22.8687 - 0.1194x \quad R = 0.95 \quad (2)$$

позволяют заключить, что содержание кальция в амаранте также должно убывать в ходе вегетации со скоростью, близкой 0.12% за каждый день, однако, зависимость оказалась иной.

Амарант содержит больше сухого вещества по сравнению со шпинатом, базеллой и мангольдом из-за высокого содержания волокон и золы [12].

Впервые анализ минеральной составляющей листьев амаранта был проведен Бутеном (А. Boutin) в 1873 году [13]. Это растение приобрело в те времена коммерческую ценность, поскольку хозяйки использовали его листья для чистки домашней утвари, объясняя способность снимать нагар наличием «растительной кислоты». Бутен провел анализ листьев *A. blitum* и установил, что его листья нейтральны. Сейчас мы знаем, что чистящие свойства амаранта обусловлены высоким содержанием щавелевой кислоты в листьях, особенно, старых. Щавелевая кислота особенно хорошо удаляет следы ржавчины.

Нейтральность Бутен объяснил наличием больших количеств соли KNO_3 . В действительности, зеленая масса растения имеет кислую реакцию. Позже Бутен провел анализ листьев *A. atropurpuricus*, *A. ruber* [14], и также обнаружил большое количество нитрата калия.

В 1919 году при химическом анализе дикого вида *A. retroflexus* Бу (By) обнаружил в листьях повышенное содержание золы [15], причем, как отмечает автор, с возрастом растения ее количество возрастало. Сейчас известно, что основу золы составляет кальций.

Амарант – типичный кальциефил, и это известно достаточно давно. Его листья и семена богаты кальцием. Анализы, выполненные Элиасом (J. Elias) в 1977 году [16], показали, что листья амаранта содержат от 146 до 486 мг кальция на 100 г сырой массы или, используя формулу (1), предложенную С.П. Кирьяченко с соавт. [12], можно пересчитать это значение на сухой вес. В этом случае листья амаранта содержат до 3.5 г кальция на 100 г сухой массы. Необходимо отметить, что Элиас не указал фазу вегетации амаранта, в которую происходил сбор образцов, а именно она определяет содержание кальция в листьях.

Сондерс и Беккер на основании анализа 18 серий образцов различных видов амаранта (*A. angustifolius*, *A. caudatus*, *A. hybridus*, *A. viridis* и др.) приводят в обзоре [11] среднее значение по кальцию – 267 мг на 100 г сырой массы без указания фазы развития растений, причем зольность составила при этом 2.6 г на 100 г сырой массы. Из этих данных следует, что кальций составлял десятую часть золы.

Девадос и Сароха (R. Devadas, S. Saroja) в 1980 году обнаружили, что кальций в *A. tricolor* присутствует в количестве 397 мг на 100 г сухой массы [17], что существенно меньше данных, приведенных в работах [11] и [16]. Оке (O. Oke) в том же году сообщил, что внесение в почву удобрений не оказывает влияние на накопление азота, кальция и магния в листьях амаранта [18].

Минеральный профиль двух видов амаранта (*A. viridis* и *A. caudatus*), произрастающих в Нигерии, был определен Эзилем (D.O. Ezeala) [19]. Автор обратил внимание на высокий уровень накопления листьями *A. viridis* и *A. caudatus* калия – 2.13 и 4.69%, соответственно. Исследованные виды в условиях Нигерии аккумулируют кальций в существенно меньшей концентрации – 1.06 и 1.27%, сравнимой с концентрацией магния в клетках листьев.

A. Sanchez-Marroquin и др., обобщив результаты трехлетних наблюдений и анализов многих образцов, в 1985 году сообщили [20], что содержание кальция в образцах достоверно отличается по видам и годам урожая, но не превышает 4 г/100 г сухой массы.

T.C. Mosha и др. при исследовании нескольких видов из разных родов нетрадиционных растений, в том числе и амаранта, нашли [21], что амарант содержит до 15% золы и до 230 мг на 100 сырой биомассы кальция, что несколько меньше, чем в работе [20].

С другой стороны, для *Amaranthus quitensis* аргентинские исследователи нашли, как они считают, очень высокое содержание кальция в зеленой массе – 274.3 мг/100 г [22] или, при пересчете на сухую массу – приблизительно 2.2 г/100 г.

H. Gregorova в 1992-94 гг исследовала химический состав *A. mantegazzianus*, сорт Эльбрус, и нашла, что этот сорт в Словакии набирает 129.93 г сырого протеина, 221.30 г клетчатки, 38.40 г жира, 20.03 г Са, 9.21 г Mg и 35.53 г К на кг сухой биомассы. Так как анализировалось растение целиком, а не листовая часть, можно считать, что содержание кальция в листьях достигало 3-4%, а соотношение Са/P, равное 5.7, было выше оптимального [23].

N.L. Escudero, G. Albarracin, S. Fernandez и др. при исследовании питательных и антипитательных веществ в *Amaranthus muricatus* нашли [24], что он содержит кальций в высоких концентрациях до 1533 мг/100 г, а соотношение Са/P, равное 5.94, существенно выше оптимального, рекомендованного в 1989 году Международной ассоциацией для кормов, т.е. амарант может считаться растением-кальциефилом, источником биогенного кальция.

Химический состав и питательные свойства двух видов амаранта были исследованы в работе [25]. Полученные авторами данные согласуются с результатами ранних исследований.

S.R. Adewusi, T.V. Ojumi, O.S. Falade исследовали изменения кислотности и содержания минеральных элементов при бланшировании амаранта и нашли [26], что при бланшировании основное содержание кальция сохраняется. Эти данные хорошо подтверждают ранее полученные выводы о том, что основное количество кальция в амаранте содержится в виде нерастворимых оксалата и пектата кальция.

Известно, что оксалаты обладают способностью к связыванию двухвалентных катионов, особенно кальция и магния, исключая их из регуляторных процессов и метаболизма. Щавелевая кислота и оксалаты обуславливают образование камней в почках, поэтому их содержание в пище и объектах окружающей среды строго нормируется. Необходимо отметить, что в качестве противоядия при отравлении щавелевой кислотой и ее растворимыми солями используют препараты кальция, в частности кальция хлорид [26a]. Однако, последний противопоказан при склонности к тромбозам, при атеросклерозе, повышенном содержании кальция в крови.

Пинг и Рамазастри установили, что общее содержание оксалатов в смеси из нескольких видов амаранта *A. gangeticus* (*A. tricolor*) и *A. gracilis* (*A. viridis*), купленной на местном рынке, составляло 0.74-1.063%, из них половина была растворимых. Авторы показали, что оксалаты снижают усвоение кальция в том случае, когда детей кормили амарантом с молоком [27-28].

Оке в 1980 году установил, что 100 г сухого амаранта содержит 11.5% общих и 5.9% растворимых оксалатов [18].

Многие исследователи сходятся на том, что для практического здоровья людей содержание нитратов и оксалатов не вредно, поскольку зелень, как правило, кипятят, а воду сливают. Однако Бух с сотр. [29] и Маршалл с сотр. [30] еще в 1966 г показали, что для свиней амарант токсичен.

Зеленков В.Н. и Заксас Н.П. в 2000 г исследовали минеральный состав различных частей *Amaranthus cruentus* и также обнаружили в листьях повышенное содержание кальция (более 20%) [31]. Позднее Зеленков В.Н. сообщил, что “в листьях амаранта в определенной фазе вегетации происходит накопление кальция до концентраций 26% из расчета на сухую массу. Абсолютные количества содержания кальция в листьях амаранта варьировали в различные годы в пределах от 8 до 26%, но проявление максимума накопления этого минерального элемента наблюдалось независимо от особенностей года с различиями в условиях солнечной инсоляции и обеспеченности влагой почвы” [32].

Позднее Зеленков В.Н. и Заксас Н.П. исследовали содержание макро- и микроэлементов в различных частях амаранта [66] и установили, что наряду с концентрированием кальция в листовую часть амаранта, идет и повышение содержания в этой части растения магния с 0.9% в период цветения до 1.7% в фазе образования семян. Полученные авторами данные приведены в табл. 1.

Как следует из табл. 1, максимальное количество кальция амарант в 2000 г накопил в сентябре месяце. Содержание кальция достигло значения 28.0%. Это значение превышает теоретически возможное. Так, в чистом оксалате кальция содержится всего 31% кальция, в широко используемом глюконате кальция всего 13%.

Табл. 1. Содержание кальция в различных частях амаранта (вес.%) при различных сроках сбора образцов.

Элемент	Части	Дата сбора образцов								
		28.06	7.07	12.07	19.07	7.08	14.08	21.08	31.08	10.09
Ca	Соцветия	-	0.9	0.9	2.0	2.5	-	-	-	-
	Стебли	-	6.1	6.9	3.0	4.7	0.94	1.4	0.92	0.6
	Листья	5.0	6.9	6.0	6.5	6.3	6.9	5.6	8.2	28.0

На основе полученных данных по содержанию в листьях амаранта кальция, пектинов, исследований по действию различных кислот, в том числе на модели желудочного сока [33-41], была создана биологически активная добавка к пище – «Кальций-актив» [42-46].

Приведенные в работах [31-32, 66] данные о высоком содержании кальция в листьях амаранта необходимо признать ошибочными, так как простые расчеты показывают, что таких концентраций кальция достичь теоретически невозможно. Как отмечалось ранее [18, 27-30], кальций в амаранте присутствует в основном в виде оксалатов и пектатов. Так, если пересчитать процентное содержание кальция в листьях амаранта только на оксалат кальция замещенный, в котором максимальное содержание элемента, тогда получим, что в листьях должно содержаться не менее 83% оксалата кальция. Если учесть еще соли магния, калия, которых амарант накапливает до 5%, тогда на остальные соединения (белки, полисахариды, хлорофилл, другие соли металлов и др.) остается всего лишь 12% из расчета на сухую биомассу, хотя хорошо известно, что листья амаранта содержат только белка до 25% и до 50% углеводов, не считая других соединений.

Таким образом, можно заключить, что теоретически возможное накопление кальция в листьях амаранта не может превышать 6-8% на сухую массу, что в среднем в четыре раза меньше данных, приведенных в работах [31-32, 66], а реальное среднее содержание можно оценить в 4-5%, что близко к данным, приведенным в работах [16, 19]. Но даже такая концентрация кальция в 4-5 раз выше, чем его содержание в богатых кальцием продуктах: сухих сливках (1.3%), сырах (0.6-1.0%), сухом молоке (0.9%) и намного больше, чем в твороге [1а], что делает амарант перспективным сырьем для разработки и производства БАД.

2.3. Доступность кальция листьев амаранта.

Ранее было показано, что трава амаранта обладает достаточно большой буферной емкостью. Достаточно большая буферная емкость травы амаранта обусловлена высоким, до 20%, содержанием основных аминокислот (лизина, пролина, гистидина и аргинина) в белках листьев, особенно в *A. caudatus*, с одной стороны, и высоким содержанием кальция в листьях, с другой [41, 44]. Кальций, находящийся в листьях амаранта в различных формах, с оксалатами образует характерные, достаточно хорошо различимые под микроскопом друзы, являющиеся отличительным признаком амаранта.

Необходимо отметить, что содержание кальция в листовых частях амаранта зависит от фазы развития растения и максимально в фазе цветения с последующим уменьшением при полном созревании семян в период традиционного сбора урожая как зерна, так и зеленой массы на силос [34]. Такая зависимость свидетельствует о взаимосвязи накопления кальция и оксалатов в листьях с интенсивностью фотосинтеза у C4-растений.

Проведенная в работах [41, 47] водная экстракция листьев амаранта при температуре 70 °C показала, что полученный в результате экстракции сухой остаток содержал всего 0.03% кальция. Полученный результат подтверждает многочисленные литературные данные, приведенные выше, о нерастворимых, в том числе и оксалатных формах нахождения кальция в листьях растения.

Результаты исследования действия растворов различных кислот, в том числе и обладающих специфическими комплексообразующими свойствами, приведены в табл. 2.

Табл. 2. Переход кальция из листьев амаранта под действием кислот.

Кислота	Значение pH раствора	% Ca, перешедшего в раствор
Контроль H ₂ O	4.9	следы
Оксизилидендифос-фоновая кислота	2.3	2 +/-1
Щавелевая кислота	1.7	7 +/-1
Молочная кислота	2.1	7 +/-1
Лимонная кислота	2.3	11 +/-1
Соляная кислота	1.6	35 +/-5

Как видно из табл. 2, перехода кальция в раствор под действием исследуемых кислот, кроме соляной, не происходит, хотя оксизилидендифос-фоновая кислота является специфическим комплексом кальция. Такое несоответствие прогнозируемого эффекта полученным данным обусловлено образованием комплексов используемых кислот и их солей с пектинами амаранта [39, 48]. Образование комплексов кислот и их солей подтверждают и данные физико-химических методов исследования.

Таким образом, можно констатировать, что использование приведенных в табл. 2 кислот, кроме соляной, не позволяет экстрагировать кальций из листовых массы амаранта. Поэтому в работах [34, 41, 47] детально исследовалось действие соляной кислоты, в том числе и на модели желудочного сока, на доступность биогенного кальция амаранта.

На рис. 1 приведена зависимость выхода кальция из травы амаранта под действием соляной кислоты в зависимости от соотношения 0.1 г раствора кислоты и массы травы амаранта.

Как видно из рис. 1, при действии соляной кислоты выход кальция растет при увеличении соотношения кислота-амарант, достигая максимума около 50%. Оптимальное соотношение массы травы амаранта к 0.1% раствору HCl составляет 1:20. При увеличении соотношения выход кальция из травы амаранта при экстракции увеличивается незначительно. Как уже отмечалось, при действии других кислот: щавелевой, оксизилидендифосфоновой, перехода кальция в раствор не наблюдается, хотя ОЭДФК и является специфическим комплексом на кальций.

Как следует из приведенных данных, кальций в листьях амаранта находится в нескольких формах, которые по-разному реагируют с кислотами и о которых известно очень мало. Известно, что часть кальция находится в виде оксалата, который образует в листьях друзы, являющиеся родовым признаком амаранта.

С другой стороны, амарант содержит достаточно большое количество пектиновых веществ, образующих нерастворимые соли – пектаты кальция, которым было посвящено достаточно много работ [67-72]. Отмечено, что в большинстве случаев

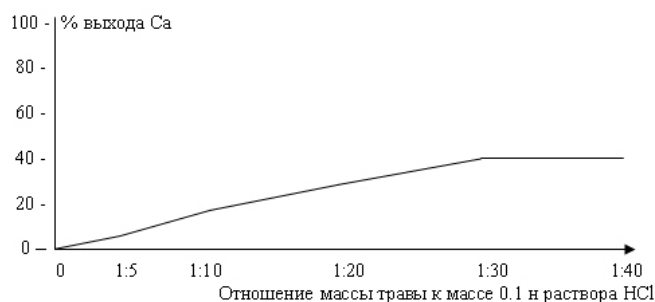
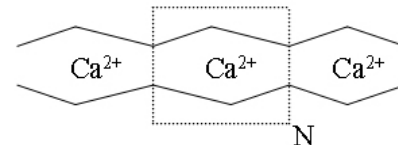


Рис. 1. Зависимость выхода кальция (%) от соотношения массы травы амаранта к массе 0.1% раствора соляной кислоты.

наблюдается как ионное, так и координационное взаимодействие иона металла с полиэлектролитом. Последнее ответственно за кооперативное взаимодействие большинства поливалентных ионов с полигалактуроновой кислотой [73-78]. Структурные исследования показывают [79], что все известные кристаллические комплексы кальция с углеводами характеризуются высокой стереоспецифичностью взаимодействия. Максимальное связывание достигается в тех случаях, когда атомы кислорода сахара находятся в такой пространственной ориентации, при которой возможно замещение молекул воды из координационной сферы кальция (аксиально-экваториально-аксиальное расположение гидроксильных групп в пиранозном цикле).

Необходимо отметить, что при взаимодействии полигалактуронанов, к которым относятся и пектины, с ионами кальция участвуют четыре атома кислорода [80-81]. Исследование комплексообразования металлов с полимерами-полиэлектролитами осложняется наличием двух типов связывания: неспецифического, с участием гидратированного противоиона, и сайтового или сайтспецифического, с участием негидратированных противоионов [82].

Данные рентгено-структурного анализа указывают на то, что в результате комплексообразования происходит димеризация молекул пектина по типу "ящик для яиц" за счет образования координационных связей атомом кальция с гидроксильными группами разных цепочек [83]. Такая структура была подтверждена для системы кальций-полигалактуронат [84].



Кроме выделения растворимого кальция (около 50% общего количества)

при действии на траву амаранта соляной кислоты происходит гидролиз протопектина с выделением пектина, играющего положительную роль в желудке. В свою очередь, выделившийся пектин связывает растворенный кальций с образованием нерастворимого пектата кальция, что является второй причиной низкого выхода кальция из растительной массы. И существует еще третья причина низкого выхода кальция из травы амаранта. Как было показано Мардеросьяном [15], кроме нерастворимого оксалата кальция существует еще пул растворимых оксалатов, доля которых зависит от вида амаранта и, вероятно, от фазы развития растения, которые при контакте с растворимым кальцием переводят его в нерастворимую форму. При действии щавелевой кислоты или ее солей пектинаты кальция переходят в соответствующую кислоту или водорастворимую соль, но при этом пектаты загрязняются оксалатом кальция.

Подобным образом ведет себя не только щавелевая кислота, но и другие дикарбоновые или оксикарбоновые кислоты. Если для выделения используют янтарную кислоту, то она образует прочный комплекс с пектином, не разрушающийся даже при пересаживании спиртом [85]. Сигналы янтарной кислоты присутствуют и в спектре ЯМР ^{13}C пектина: 171.98 (COOH) и 62.58 м.д. (CH_2) [85]. Аналогично ведет себя и молочная кислота, сигналы которой так же присутствуют в ЯМР спектре пектина, выделенного при ее участии [85].

Поэтому должна быть последовательная экстракция щавелевой кислоты и растворимого кальция при исследовании соотношения различных форм кальция в амаранте.

2.4. О токсичности надземной массы амаранта.

Хотя биомасса амаранта является уникальной по аминокислотному составу белков и может использоваться для питания людей и животных, но высокое содержание на фоне больших концентраций кальция щавелевой кислоты в продуктах и кормах может привести к отрицательным действиям, наносящим ущерб здоровью и жизни животных и людей. Ранее отмечалось, что Бух с сотр. [29] и Маршалл с сотр. [30] еще в 1966 г описали токсичность амаранта для свиней. С другой стороны в работе [49] описывается случай отравления коров амарантом. В связи с тем, что в России амарант начинают достаточно широко использовать в сельском хозяйстве, производстве БАД, считаем необходимым более подробно привести изложение работы [49]. История развивалась следующим образом. Семилетняя корова была найдена заболевшей, предположительно гипокальциемией. Корова находилась в лежачем состоянии с сильным мышечным тремором, в основном, вокруг шеи и плеч.

Поскольку клинические симптомы напоминали гипокальциемию, корову лечили растворами глюконатов кальция и магния. Анализ крови, взятой перед лечением, показал 5.5 мг кальция/л при нормальном уровне в 9.5-12 мг/л, что подтверждало состояние гипокальциемии. Ее лечили электролитами, кальцием, витаминами А и Д, однако корова умерла вечером.

Следом нашли на пастбище еще две коровы в таком же лежачем состоянии. Обе коровы имели симптомы гипокальциемии (4.5-5.2 мг/л кальция) и гипомagneзием (1.2-1.6 мг/л при норме 1.8-3.0 мг/л). Уровень натрия был повышен до 5.5 мг/л, при норме 3.5-5.1 мг/л. Содержание мочевинового азота в крови (42 и 66 мг/л при норме 10-25 мг/л). Коровам давали глюконаты кальция и магния и витамины А и Д. После восьми часов лечения одна из коров встала, другая корова все еще была лежачей, и к ней применили введение электролитов.

На третий день состояние лежачей коровы не изменилось. Корову лечили глюкозой, витамином Е и селеном. Корова начала есть и только на 6 день смогла подняться и начала двигаться.

Позже, в тот день, еще одна корова была найдена в лежачем состоянии. Показатели анализа крови: 4.6 мг Са/л, 1.2 мг магния/л, 6.1 мэкв натрия/л и 8.4 мг креатинина/л. Ее лечили введением растворов глюконатов кальция и магния, электролитов, витаминов А и Д. После трех дней лечения корова встала и начала двигаться. Спустя неделю после лечения корова вошла в клинические нормы по биохимическим показателям. На третий день все здоровые коровы были перемещены с этого пастбища.

Превалирующей травой на поле была овсяница, со значительным количеством клевера. Пастбище находилось в плохом состоянии со множеством сорняков, среди которых был и *A. retroflexus*. Большая часть *A. retroflexus* находилась близко к кормушкам.

Вскрытие показало слегка опухшие почки с кровотечением на поверхностях. Избыток бесцветной жидкости находился в брюшинной полости. Микроскопические обширные омертвения почечных эпителиальных клеток были в сочетании с содержанием белкового гноя. Диагноз отравления *Amaranthus retroflexus* был основан на клинических и постмортальных результатах, а также больших количествах Амаранта на пастбище.

Amaranthus retroflexus можно найти на большинстве пастбищ не только США, Англии, но и России. Он может достигать высоты 2 м и проявлять токсичность в трех вариантах. Растение аккумулирует нитраты, содержит растворимые оксалаты и обладает токсином, который является причиной заболевания. Необходимо отметить, что некоторые культурные виды амаранта накапливают кальций, а соответственно и щавелевой кислоты, связывающей избыток кальция в оксалат, намного больше, чем *Amaranthus retroflexus* [15].

Токсикоз от *A. retroflexus* встречается среди скота достаточно часто [50-52, 53-54]. Необходимо отметить, что есть еще одно растение – *Halogeton glomeratus*, содержащее значительное количество оксалатов, которое также служит причиной гибели многих овец [55].

Клинический синдром оксалатурии, обычно острый, сопровождающийся затрудненным дыханием, слабостью, когда животное пухнет, приводит к смерти. Исследования показали, что кристаллы оксалата кальция присутствуют на стенках паренхимы почек. Другие же овцы могут быть гипокальциемичны и у них отсутствуют оксалаты.

Существуют и другие проблематичные растения по оксалатам, но все эти растения содержат не оксалаты кальция, а растворимые оксалаты натрия в больших концентрациях в листьях и семенах. Растворимые оксалаты, произведенные грибами, также являются проблемой. Необходимо отметить, что растения, богатые нерастворимым оксалатом кальция, в основном, культурные растения. Этот вывод подтверждает и сравнение концентраций кальция в биомассе *A. retroflexus* и *A. cruentus* [15].

Как показывает анализ литературы, в южно-восточных штатах США, где много на полях и пастбищах *Amaranthus retroflexus*, свиньи, которые едят амарант, также страдают от него [55, 56-58]. Синдром развивается в течение 5-10 дней после помещения на пастбище, содержащее *A. retroflexus*. Животные страдают слабостью, тремором, параличом конечностей.

Скот может по-разному реагировать на *A. retroflexus*, что затрудняет диагноз. Скот с токсикозом от амаранта обычно описывается находящимся в постоянном лежачем состоянии с трясущейся мускулатурой. Повреждение состоит из обширного омертвления почечных канальцев с гранулярным ацидофильным материалом. Для предотвращения образования осадков оксалата очень важно принимать соответствующее количество воды для ускорения мочеиспускания.

Признаки отравления оксалатом, ассоциируемые с *Amaranthus L.*, отличны у разных животных. Потребляемые жвачными оксалаты могут быть детоксифицированы микроорганизмами рубца, которого нет у человека и свиней. Постоянное потребление оксалатов увеличивает эту способность, следовательно, жвачные животные, привыкшие потреблять оксалатосодержащие растения, могут потреблять эти растения без последствий, в отличие от человека и свиней. Растворимые оксалаты, как и сама щавелевая кислота, могут реагировать с кальцием в рубце с образованием оксалата кальция. Последний выделяется с калом, и не оказывает токсического действия на организм.

Табл. 2. Содержание нитратов и оксалатов в листьях различных видов амаранта, % на ACB.

Вид	NO ₃ ⁻	Оксалаты C ₂ O ₄ ²⁻	
		общие	растворимые
<i>A. blitum</i>	0.19	6.6	2.9
<i>A. caudatus</i>	0.29	2.4	-
<i>A. cruentus</i>	0.74	7.8	3.0
<i>A. dubius</i>	0.43	3.0	-
<i>A. gangeticus</i>	0.58	4.2	4.2
<i>(tricolor)</i>			
<i>A. hybridus</i>	0.41	-	-
<i>A. hypochondriacus</i>	0.65	-	-
<i>A. retroflexus</i>	-	1.8	1.8

1980 [15]).

Всего было обследовано восемь видов амаранта. Как следует из данных табл. 2, *A. retroflexus* по сравнению с культурными видами содержит в несколько раз меньше оксалатов, но все они являются растворимыми. Наибольшее количество оксалатов содержится в культивируемом в России виде – *A. cruentus* – 7.8%, в том числе 3.0% – растворимых, что в 1.7 раза больше, чем в *A. retroflexus*.

Таким образом, щавелевая кислота, содержащаяся во всех видах амаранта, препятствует его использованию как источника кальция в БАД, несмотря на высокое содержание кальция в растительном сырье.

Необходимо отметить, что предпринимаемые нами попытки экстрагирования нерастворимых оксалатов кальция различными экстрагентами не привели к успеху. Так, водная экстракция при температуре 70 °C листьев амаранта в фазу полного созревания семян показала, что полученный экстракт содержит только 0.03% кальция [41, 47], в отличие от магния, которого в исходных листьях содержалось 0.82%, а в полученном экстракте – 3.0% [59].

Наблюдаемое большое потребление амаранта коровами позволило в итоге вынести токсикоз от этого растения на первое место как причину заболевания. Как только скот начинает есть *Amaranthus*, у него развивается пристрастие к растению, несмотря на наличие лучшего фуража. Постмортальные повреждения, найденные в коровах, соотносились с отравлением *Amaranthus retroflexus*. Щавелевая кислота растения связывается с кальцием в рубце, что приводит к ускорению его выхода с фекалиями. Это могло привести к уменьшению доступного кальция для адсорбции и гипокальциемии.

Лечение скота от токсикоза дает неудовлетворительные результаты. Необходимы превентивные меры – удаление скота с пастбища, удаление амаранта и адаптация. Отмечены другие случаи, когда скот потреблял *Amaranthus*, особенно в сухую погоду. Во всех этих случаях скот выявил пристрастие к этому растению, заболел и умирал.

2.5. Проблема токсичности амаранта – проблема растворимых оксалатов.

Поддержание баланса кальция в организме происходит благодаря паратгормону, витамину D и кальцию, который поступает в организм с пищей. При снижении уровня кальция в организме паращитовидная железа получает сигнал о секреции паратгормона, который способствует повышению уровня кальция в крови. Паратгормон заставляет остеокласты интенсивнее рассасывать костную ткань, и высвобождать кальций. Кроме этого, он подает сигнал почкам направлять больше кальция в кровь, а не выводить его с мочой и сообщает тонкому кишечнику о необходимости более эффективно всасывать кальций из пищи. Для этого паратгормон заставляет организм синтезировать больше витамина D.

Как следует из приведенного материала, амарант может выполнять только одну функцию – поставлять организму дополнительный кальций. Однако, исходя из токсичности амаранта, определенные трудности при переработке нетрадиционного сырья для лечебно-профилактического питания диетического назначения представляют содержащиеся в нем антипитательные вещества. Что же касается амаранта – необходимо удалять в первую очередь не кальций и оксалат кальция, а свободную щавелевую кислоту и ее растворимые соли.

В настоящее время накоплен достаточно большой производственный опыт решения проблемы антипитательных веществ. Антипитательные вещества – сапонины, фенолы, эфирные масла, ингибиторы трипсина, удаляют на стадии предварительной подготовки сырья, используя процессы мацерации, водно- и водноспиртовой обработки, в том числе и бланширования, экстракции углеводородами, или введения наполнителей, нейтрализующих негативное действие антипитательных веществ.

Какие способы, принципиально, существуют для понижения содержания растворимых оксалатов в биомассе амаранта, чтобы сделать его пригодным для производства кормов и биологически активных добавок?

В настоящее время наиболее реальными можно считать три:

- генноинженерный, предусматривающий, например, выведение сортов с повышенным пулом, оксалактоксидазы, и работы в этом направлении ведутся;
- агрохимический, на основании знаний азотного питания амаранта;
- технологический, предусматривающий соответствующую подготовку биомассы амаранта перед использованием.

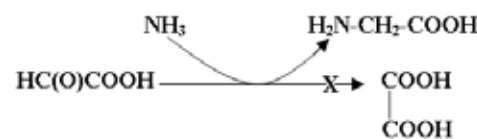
Реализация одного из генно-инженерных путей предусматривает исследование оксалактоксидазы амаранта. Последняя способна окислять щавелевую кислоту и ее соли до диоксида углерода. Следовательно, чем выше пул оксалактоксидазы, тем меньше содержание щавелевой кислоты в растении. В работе L. Goyal et al. [60] локализованная в мембране клеток *A. spinosus* оксалактоксидаза была выделена и очищена до гомогенного состояния. Определенная методом гель-фильтрации на сефадексе G-200 молекулярная масса оксалактоксидазы составляла 130 кДа. Оксалактоксидаза амаранта состоит из двух одинаковых субединиц по 65 кДа. Фермент имеет оптимум активности при pH 3.5 и 40 °C. Энергия активации реакции составляет 15.25 ккал/моль. K_M для оксалата и V_{max} ферментной реакции составляли $2.16 \cdot 10^{-3}$ М и 0.18 ммоль/мин·мл, соответственно. Натриевая соль диэтилдитиокарбамата и азид натрия ингибируют фермент. Металлы и флавоноиды не оказывают влияния на ферментативную реакцию.

Высокое содержание оксалактоксидазы в мембране амаранта позволяет рассматривать последний в качестве источника фермента для биохимии и медицины. Выделенный фермент был иммобилизован на модифицированном алкиламином стекле с выходом 9.2 мг белка на 1 г носителя. При этом фермент сохранил 99.4% своей активности и был стабилен в течение 6 месяцев хранения при температуре 4 °C [61].

Полученный иммобилизованный фермент оксаликтоксидаза был использован для разработки метода определения оксалатов в моче [62]. По этому методу образовавшаяся из оксалата под действием оксалактоксидазы перекись водорода разлагалась пероксидазой в присутствии 4-аминофенола. Образовавшийся хромоген тестировался при 520 нм. Чувствительность метода составила 0.9 мг оксалата в 1 л раствора. Безусловно, такие методы найдут применение в биохимическом анализе мочи, особенно при гипероксалуриемиях – группе тяжелых заболеваний, характеризующихся образованием в тканях кристаллов оксалата кальция, в частности из гликоксилата; смерть наступает в возрасте менее 20 лет от нарушения функции почек [63]. Необходимо отметить, что бланширование и вываривание листьев амаранта, практикуемые в некоторых странах, позволяют избавиться от растворимой части оксалатов и свободной щавелевой кислоты, однако ведут к денатурации ферментов, в том числе оксалактоксидазы.

Другим способом, приводящим к уменьшению содержания растворимых оксалатов, может быть агрохимический. Проведенное Магомедовым И.М. с сотр. изучение накопления оксалата в зависимости от возраста растений и формы азота в питательном растворе показало [64], что молодые листья верхних ярусов содержат меньше оксалата, по сравнению с C_3 -растениями. В старых листьях нижнего яруса происходит отложение щавелевой кислоты. Однако количества щавелевой кислоты можно уменьшить посредством перевода растений к концу вегетационного периода на аммонийное питание. Таким образом, у амаранта форма азотного питания определяет накопление щавелевой кислоты. Вероятно, предшественник щавелевой кислоты – гликолат, при наличии аммония вступает в фотодыхательный цикл углерода, а не идет на синтез оксалата [64] (схема 1).

Схема 1. Пути превращения $HC(O)COOH$.



Следовательно, как считает Магомедов И. [64], в целях уменьшения содержания оксалатов в листьях необходимо при возделывании амаранта вначале вносить нитратные формы азотных удобрений, а позднее – аммонийные. Такой прием ведет к понижению оксалата и щавелевой кислоты в растениях, так как переключает синтез с оксалата на аминокислоту глицин.

Нами для уменьшения содержания щавелевой кислоты и растворимых оксалатов в растительном сырье, используемом для получения БАД, использован технологический способ, предусматривающий соответствующую подготовку биомассы амаранта перед использованием.

Способ заключается в предварительном измельчении и отжиме зеленой массы амаранта с использованием либо виноградного, рамного пресса, центрифуги или другого оборудования, позволяющего отделить клеточный сок, содержащий щавелевую кислоту и растворимые оксалаты от растительной массы (схема 2). Полученная при этом биомасса, далее жом, содержащий основное количество кальция, может использоваться для получения БАД, в том числе и кальций содержащих. Кроме этого дополнительно получается протеиново-зеленый концентрат (ПЗК).

Интенсификацию процесса можно осуществить за счет дополнительного использования аппаратов роторно-пульсационного типа. Включение в технологическую цепочку аппаратов такого типа позволяет повысить выход клеточного сока и выход щавелевой кислоты. Предлагаемый подход позволяет практически полностью освободиться от водорастворимых оксалатов.

2.6. Роль дифосфонатов.

Известно, что ряд препаратов на основе дифосфоновых кислот и их производных (ксидифон, этидроновая кислота, алендронат, ризедронат) приостанавливает процесс истончения костей. Можно предположить, что роль дифосфонатов сводится либо к повышению растворимости кальция за счет процессов комплексообразования, так как известно, что дифосфонаты являются прекрасными комплексодами, в частности кальция, либо к регулированию процесса резорбции костей.

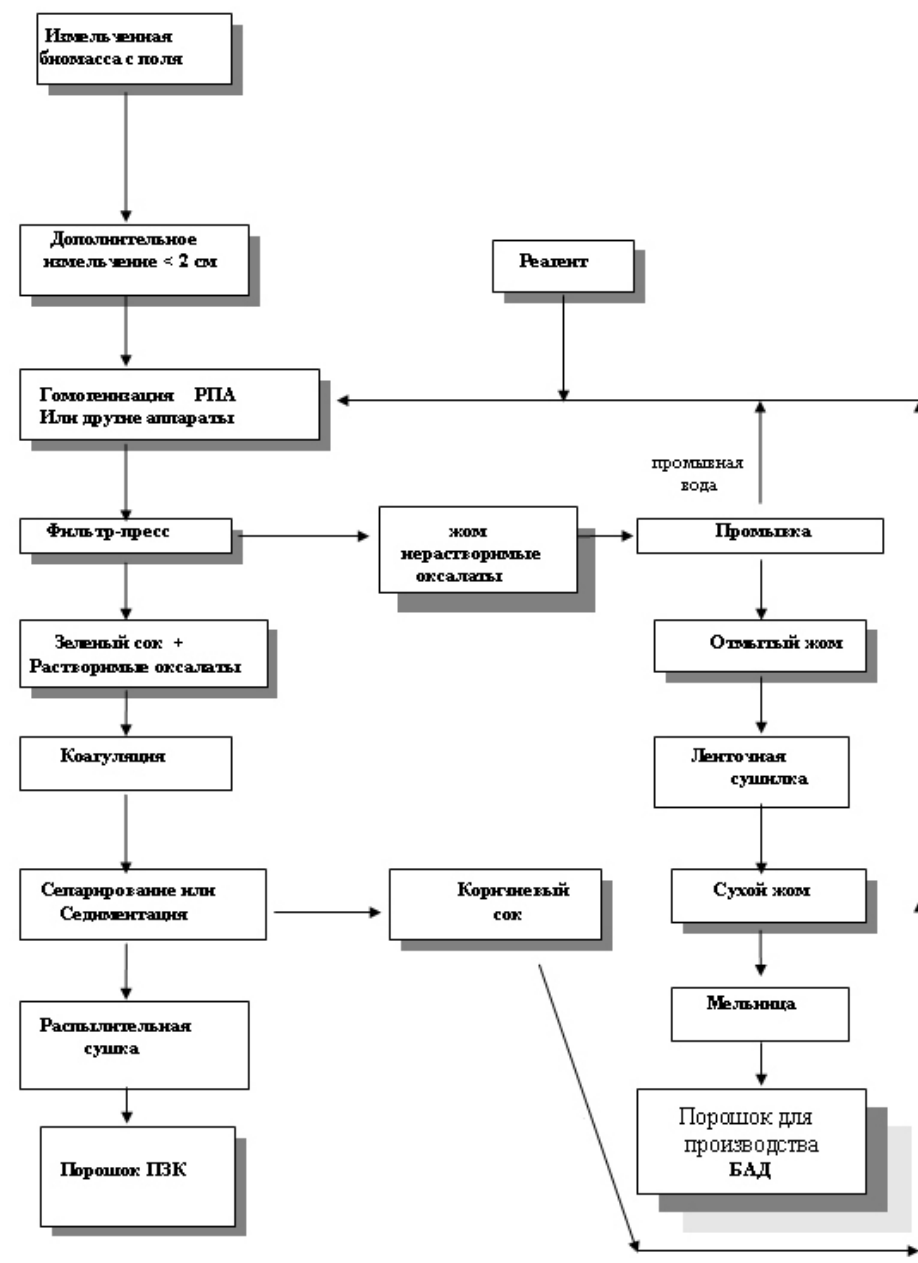
Как следует из приведенных выше данных (табл. 1) и работ [41, 47], использование ОЭДФК не приводит к увеличению выхода кальция. Объяснить это можно либо образованием комплексов ОЭДФК с пектинами, либо неспособностью кислоты вытеснять кальций из нерастворимых оксалатов.

Исследование дифосфонатов показало, что они действительно приостанавливают процесс истончения костей. Дифосфонаты прочно связываются с минеральными компонентами костей и при прикреплении остеокластов к поверхности костей они проникают внутрь клеток остеокластов и запускают процесс ее саморазрушения. Однако, как показано [65], дифосфонаты не только останавливают дальнейшее разрушение костей, но и увеличивают плотность костной ткани на 5-10%, что уменьшает вероятность переломов позвонков, шейки бедра и кисти на 50%.

Заключение

Амарант является перспективным сырьем не только для получения высококачественного белка, но и для разработки и производства БАД широкого спектра действия. На основании приведенных материалов можно заключить, что переработка растительной массы амаранта с целью получения белка или ПЗК с использованием роторно-пульсационной техники и других аналогичных аппаратов дает жом с необходимыми для использования в производстве БАД структурой и свойствами, физиологической активностью и цветностью, отличающийся отсутствием токсичных растворимых оксалатов.

Схема 2. Получение сырья, свободного от оксалатов, для производства БАД.



Литература

- [1] Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. и др. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина. 1991. 496с. а) А.В. Скальный. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение). М.: Издательство КМК. 1999. С.95.
- [2] Суханов Б.П., Королев А.А. Оздоровляющие продукты нового поколения в системе алиментарной профилактики и вспомогательной терапии заболеваний человека. 2-ой Межд. съезд "Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения" Санкт-Петербург: Валаам. 1998. С.182-183.
- [3] Илюхина Р.В., Куликова Е.Ю., Немчинова И.П. и др. Изучение возможности использования кости убойных животных для производства медицинских препаратов. Тез. докл. Междунар. Научно-практ. конф. "Пища. Экология. Человек". М.: МГАПБ. 1995. С.5.
- [4] Цыганова Т.Б. Полифункциональные добавки и их роль в создании хлебобулочных изделий лечебно-профилактического назначения. Тез. докл. Конференции. Краснодар. С.263-266.
- [5] Королев А.А., Суханов Б.П., Мерзлякова Н.М. В кн. "Гигиенические аспекты охраны окружающей среды и здоровья человека". М. 1992. С.54-57.
- [6] Суханов Б.П., Королев А.А., Вислобоков А.В. и др. В кн. "Гигиенические аспекты охраны окружающей среды и здоровья человека". М. 1992. С.124-127.
- [7] Суханов Б.П., Королев А.А., Горшков А.И. и др. В кн. "Гигиенические аспекты охраны окружающей среды и здоровья человека". М. 1992. С.57-62.
- [8] E.M. Carlisle. Silicon as an essential element. *Federation proceedings*. 1974. Vol.33. No.6. P.1758-1766.
- [9] Аткинс Р. Биодобавки доктора Аткинса. М. "Рипол Классик". 1999. С.480.
- [10] Офицеров Е.Н. Амарант – перспективное сырье для фармацевтической промышленности. Материалы I-й Российской научно-практической конференции "Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными растительными ресурсами и создания функциональных продуктов". М. 2001. С.26-27.
- [11] R.M. Saunders, R. Becker. Amaranthus: a potential food and feed resource. *Advances in cereal science and technology*. 1984. Vol.6. No.6. P.357-396.
- [12] Кирьяченко С.П., Прокопенко Л.С., Олоничева Р.В. Динамика изменения химического состава вегетативной массы амаранта в условиях Правобережной лесостепи Украины. Труды III Международного симпозиума «Новые нетрадиционные растения и перспективы их использования». Москва-Пуццано. 1999. С.63-65.
- [13] A. Boutin. Sur le presence d'une proportion considerable de nitre dans l'*Amaranthus blitum*. *Compt. Rend.* 1873. Vol.76. P.413-417.
- [14] A. Boutin. Sur le presence d'une proportion considerable de nitre dans deux varietes l'*Amaranthus blitum*. *Compt. Rend.* 1874. Vol.78. P.261-262.
- [15] Цит. по R.M. Saunders, R. Becker Amaranthus: a potential food and feed resource. *Advances in cereal science and technology*. 1984. Vol.6. No.6. P.357-396.
- [16] J. Elias. Food composition table for comparative nutrient composition of amaranth greens and seeds. In *Proc. Amaranth Conference. Ist.* 1977. P.17-37.
- [17] R.P. Devadas and S. Saroja. Availability of iron and β-carotene from Amaranth to children. In *Proc. Amaranth Conference*. 1979. 2nd. P.15-21.
- [18] O.I. Oke. Amaranth in Nigeria. In *Proc. Amaranth Conference*. 1979. 2nd. P. 22-30.
- [19] D.O. Ezeala. Nutrients, carotenoids and mineral compositions of the leaf vegetables *Amaranthus viridis* L. And *A. caudatus* L. *Trop. Agric. (Trinidad)*. Vol.62. No.2. P.95-96.
- [20] A. Sanchez-Marroquin, S. Maya, MV. Domingo. Effect of heat treatment and milling on the seed, flour, rheology and baking quality of some amaranth ecotypes. *Arch. Latinoam. Nutr.* 1985. Vol.35. No.4. P.603-619.

- [21] T.C. Mosha, R.D. Pace, S. Adeyeye, K. Mtebe, H. Laswai. Proximate composition and mineral content of selected Tanzanian vegetables and the effect of traditional processing on the retention of ascorbic acid, riboflavin and thiamine. *Plant Foods Hum. Nutr.* **1995**. Vol.48. No.3. P.235-245.
- [22] V.R. Rozycki, C.M. Baigorria, M.R. Freyre et al. Composicion de nutrientes en especies vegetales autoctonas de la region Chaquena, Argentina. *Arch. Latinoam. Nutr.* **1997**. Vol.47. No.3. P.265-270.
- [23] H. Gregorova. Kvalita nadzemnej biomasy laskavca (*A. mantegazzianus* L.) po ozimnej medziplodine tritikale. *Rostlinna-Vyroba.* **1999**. Vol.45. No.3. P.125-131.
- [24] N.L. Escudero, G. Albarracin, S. Fernandez et al. Nutrient and antinutrient composition of *Amaranthus muricatus*. *Plant Foods Hum. Nutr.* **1999**. Vol.54. No.4. P.327-336.
- [25] F.R. del Valle, M. Escobedo, A. Sanchez-Marroquin, et al. Chemical and nutritional evaluation of two amaranth (*Amaranthus cruentus*)-based infant formulas. *Plant Foods Hum. Nutr.* **1993**. Vol.43. No.2. P.145-156.
- [26] S.R. Adewusi, T.V. Ojumi, O.S. Falade. The effect of processing on total organic acids content and mineral availability of simulated cassava-vegetable diets. *Plant Foods Hum. Nutr.* **1999**. Vol.53. No.4. P.367-380. а) М.Д. Машковский. Лекарственные средства. В двух частях. Ч.II. М.: Медицина. **1994**. С.141.
- [27] E.U. Pingl, B.V. Ramasastri. Absorption of calcium from a vegetable rich in oxalates. *Br. J. Nutr.* **1978**. Vol.39. P.119-125.
- [28] E.U. Pingl, B.V. Ramasastri. Effect of water-soluble oxalates *Amaranthus* sp. on the absorption of milk calcium. *Br. J. Nutr.* **1978**. Vol.40. P.591-594.
- [29] W.B. Buck, K.S. Preston, M. Abel, M.S. Marshall. Perirenal edema in swine: A disease caused by common weeds. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* **1966**. Vol.148. P.1525-1531.
- [30] V.I. Marshall, W.B. Buck, G.I. Bell. Pigweed (*Amaranthus retroflexus*): an oxalate-containing plant. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* **1967**. Vol.28. P.888-889.
- [31] Зеленков В.Н., Закас Н.П. Химический и минеральный состав различных частей амаранта (*Amaranthus cruentus*). Материалы III Международной научно-практической конференции «Интродукция нетрадиционных и редких сельскохозяйственных растений». Пенза. **2000**. Т.1. С.18-19.
- [32] Зеленков В.Н. Использование природных закономерностей формирования микроэлементного портрета амаранта для создания инновационной агротехнологии получения растительного сырья, обогащенного кальцием, для производства БАД. Материалы II Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами и создания функциональных продуктов». М.: РАЕН-МАНОИ. **2003**. С.35-36.
- [33] Зеленков В.Н., Офицеров Е.Н., Михеева Л.А. Амарант – источник биогенного кальция. Материалы I-й Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными растительными ресурсами и создания функциональных продуктов». М. **2001**. С.23-26.
- [34] Офицеров Е.Н., Зеленков В.Н., Михеева Л.А. Амарант – источник биогенного кальция. *Аграрная Россия*. **2001**. №6. С.52-55
- [35] Зеленков В.Н., Офицеров Е.Н., Михеева Л.А. Исследование на модели in vitro некоторых биологических свойств препарата на основе листьев амаранта амаранта (*Amaranthus cruentus*). Материалы III Международной научно-практической конференции «Интродукция нетрадиционных и редких сельскохозяйственных растений». Пенза. **2000**. Т.1. С.16-18.
- [36] Зеленков В.Н., Офицеров Е.Н., Михеева Л.А. Моделирование выхода биогенного кальция и оценка эффективности антацидного действия биологически активной добавки на основе листьев амаранта (*Amaranthus cruentus*). Материалы IV Международного симпозиума «Биологически активные добавки к пище: XXI век». Санкт-Петербург. **2000**. М. С.89-90; Зеленков В.Н., Офицеров Е.Н., Михеева Л.А. Биологически активная добавка на основе листьев амаранта как носитель биогенного кальция и антацидной активности. *Практическая фитотерапия*. **2000**. №3. С.20-22
- [37] Офицеров Е.Н., Михеева Л.А., Зеленков В.Н. Особенности превращения кальция и протопектина в листе амаранта под действием кислот. Тез. докл. Конференции «Химия и технология растительных веществ». Сыктывкар: Из-во КНЦ УрО РАН. **2000**. С.115.
- [38] Зеленков В.Н., Офицеров Е.Н., Михеева Л.А. Амарант – источник биогенного кальция. Материалы I-й Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными растительными ресурсами и создания функциональных продуктов». М. **2001**. С.23-26.
- [39] Офицеров Е.Н., Зеленков В.Н., Михеева Л.А. Амарант – источник биогенного кальция. *Аграрная Россия*. **2001**. №6. С.52-55
- [40] Офицеров Е.Н., Зеленков В.Н. Амарант в профилактике гипомикроэлементозов. Сб. материалов II Всероссийской конференции «Химия и технология растительных веществ». Казань. **2002**. С.128-129.
- [41] Михеева Л.А., Офицеров Е.Н. Медико-биологические аспекты применения кальциевого препарата на основе листьев амаранта. Ученые записки УлГУ. Сер. Биологическая. Ульяновск. **2002**. Вып. 1(6). С.67-71.
- [42] Зеленков В.Н., Офицеров Е.Н. Биологически активное сырье из амаранта для производства биологически активных добавок к пище, пищевых продуктов, напитков с профилактическими свойствами и пробиотиков на основе культур микроорганизмов. *Патент РФ 2198554*. Приоритет от 12.06.2002.
- [43] Решение Минздрава РФ РУ N0045.50.Р.643.07.2002 от 25.07.02.
- [44] Зеленков В.Н., Офицеров Е.Н. Биологически-активная добавка «Кальций-актив» и перспективы ее применения. Материалы II Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами и создания функциональных продуктов». М.: РАЕН-МАНОИ. **2003**. С.35-36.
- [45] Зеленков В.Н., Офицеров Е.Н., Михеева Л.А. Кальциевый препарат на основе листьев амаранта и медико-биологические аспекты его применения с использованием модели in vitro. Материалы IV Межд. съезда «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения». С-Петербург. **2002**. С.575-578.
- [46] Офицеров Е.Н. Итоги исследования химического состава растений рода *AMARANTHUS*. Сборник тезисов докладов II Всероссийской конференции «Химия и технология растительных веществ». Казань. **2002**. С.178.
- [47] Михеева Л.А. Получение и некоторые химические свойства пектинов растений рода амарант. *Дисс. к.х.н.* М. **2001**. 205с.
- [48] Миронов В.Ф., Карасева А.Н., Цепяева О.В., Выштакалюк А.Б., Минзанова С.Т., Морозов В.И., Карлин В.В., Юнусов Ф.Р., Миндубаев А.З. Некоторые аспекты комплексообразования пектиновых полисахаридов с катионами d-металлов. *Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения*. **2003**. Т.4. №3. С.45-50.
- [49] L. Kerr, W. Kelch. Pigweed (*A. retroflexus*) Toxicosis in Cattle. *Vet. Human Toxicol.* **1998**. Vol.40. No.4. P.216-218.
- [50] C.M. Brown. Chronic *Amaranthus* (pigweed) toxicity in cattle. *Vet.Med.Small An. Clin.* **1974**. Vol.69. P.1551-1553.
- [51] C.J. Schamber, A.R. Misk. *Amaranthus retroflexus* (redroot pigweed). Inability to cause renal toxicosis in rabbits. *Am. J.Vet.Res.* **1985**. Vol.46. P.266-267.
- [52] B.P. Stuart, S.S. Nicholson, J.B. Smith. Perirenal edema and toxic nephrosis in cattle, associated with ingestion of pigweed. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* **1975**. Vol.167. P.949-950.
- [53] G. Spearman. Redroot pigweed toxicosis in cattle. *Can.Vet.J.* **1989**. Vol.30. P.255-256.
- [54] M.B. Torres, C.D. Kommers, A.F.M. Dantas et al. Redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) poisoning of cattle in southern Brazil. *Vet. Human Toxicol.* **1997**. Vol.39. P.94-96.
- [55] L.F. James. Locomotor disturbance of cattle grazing *Halogeton glomeratus*. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* **1970**. Vol.156. P.1310-1312.
- [56] E.G.C. Clarke, M.L. Clarke. Veterinary Toxicology. London: Bailliere Tindall. **1975**. P.257-260.
- [57] L.F. James, A.E. Johnson. Oxalate accumulators. In Current Veterinary Therapy 2. Food Animal Practice. Philadelphia: WB Saunders. **1986**. P.396-398.
- [58] R.D. Radeleff. Veterinary Toxicology. Philadelphia: Lea & Febiger. **1970**. P.69-74.
- [59] В.Н. Зеленков. Особенности химического и минерального состава водорастворимых сухих экстрактов из амаранта. Материалы I-й Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными растительными ресурсами и создания функциональных продуктов». М. **2001**. С.30-32.
- [60] L. Goyal, M. Thakur, C.S. Pundir. Purification and properties of a membrane bound oxalate oxidase from *Amaranthus leaves*. *Plant Science Limerick*. **1999**. Vol.142. No.1. P.21-28.
- [61] C.S. Pundir, L. Goyal, M. Thakur, A.K. Bhargava. Immobilization of *Amaranthus* leaf oxalate oxidase on alkylamine glass. *Indian J. Biochem. Biophys.* **1999**. Vol.36. No.6. P.449-452.
- [62] L. Goyal, M. Thakur, C.S. Pundir. Quantification of urinary oxalate with alkylamine glass bound *Amaranthus* leaf oxalate oxidase. *Analytical Letters*. **1999**. Vol.32. No.4. P.633-647.
- [63] W.L. Nyham, ed. Heritable Disorders of Amino Acid Metabolism. N.-Y.: Wiley. **1974**.
- [64] Магомедов И.М., Шумилова А.А., Федосенко А.А., Маслов Ю.И. Регуляция содержания щавелевой кислоты в листьях амаранта. Труды III Международного симпозиума «Новые нетрадиционные растения и перспективы их использования». Москва-Пуццано. **1999**. С.97-98.
- [65] Роузен К. Остеопороз можно победить. *В мире науки*. **2003**. №7. С.55-61.
- [66] Зеленков В.Н., Белоножкина Т.Г., Закас Н.П. Особенности минерального состава различных частей амаранта (*Amaranthus cruentus*). Материалы IV Межд. Научно-практ. Конф. «Интродукция нетрадиционных и редких сельскохозяйственных растений». Ульяновск. **2002**. С.248-250.
- [67] R. Kohn. Ion binding on polyuronates – alginate and pectin. *Pure Appl. Chem.* **1975**. Vol.42. P.371-397.
- [68] D.A. Rees. In M.T.P. International Review of Science. Biochemistry Series. **1975**. Vol.5. Biochemistry of Carbohydrates. P.1. Butterworths, London and University Park Press. Baltimore. MD. 165p.
- [69] D.A. Rees. Polysaccharide shapes and their interections – some recent advances. *Pure Appl. Chem.* **1981**. Vol.53. P.1-14.
- [70] D.A. Rees, E.J. Welsh. Secondary and tertiary structure of polysaccharides in solutions and gels. *Angew. Chem. Intern. Ed. Engl.* **1977**. Vol.16. P.214-223.
- [71] E.R. Morris, I.I. Norton. In Aggregation Processes in Solution. Amsterdam: Elsevier Science Publishing Co. **1983**. 549p.
- [72] A. Cesaro, F. Delben, S. Paoletti. Interaction of divalent-cations with polyuronates. *JCS – Faraday Transactions 1*. **1988**. Vol.84. No.8. P.2573-2584.
- [73] O. Smidsrod, A. Haug. Dependence upon the gel-sol state of the ion-exchange properties of alginates. *Acta Chem. Scand.* **1972**. Vol.86. P.2063-2074.
- [74] E.R. Morris, D.A. Rees, G. Young. Chiroptical characterization of polysaccharide secondary structures in the presence of interfering chromophores – chain conformation of inter-junction sequences in calcium alginate gels. *Carbohydr. Res.* **1982**. Vol.108. P.181-195.
- [75] D. Thom, G.T. Grant, E.R. Morris, D.A. Rees. Characterization of cation binding and gelation of polyuronates by circular dichroism. *Carbohydr. Res.* **1982**. Vol.100. P.29-42.
- [76] J.N. Laing, E.S. Stevens, S. Frangou, E.R. Morris, D.A.Rees. Cation specific vacuum ultraviolet circular-dichroism behavior of alginate solutions, gels and solid films. *Int.J.Biol.Macromol.* **1980**. Vol.2. P.204-208.

- [77] E.E. Braudo, A.A. Soshinsky, V.P. Yuryev, V.B. Tolstoguzov. The interaction of polyuronides with calcium ions. 1: Binding isotherms of calcium ions with pectic substances. *Carbohydr.Polym.* **1992**. Vol.18. P.165-169.
- [78] R. Kohn, B. Larsen. Preparation of water-soluble polyuronic acid and their calcium salts, and the determination of calcium ion activity in relation to the degree of polymerization. *Acta Chem.Scand.* **1972**. Vol.26. P.2455-2468.
- [79] M.L. Dheu-Andries, S. Perez. Geometrical features of calcium carbohydrate interactions. *Carbohydr. Res.* **1983**. Vol.124. P.324-332.
- [80] I. Braccini, R.P. Grasso, S. Perez. Conformational and configurational features of acidic polysaccharides and their interactions with calcium ions: a molecular modeling investigation. *Carbohydr. Res.* **1999**. Vol.317. P.119-130.
- [81] L. Alagna, T. Prosperi, A.A.G.Tomlinson, R. Rizzo. Extended X-ray Absorption Fine structure investigation of solid and gel forms of calcium poly(*D*-galacturonan). *J.Phys.Chem.* **1986**. Vol.90. P.6853-6857.
- [82] Алексеев Ю.А., Гарновский А.Д., Жданов Ю.А. Комплексы природных углеводов с катионами металлов. *Успехи химии.* **1998**. Т.67. С.723-744.
- [83] M.D. Walkinshaw, S. Arnott. Conformations and interactions of pectins. 2. Models for junction zones in pectinic acid and calcium pectate gels. *J.Mol.Biol.* **1981**. Vol.53. P.1075-1085.
- [84] O. Smidsrod, A. Haug, S.G. Whittington. The molecular basis for some physical properties of polyuronides. *Acta Chem.Scand.* **1972**. Vol.26. P.2563-2570.
- [85] Цапаева О.В. Выделение, структурная идентификация, химическая модификация пектиновых веществ растения амарант и некоторых модельных соединений. *Дисс. к.х.н. Казань.* **2000**. С.68-75.