

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

В настоящее время загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами признается одной из главных проблем экологии и здоровья населения России. Включение свинца и кадмия в число приоритетных загрязнителей объясняется их высокой токсичностью, способностью накапливаться в организме человека, а также повсеместным присутствием в окружающей среде (Ревич, 2001). Разнообразные проявления хронической свинцовой интоксикации изучены более детально, чем какого-либо другого профессионального отравления, в связи с выраженным токсическим действием свинца на систему крови, нервную и сердечно-сосудистую систему, желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), печень, почки. Хотя кадмий имеет более ограниченную область токсического воздействия, он отнесен Всемирной организацией здравоохранения к числу наиболее опасных для здоровья человека веществ.

Неблагоприятное для здоровья воздействие неорганических соединений свинца и кадмия и стойкость загрязнения ими среды обитания привели к поиску лечебно-профилактических методов, которые способствовали бы уменьшению аккумуляции тяжелых металлов в организме и ослаблению вызываемых ими патологических изменений. Суть направления биопрофилактики заключается в воздействии не на вредные факторы окружающей среды, а на реактивность и резистентность организма по отношению к ним, т.е. на биологические предпосылки к развитию профессиональной или экологически обусловленной патологии (Кацнельсон и др., 2004). Метод энтеросорбции является неотъемлемой частью биопрофилактики. Энтеросорбенты из растительного сырья не только выводят из организма человека тяжелые металлы, но и оказывают профилактическое действие, поставляя в организм витамины, пищевые волокна и другие полезные вещества. Повышенный интерес вызывают растительные энтеросорбенты, их сорбционные свойства изучаются в последние годы (Щелкунов, 2004) с возрастающей интенсивностью. Особенно актуальным является поиск эффективных энтеросорбентов, способных снизить концентрацию тяжелых металлов в организме человека до допустимого уровня и оказывающих «мягкое» воздействие на организм. Целесообразно проведение исследований, направленных на определение максимальной сорбционной емкости БАД и пищевых волокон, влияния экспозиции, температуры, pH на эффективность процесса сорбции.

### Цель исследований

Изучение закономерности сорбции катионов свинца ( $Pb^{2+}$ ) и кадмия ( $Cd^{2+}$ ) из водных растворов их солей (нитрата свинца и сульфата кадмия) криопорошками «Биофит» из растительного сырья (сельскохозяйственных культур) в опытах *in vitro* и *in vivo*.

### **Задачи исследований**

1. Исследовать сорбцию  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  криопорошками «Биофит» в условиях *in vitro* и определить их сорбционную способность и сорбционную емкость.
2. Исследовать влияние степени дисперсности БАД на закономерности сорбции ими  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  изолированно и совместно.
3. Изучить взаимное влияние компонентов смесевых БАД на их способность сорбировать  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  изолированно и совместно.
4. Исследовать сорбцию  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  пищевыми волокнами, входящими в состав БАД.
5. Изучить биопрофилактическое действие сорбента (БАД «Овес») и его способность сорбировать и выводить свинец из организма экспериментальных животных (белых крыс).

### **Научная новизна**

Для изучения способности БАД из растительного сырья и пищевых волокон, входящих в их состав, сорбировать  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  подобрана методика, воспроизводящая условия (рН, время и интенсивное перемешивание), приближающиеся к перевариванию пищи в ЖКТ человека. Впервые исследовано влияние степени дисперсности БАД на их сорбционную способность, взаимное влияние свинца и кадмия при их совместной сорбции мелкодисперсными БАД и некоторыми полисахаридами, а также взаимное влияние компонентов смесевых БАД на сорбционную способность.

### **Научно-практическая значимость работы**

Работа выполнялась в соответствии с единым заказ - нарядом Минобразования и науки РФ в 2000–2005 г.г., тема ЗМ.321, (ННГУ 1.32.01.) «Создание теоретических основ синтеза полимеров, изучение их строения и физико-химических характеристик; термодинамика полимеров, полисахаридов и элементоорганических соединений»; проектом «Разработка оборудования и технологии получения растворимых напитков и соков на основе криопорошков сверхтонкого измельчения» (шифр: «Фитонапитки») в рамках инновационной программы Миннауки РФ «Наука – технология – производство – рынок» (2000–2001), а также по хоздоговорам с ЗАО «Биофит», ЗАО «Фитоград», ЗАО «Биоцентр».

На ряде предприятий г. Нижнего Новгорода (ЗАО «Биофит», ЗАО «Фитоград» и ЗАО «Биоцентр») на основании полученных экспериментальных данных разработан состав и налажено производство ряда многокомпонентных БАД, способных не только поставлять в организм человека биологически активные вещества, но и эффективно выводить свинец и кадмий.

Материалы диссертации используются в лекционных курсах «Химия окружающей среды», «Физико-химические методы мониторинга окружающей

среды» на биологическом факультете, в курсовых и дипломных работах студентов Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

### **Объем и структура диссертации**

Материалы диссертации изложены на 130 стр. Работа состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов и списка цитированной литературы. В работе приведено 16 рисунков, 36 таблиц. Список цитированной литературы включает в себя 140 источников, в том числе 40 - иностранных авторов.

### **Публикации и апробации результатов исследований**

Основные положения диссертации опубликованы в 18 научных работах. Они докладывались на: III Международной научно-технической конференции «Пища. Экология. Человек» (Москва, 1999); I Международной НПК по трансферу технологий в свободных экономических зонах «Тенденции. Теории и практика (ТРАНСТЕХ - 2002)» (Гомель, 2002); I НПК «Проблемы регионального экологического мониторинга» (Нижний Новгород, 2002); III Международном симпозиуме «Контроль и реабилитация окружающей среды» (Томск, 2002); VIII и IX Нижегородских сессиях молодых ученых (Нижний Новгород, 2003, 2004). Материалы диссертации используются в лекционных курсах «Химия окружающей среды», «Физико-химические методы мониторинга окружающей среды» биологического факультета, в курсовых и дипломных работах студентов Нижегородского госуниверситета им. Н.И. Лобачевского.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Изучение сорбции  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  в опытах *in vitro* позволяет определить наиболее эффективные энтеросорбенты, а также установить взаимосвязь между сорбционной емкостью и массой твердого остатка БАД.
2. Увеличение степени дисперсности БАД приводит к увеличению сорбционной способности  $Pb^{2+}$  и не влияет на сорбционную способность  $Cd^{2+}$ .
3. Сорбция  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  некоторыми смесевыми БАД характеризуется отсутствием как аддитивного, так и потенцирующего взаимодействия компонентов, входящих в их состав.
4. Сорбция  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  пищевыми волокнами, входящими в состав БАД, выявляет полисахариды, обеспечивающие эффективную сорбционную способность БАД.
5. Введение БАД «Овес» в рацион питания белых крыс, подвергшихся воздействию малых доз свинца, значительно снижает содержание свинца во внутренних средах организма.

## **Глава 1. Современная проблема загрязнения окружающей среды свинцом и кадмием и поиск средств биопрофилактики (энтеросорбентов) для уменьшения негативного воздействия тяжелых металлов на здоровье человека (Обзор литературы).**

В ходе анализа литературных источников изучен вопрос о загрязнении среды обитания человека неорганическими соединениями свинца и кадмия, определена проблема хронического непромышленного воздействия малых доз свинца на взрослый и детский контингенты, проанализированы современные методы детоксикации организма и состояние вопроса о средствах биопрофилактики воздействия на организм человека тяжелых металлов.

## **СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Глава 2. Материалы и методы исследования**

**2.1. Объекты исследования.** Объектами исследования служили крупнодисперсные криопорошки из топинамбура, черники, тыквы, петрушки, сельдерея, малины, свеклы, овса, яблока, моркови, аронии, укропа и др. \*, мелкодисперсные криопорошки из яблока клюквы, мяты, топинамбура, аронии, свеклы и др., смесевые многокомпонентные БАД («Сонет», «Калейдоскоп», «Витасорб»)\*\* , полученные в ЗАО «Биофит» (г. Н. Новгород) путем криогенного измельчения в шаровой мельнице предварительно высушенного в вакууме растительного сырья (Груздева и др., 1998; Кирсанова и др., 1997), полисахариды (древесная аморфная целлюлоза, яблочный пектин, картофельный крахмал, инулин из корней цикория).

Все БАД были воздушно-сухие и содержали 3-8 мас.% остаточной воды. Определенное методом атомно-эмиссионного анализа (Спектральный..., 1994) содержание тяжелых металлов в пересчете на исходное сырье не превышает ПДК (Pb – 0.4 мг/кг, Cd – 0.03 мг/кг) во всех изученных образцах (Гигиенические..., 1991).

**2.2. Определение размера частиц БАД.** Определение размера частиц крупнодисперсных БАД проводилось с использованием сит с различными размерами ячеек. Диаметр отбираемых частиц составил 100–500 мкм. Для увеличения эффективности воздействия на организм были разработаны БАД с более высокой степенью дисперсности («Яблоко», «Свекла», «Арония», «Топинамбур» и др.). Размер частиц определяли оптическим методом, и у различных высокодисперсных образцов БАД он составил 5–40 мкм.

\* Патент № 2110194 «Способ получения пищевой добавки из растительного сырья»

Патент № 2124300 «Пищевая добавка в таблетках»

Патент № 2129393 «Биологически активная пищевая добавка в дозированной форме»

\*\* Регистрационное удостоверение №005290.Р.643.01.2003 «Биологически активная добавка к пище «Витасорб»; Сан.-эпидемиол. заключение 52.НЦ.06.916.Т.000820.04.02 от 23.04.2002 «Продукты «Биофит» - смеси криопорошков».

### 2.3. Выбор метода изучения сорбции свинца и кадмия в условиях *in vitro*

В настоящее время отсутствует единая методика изучения сорбции тяжелых металлов сорбентами из растительного сырья. Поэтому были проанализированы и сопоставлены возможности различных методов при определении сорбционной способности БАД в опытах *in vitro*. Содержание  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  в водных фильтратах после отделения твердых остатков БАД определяли потенциометрическим методом с применением ионселективных электродов. Содержание  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  в исходном растительном сырье и твердых остатках БАД, оставшихся после проведения разработанной нами методики количественной оценки сорбционной способности БАД определяли спектральными методами анализа.

Свинец и кадмий брали в виде их растворимых в воде солей –  $Pb(NO_3)_2$  квалификации «осч»,  $CdSO_4$  квалификации «хч». Соли растворяли в 30 мл дистиллированной воды. Криопорошок (сорбент массой ~ 1.8 г) вводили в раствор при перемешивании на магнитной мешалке. Выбранная масса сорбента соответствует ежедневной профилактической дозе. Путем добавления 0.5 н раствора HCl доводили pH смеси до значения 3.5 и перемешивали образец 3 часа. Затем с помощью 10%-ного раствора аммиака изменяли pH до значения 8.5 и перемешивали образец еще 3 часа. Необходимое количество растворов соляной кислоты и аммиака определяли в предварительных опытах с помощью универсального иономера ЭВ-74.

Двухстадийная методика использовалась в экспериментах с кадмием. Для приготовления образцов со свинцом можно было использовать только первую кислотную стадию, т.к.  $Pb(NO_3)_2$  гидролизуется в растворе. У образцов, которые после приготовления можно было отделить от фильтра («Укроп», «Морковь»), проводили и кислотную, и щелочную стадии. Результаты для одно- и двухстадийных методик совпадали в пределах погрешности эксперимента. Многочисленные эксперименты показали, что гидролиз и преимущественное изменение массы сорбента происходит на кислотной стадии. Для увеличения информации о закономерностях сорбции  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  и подтверждения результатов для некоторых образцов определяли содержание металлов, как в твердом остатке, так и в фильтрате. Твердый остаток отделяли от жидкости двумя способами:

- на воронке Бюхнера (с периодическим откачиванием) при перемешивании в течение нескольких часов. Частично обезвоженный образец промывали 20 мл дистиллированной воды в два приема;
- путем центрифугирования на приборе «Mechanica пресуzyjna» (Польша). Скорость центрифугирования составляла 6000 об/мин. Фильтрат сливали. Осадок так же, как и в первом способе, промывали 20 мл дистиллированной воды в два приема, и жидкость присоединяли к первоначально слитому раствору. Твердый остаток переносили на бумажный фильтр.

Досушивали продукты на фильтрах при 70°C в течение 4 часов. Полученные образцы представляли собой пленки, довольно прочно удерживаемые фильтром.

Поэтому при анализе атомно-абсорбционным методом на содержание тяжелых металлов адсорбент погружали в раствор  $\text{HNO}_3$  вместе с фильтром. В предварительных опытах было установлено, что использованные фильтры задерживали 2.0 мас.%  $\text{Cd}^{2+}$  и 4.5 мас.%  $\text{Pb}^{2+}$ .

Содержание  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$  в твердых остатках определяли атомно-абсорбционным методом спектрального анализа на спектрометре производства фирмы «Perkin-Elmer», модели 603. Массовую долю  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$ , сорбированных БАД в отдельном опыте ( $\omega_i$ , мас.%), рассчитывали по формуле:

$$w_{i_i} = \frac{m_i}{m_j} * 100\% ,$$

где  $m_i$  – масса сорбированного  $\text{Pb}^{2+}$  или  $\text{Cd}^{2+}$ , г;  $m_j$  - масса  $\text{Pb}^{2+}$  или  $\text{Cd}^{2+}$ , введенных в раствор, г. Относительная погрешность определения  $\omega_i$  составила 10%.

Рассчитывали также сорбционную емкость (СЕ) БАД по формуле:

$$CE = \frac{m_{Me}}{m_s} ,$$

где  $m_{Me}$  – масса сорбированного металла, мг;  $m_s$  - масса сорбента, г.

#### **2.4. Потенциометрическое определение свинца с применением ион селективных электродов (ИСЭ)**

В данном разделе представлена методика разработки жидкостного электрода, селективного к ацетатным комплексам свинца, и описано исследование свойств электрода (влияние посторонних веществ и кислотности среды, определение коэффициентов селективности).

#### **2.5. Методики спектрального анализа**

В разделе описаны методы атомно-эмиссионного и атомно-абсорбционного спектрального анализа, использующиеся для определения содержания тяжелых металлов в исходном растительном сырье, твердых остатках, а также в органах и тканях экспериментальных животных (белых крыс).

#### **2.6. Методика исследования физиологических показателей экспериментальных животных.**

Исследования проведены на белых нелинейных крысах самцах массой 180–250 г, содержащихся в обычных условиях вивария по 10 – 11 особей в клетке со свободным доступом к воде и пище. В качестве сорбента была выбрана БАД «Овес-Биофит», показавшая в опытах *in vitro* высокую сорбционную способность ( $81 \pm 1$  мас.%  $\text{Pb}^{2+}$ ). Эксперимент проводился на трех группах животных: группа I – контрольная (получала нормальный пищевой рацион); группа II – получала нитрат свинца и нормальный пищевой рацион; группа III – профилактическая (получала нитрат свинца и БАД «Овес»).

Исходя из параметров токсичности нитрата свинца, каждому животному из групп II и III ежедневно в 1 мл дистиллированной воды вводили внутрижелудочно 10 мг  $Pb(NO_3)_2$ , что составляет приблизительно 0.1 ЛД<sub>50</sub> (Вредные..., 1988). Профилактическая группа III предварительно получала около 5.14 мг БАД «Овес» в 1 мл дистиллированной воды, что соответствует ранее установленной эффективной профилактической дозе, а токсикант вводили через 20 минут после введения сорбента. Контрольная группа I получала 1 мл дистиллированной воды внутрижелудочно. Животных кормили через 2 часа после воздействия. Введение указанных веществ производили 5 дней в неделю в течение 17 дней.

На 2-ые, 8-ые, 14-ые и 17-ые сутки были проведены исследования гематологических показателей (Лабораторные..., 1987). Определяли содержание гемоглобина, количеств эритроцитов и лейкоцитов (унифицированные методики), цветовой показатель.

На 5-ые, 9-ые, 13-ые, 16-ые сутки были проведены исследования морфофизиологических (Методические..., 1980) и поведенческих (Лабораторные..., 1987) показателей. Из морфофизиологических характеристик определяли вес, температуру тела, частоту дыхания. Из поведенческих показателей исследовали двигательную активность (метод «открытое поле») и изменение работоспособности (метод «подвешивание»).

На 17-ые сутки была отобрана кровь у 6-ти животных в каждой из 3-х групп, выделены печень и почки для определения содержания свинца атомно-эмиссионным спектральным методом.

Полученные данные обрабатывались статистически с помощью t-критерия Стьюдента, регрессионного анализа, непараметрических критериев Манна-Уитни и Крускала-Уоллиса (Гланц, 1999).

### **Глава 3. Сорбция свинца и кадмия в условиях *in vitro***

#### **3.1. Определение свинца с использованием ион селективных электродов**

На модельных растворах было проведено определение свинца методами ограничивающих растворов, стандартных и двойных стандартных добавок. Затем было определено содержание свинца в фильтрах, оставшихся после отделения твердого остатка БАД «Биофит».

Было показано, что результаты по определению содержания  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  с использованием спектрального и аналитического методов частично согласуются между собой. Однако сложный состав БАД из растительного сырья делает аналитический метод очень трудоемким. Поэтому для дальнейшего исследования закономерностей сорбции  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  был выбран ГОСТированный метод спектрального анализа.

#### **3.2. Сорбция свинца и кадмия крупнодисперсными БАД**

Результаты определения сорбционной способности крупнодисперсных БАД представлены в табл. 1.

Сорбционная способность ( $\omega \pm \sigma$ ) крупнодисперсных БАД

Наименование БАД	Массовая доля катионов, мас. %	
	Pb <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>
«Яблоко»	13±1	57±5
«Свекла»	27±2	29±3
«Арония»	40±4	71±7
«Топинамбур»	52±5	66±5
«Морковь»	62±5	42±4
«Укроп»	63±6	73±7
«Малина»	75±8	76±7
«Овес»	81±8	87±7
«Черника»	85±8	70±7
«Тыква»	86±8	80±8
«Сельдерей»	92±8	88±8
«Петрушка»	94±8	86±8

Все исследованные БАД сорбировали Pb<sup>2+</sup> и Cd<sup>2+</sup> с различной эффективностью. Были построены ряды активности сорбентов (по убыванию).

Ряд активности БАД для Pb<sup>2+</sup>: «Петрушка» <sup>3</sup> «Сельдерей» <sup>3</sup> «Тыква» <sup>3</sup> «Черника» <sup>3</sup> «Овес» <sup>3</sup> «Малина» <sup>3</sup> «Укроп» <sup>3</sup> «Морковь» <sup>3</sup> «Топинамбур» > «Арония» > «Свекла» > «Яблоко»; для Cd<sup>2+</sup>: «Сельдерей» <sup>3</sup> «Овес» <sup>3</sup> «Петрушка» <sup>3</sup> «Тыква» <sup>3</sup> «Малина» <sup>3</sup> «Укроп» <sup>3</sup> «Арония» <sup>3</sup> «Черника» <sup>3</sup> «Топинамбур» <sup>3</sup> «Яблоко» > «Морковь» > «Свекла».

С использованием 75 перцентиля определены эффективные энтеросорбенты: Pb<sup>2+</sup>: «Петрушка» <sup>3</sup> «Сельдерей» <sup>3</sup> «Тыква» <sup>3</sup> «Черника» <sup>3</sup> «Овес» <sup>3</sup> «Малина»; Cd<sup>2+</sup>: «Сельдерей» <sup>3</sup> «Овес» <sup>3</sup> «Петрушка» <sup>3</sup> «Малина» <sup>3</sup> «Укроп» <sup>3</sup> «Черника».

Высокую сорбционную способность можно объяснить тем, что в состав БАД входят пищевые волокна, в том числе полисахариды. Обладая высокоразвитой поверхностью и оставаясь в ходе опыта практически переработанными, полисахариды способны сорбировать значительное количество Pb<sup>2+</sup> и Cd<sup>2+</sup>. У каждой БАД после проведения опыта получается своя масса остатка. Как правило, большей доле сорбированного металла соответствовала значительная масса сухого остатка, например, у «Овса», «Сельдерея» и «Петрушки» (табл.2).

Таблица 2

Масса остатка после обработки БАД кислотой (HCl) и основанием (NH<sub>4</sub>OH)

Наименование БАД	Овес	Сельдерей	Петрушка	Малина	Черника	Тыква	Топинамбур
Усредненная исходная масса, г	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80
Усредненная масса сухого остатка, г	1.56	1.12	1.11	0.89	0.85	0.64	0.38



Эффективность сорбента характеризуется также его сорбционной емкостью (СЕ). На рис. 1 представлены графики зависимости сорбционной емкости БАД от

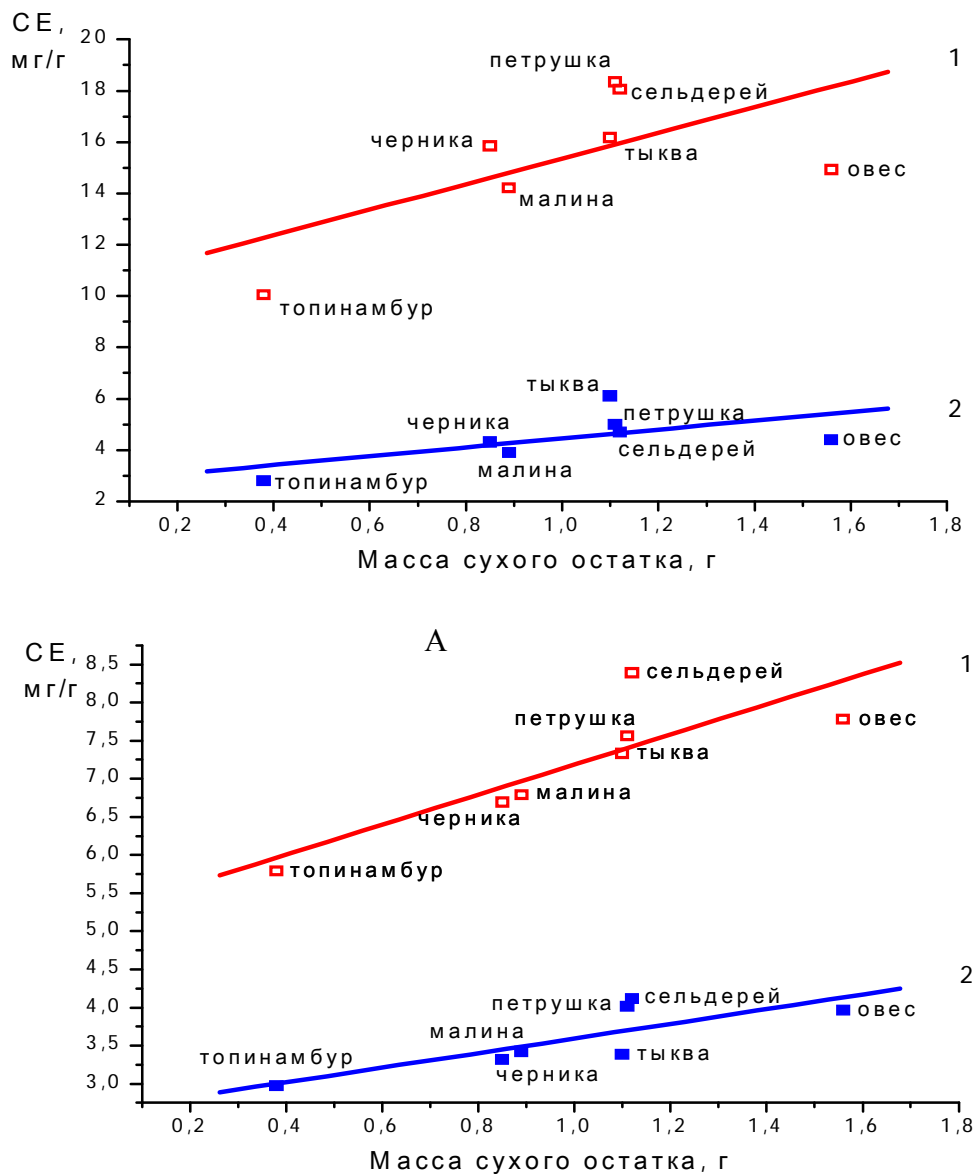


Рис.1. Изменение сорбционной емкости (СЕ) крупнодисперсных БАД для  $Pb^{2+}$  (А) и  $Cd^{2+}$  (В) в зависимости от массы сухого остатка: Масса введенной в раствор соли, мг: 1 – 30; 2 – 15. массы сухого остатка.

Уравнения регрессионной зависимости сорбционной емкости БАД от массы сухого остатка: для  $Pb^{2+}$  1.  $y = 10.37 + 5.0x$ ,  $R^2=0.41$ ,  $p = 0.12$

2.  $y = 2.72 + 1.73x$ ,  $R^2=0.37$ ,  $p = 0.14$

для  $Cd^{2+}$  1.  $y = 5.22 + 1.97x$ ,  $R^2=0.69$ ,  $p = 0.02$

2.  $y = 2.63 + 0.96x$ ,  $R^2=0.64$ ,  $p = 0.03$ ,

где  $x$  – масса сухого остатка (г),  $y$  – сорбционная емкость (мг/г)

Коэффициент детерминации ( $R^2$ ) служил основанием для прогноза величины сорбционной емкости по уравнениям регрессии. Только для  $\text{Cd}^{2+}$  линейная зависимость сорбционной емкости БАД от массы сухого остатка является значимой. Можно предположить, что увеличение массы сорбента приведет к увеличению количества связываемого кадмия.

### 3.3. Влияние степени дисперсности БАД на их сорбционную способность

В данном разделе представлены результаты изучения влияния степени дисперсности на сорбцию  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$ . Предварительно был определен размер частиц ряда БАД «Биофит» различной степени дисперсности. В качестве примера на рис. 2 представлены микрофотографии, на рис. 3 - гистограммы крупно- и мелкодисперсных образцов БАД «Клюква».

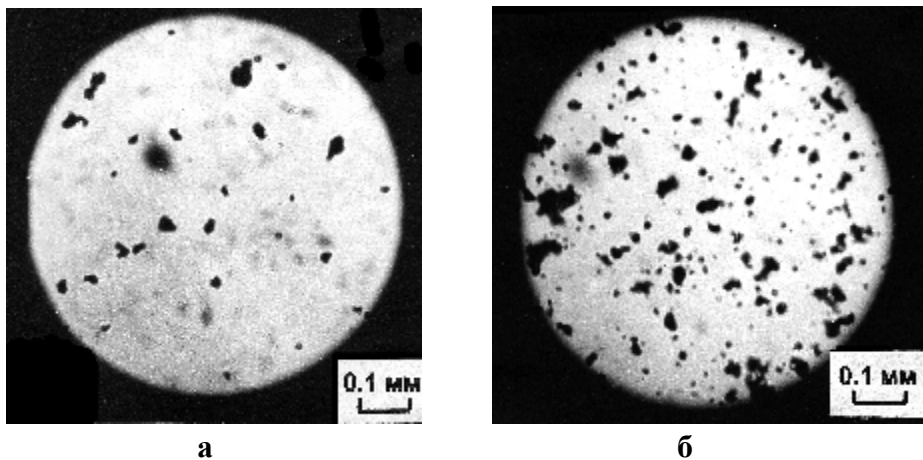


Рис. 2 Микрофотографии крупно- (а) и мелкодисперсных (б) образцов БАД «Клюква»

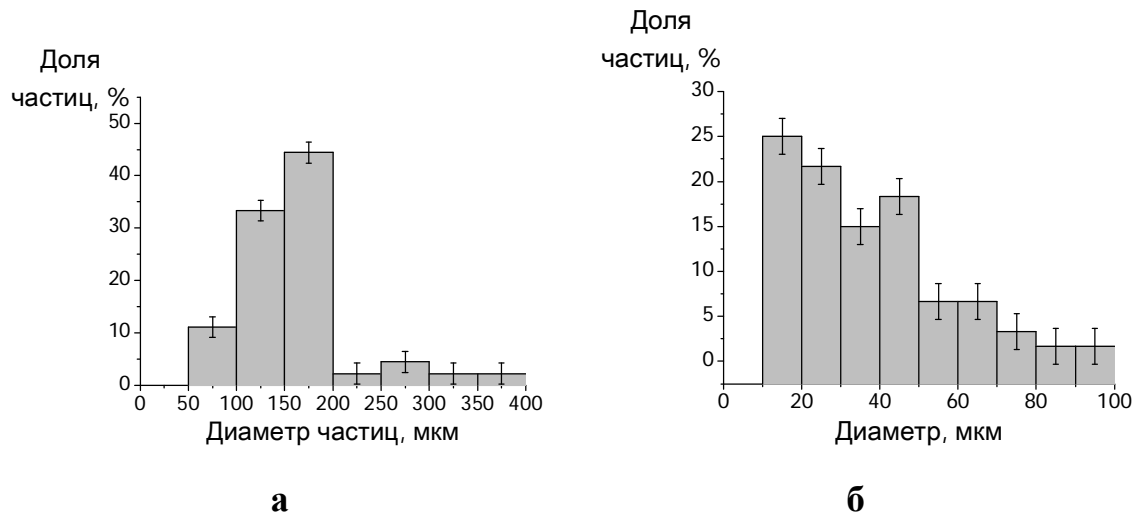


Рис. 3 Гистограммы распределения числа частиц по размерам в крупно-(а) и мелкодисперсных (б) образцах БАД «Клюква».

Крупнодисперсный образец «Клюква» содержит 70% частиц с диаметром 100 – 200 мкм, а мелкодисперсный 50% частиц диаметра 10 - 40 мкм.

Результаты исследования способности некоторых мелкодисперсных БАД сорбировать  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$  изолированно и совместно представлены в табл. 3, 5.

**Сравнение сорбционной способности БАД различной степени дисперсности для изолированной и совместной сорбции  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$**

Наименование БАД	Сорбционная способность БАД, мас. %					
	Изолированная сорбция				Совместная сорбция	
	крупнодисперсные		мелкодисперсные		мелкодисперсные	
	$Pb^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$	$Cd^{2+}$
«Арония»	40±4	71±7	84±7**	77±6	87±8	45±3*
«Топинамбур»	52±5	66±5	70±5	68±6	80±8	17±1*
«Свекла»	27±2	29±3	51±4**	22±2	43±4	32±2*
«Яблоко»	13±1	57±5	34±2**	58±5	58±4*	19±1*

\* Статистически значимые различия совместной сорбции по сравнению с изолированной ( $p \leq 0.05$ )

\*\* Статистически значимые различия мелкодисперсных БАД по сравнению с крупнодисперсными БАД ( $p \leq 0.05$ )

Сравнение полученных результатов сорбции для крупно- и мелкодисперсных БАД показывают, что увеличение их степени дисперсности существенно влияет на способность БАД сорбировать  $Pb^{2+}$ . Она значимо увеличивается в 1.5-2 раза. Способность сорбировать  $Cd^{2+}$  независимо от степени дисперсности остается неизменной. По-видимому,  $Cd^{2+}$  проникает в сорбент и занимает все доступные ему активные центры в твердых остатках независимо от их дисперсности, тогда как для  $Pb^{2+}$  в крупнодисперсных БАД не все активные центры доступны. При увеличении степени дисперсности доступность активных центров для  $Pb^{2+}$  возрастает. При совместной сорбции  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  выявлено антагонистическое влияние металлов. У «Аронии», «Яблока», «Топинамбура» значимо снижается сорбция  $Cd^{2+}$  по сравнению с изолированной сорбцией. Сорбционная способность для  $Pb^{2+}$  остается неизменной. Для «Яблока» при совместной сорбции значимо увеличивается сорбция  $Pb^{2+}$ . Такое неоднозначное взаимное влияние металлов объясняется, по-видимому, сложным многокомпонентным составом БАД.

### 3.4. Сорбция свинца и кадмия смесевыми БАД и их компонентами

Мелкодисперсные многокомпонентные смесевые БАД представляют собой смеси из фруктово-ягодных порошков, мяты, предназначенных для приготовления напитков. Была изучена способность сорбировать  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  изолированно и совместно двумя мелкодисперсными смесевыми БАД «Сонет» и «Калейдоскоп», БАД «Витасорб» стандартной дисперсности, а также их компонентами. Состав смесевых БАД представлен в табл. 4.

**Качественный и количественный состав смесевых БАД**

Наименование смесевой БАД	Компоненты смесевой БАД	Содержание, мас. %
«Сонет»	«Клюква»	40
	«Черная смородина»	40
	«Черника»	20
«Калейдоскоп»	«Черная смородина»	48.5
	«Брусника»	32.0
	«Малина»	12.5
	«Мята»	7.0
«Витасорб»	«Петрушка»	33.8
	«Сельдерей»	32.4
	«Овес»	33.8

В качестве примера в табл. 5 представлены усредненные данные по способности смесевых БАД «Сонет» и «Калейдоскоп», а также их составных частей сорбировать  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  изолированно и совместно.

Таблица 5

**Сравнение сорбционной способности  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  смесевыми БАД и их компонентами**

Металл, мас. % БАД	Сорбционная способность БАД, мас. %							
	Изолированная сорбция				Совместная сорбция			
	$Pb^{2+}$		$Cd^{2+}$		$Pb^{2+}$		$Cd^{2+}$	
	Компо- ненты	Смесевая БАД	Компо- ненты	Смесевая БАД	Компо- ненты	Смесевая БАД	Компо- ненты	Смесевая БАД
<b>«СОНОТ»</b>								
«Клюква»	33±3	63±5	52±5	33±2**	42±4	80±7	12±2*	19±2*
«Чер.смородина»	62±3		58±5		81±8		24±2*	
«Черника»	70±5		76±6		91±9		24±2*	
<b>«КАЛЕЙДОСКОП»</b>								
«Чер.смородина»	62±3	66±5	58±5	22±1**	81±8	76±6	24±2*	29±2
«Брусника»	37±3		22±2		54±5		14±1*	
«Малина»	62±5		66±5		72±7		20±2*	
«Мята»	88±4		78±6		90±8		46±3*	

\* Статистически значимые различия по сравнению с изолированной сорбцией ( $p \leq 0.05$ )

\*\* Статистически значимые различия компонентов смесей по сравнению со смесевыми БАД ( $p \leq 0.05$ )

Анализ состава смесевых БАД «Сонет» и «Калейдоскоп» (табл. 4) и сорбционной способности их компонентов (табл. 5) показывает, что сорбционная способность смесей по отношению  $Pb^{2+}$  равна среднему значению сорбционной способности компонентов смеси и определяется наиболее эффективным компонентом с наибольшим массовым содержанием в смеси. По отношению к  $Cd^{2+}$  компоненты смеси проявляют антагонистическое взаимодействие, сорбция смесей резко снижается по сравнению с изолированной сорбцией. При совместной

сорбции наблюдается тенденция к увеличению сорбционной способности как у компонентов, так и у смесей, для  $Pb^{2+}$ , а сорбционная способность для  $Cd^{2+}$  снижается значительно у всех компонентов и смеси «Сонет», а у «Калейдоскопа» остается неизменной. Следовательно, имеет место антагонистическое влияние металлов при изолированной и совместной сорбции.

Так как компоненты входят в состав смесей в различных количествах, нами были проведены дополнительные эксперименты по изучению влияния массы сорбента на его сорбционную способность на примере мелкодисперсной «Черной смородины» (табл. 6).

Таблица 6

## Влияние массы мелкодисперсной БАД на ее сорбционную способность

Соль	Масса вводимого металла, мг	Масса сорбента, г	Масса сухого остатка, г	Масса металла в сухом остатке, мг	$w_i$ , мас. %
$Pb(NO_3)_2$	15.1**	1.8014	0.84	5.80	61.4
	16.2*	1.8015	0.86	6.70	66.1
$CdSO_4$	15.9**	1.8056	0.69	4.75	55.4
	16.0*	1.8042	0.65	5.00	57.9
$Pb(NO_3)_2$	18.6**	0.7503	0.34	8.40	45.1
	18.9*	0.7508	0.34	11.2	59.3
	19.3**	0.3507	0.15	7.90	40.9
	18.6*	0.3502	0.15	8.20	44.0
$CdSO_4$	13.2**	0.7006	0.23	8.50	64.4
	13.5*	0.7007	0.23	7.40	54.8
	12.9**	0.3524	0.11	6.40	49.6
	12.8*	0.3524	0.11	6.20	48.4

**Примечание:** способ отделения твердого остатка: \* – фильтрование под вакуумом  
\*\* – центрифугирование

Сравнение данных, полученных в эксперименте с различными массами БАД, показывает, что уменьшение массы сорбента в 5 раз приводит к снижению сорбционной способности  $Pb^{2+}$  на 20%, а  $Cd^{2+}$  на 10%. При этом в процентном отношении масса сухого остатка от массы взятого сорбента не изменяется.

БАД «Витасорб», специально составленная из компонентов с высокой сорбционной способностью как для  $Pb^{2+}$ , так и  $Cd^{2+}$ , сохраняет их высокую сорбционную способность в смесях. Как и у других БАД, при совместной сорбции металлов сорбция  $Pb^{2+}$  увеличивается, а  $Cd^{2+}$  уменьшается. Полученные результаты были использованы для разработки и наладки промышленного выпуска БАД «Витасорб», у которой функция сорбента является основной.

### 3.5. Сорбция свинца и кадмия полисахаридами, входящими в состав БАД

Чтобы выяснить, какие компоненты БАД определяют наибольшую эффективность энтеросорбентов, нами была изучена сорбция  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$

древесной аморфной целлюлозой, картофельным крахмалом, яблочным пектином и инулином из корней цикория (табл.7). Мы попытались сопоставить сорбционную способность некоторых полисахаридов и БАД «Биофит», в которых они содержатся.

Таблица 7

## Сорбция свинца и кадмия полисахаридами, входящими в состав БАД

Наименование сорбента	Сорбция Pb <sup>2+</sup> , мас. %	Сорбция Cd <sup>2+</sup> , мас. %	Совместная сорбция, мас. %	
			Pb <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>
ЦЕЛЛЮЛОЗА	89±1	96±7 <sup>1</sup> 96±4 <sup>2</sup> 68±3 <sup>3</sup> 47±4 <sup>4</sup>	91±1	97±1
Укроп	63±6	73±5	-----	-----
Петрушка	94±8	86±8	-----	-----
Сельдерей	92±8	88±7	-----	-----
ПЕКТИН	84±4	76±8	86±9	55±5
Яблоко	34±1	58±5	58±6	19±1
Арония	84±8	77±5	87±7	45±3*
Тыква	86±8	80±8	-----	-----
КРАХМАЛ	30±3	49±6	54±5*	18±2*
Овес	81±7	87±8	-----	-----
Свекла	51±4	22±2	43±4	32±2*
Яблоко	34±1	58±5	58±6*	19±1*
ИНУЛИН	21±2	45±5	67±4*	15±1*
Топинамбур	70±5	68±6	80±8	17±1*

Примечание: <sup>1,2,3,4</sup> – значения, соответствующие массам вводимой соли: 15, 20, 30, 40 (мг)

\* Статистически значимые различия по сравнению с изолированной сорбцией ( $p \leq 0.05$ )

Ряд активности сорбционной способности полисахаридов одинаков для Pb<sup>2+</sup> и Cd<sup>2+</sup> и выглядит следующим образом: целлюлоза > пектин > крахмал > инулин. Сорбционная способность целлюлозы и пектина не различается при изолированной и совместной сорбции. У крахмала и инулина при совместной сорбции значимо увеличивается сорбционная способность для Pb<sup>2+</sup>, а для Cd<sup>2+</sup>, как и у большинства БАД, значимо уменьшается. Сорбционная эффективность БАД может быть объяснена содержанием в ней значительного количества определенного полисахарида. Например, сорбирующим началом «Аронии» и «Тыквы» по отношению к Pb<sup>2+</sup> и Cd<sup>2+</sup> является пектин, «Яблока» – крахмал. Несоответствие значений сорбционной способности «Топинамбура» и содержащего им инулина можно объяснить высоким содержанием в топинамбуре других пищевых волокон, например, пектина и клетчатки.

#### Глава 4. Влияние БАД «Овес» на физиологические показатели и содержание свинца в органах и тканях экспериментальных животных

Результаты исследований динамики гематологических показателей экспериментальных животных, подвергшихся воздействию «малых» доз свинца, представлены в табл. 8.

Таблица 8

##### Динамика гематологических показателей белых крыс

Варианты	Лейкоциты $10^9/\text{л}$			
	2-ые сутки	8-ые сутки	14-ые сутки	17-ые сутки
Группа I	10.60±1.27	14.20±0.85	10.60±1.11	8.80±1.11
Группа II	15.20±9.94*	11.80±1.19	8.30±0.87	8.40±0.60
Группа III	12.70±8.09	11.00±0.72	10.40±1.21	9.20±0.53
	Гемоглобин г/л			
Группа I	114.30±2.45	116.70±2.41	107.00±3.94	89.36±6.27
Группа II	109.60±3.47	101.30±1.72*	106.00±5.76	105.90±5.74
Группа III	110.50±3.44	110.80±3.69	100.00±1.13	85.18±4.94
	Эритроциты $10^{12}/\text{л}$			
Группа I	7.726±0.112	6.884±0.186	5.277±0.129	4.331±0.209
Группа II	7.408±0.097	6.457±0.100	5.358±0.313	5.555±0.312*
Группа III	7.312±0.138	6.321±0.120	5.187±0.304	5.137±0.297
	Цветовой показатель			
Группа I	0.74±0.01	0.85±0.01	1.01±0.01	1.03±0.01
Группа II	0.74±0.01	0.79±0.01	1.01±0.03	0.96±0.01
Группа III	0.76±0.01	0.88±0.01	0.98±0.02	0.83±0.01*

\* Статистически значимые различия по сравнению с контролем ( $p \leq 0.05$ )

Исследование количества лейкоцитов выявило у группы II значимое увеличение числа лейкоцитарных клеток на вторые сутки, значимое снижение гемоглобина на восьмые сутки и значимое повышение содержания эритроцитов на 17 сутки. У группы III таких отличий не наблюдается, следовательно, сорбент оказывает выраженное биопрофилактическое действие на гематологические показатели организма, подвергнувшегося воздействию свинца.

Результаты исследования динамики морфофизиологических и поведенческих исследований представлены в табл. 9.

**Физиологические и поведенческие показатели подопытных животных**

Варианты опытов	Вес животных, г			
	5-ые сутки	9-ые сутки	13-ые сутки	16-ые сутки
Группа I	205±10.28	202±7.56	216±8.87	225±9.83
Группа II	180±9.52	204±7.54	233±6.47	240±6.59
Группа III	176±4.98	195±7.5	212±8.32	219±8.33
	Частота дыхания (в 1 мин.)			
Группа I	136±3.98	136±1.08	142±7.8	140±2.5
Группа II	126±0.72	134±0.94	136±3.76	164±7.76*
Группа III	108±6.94	132±2.94	146±3.8	138±8.34
	Температура, °С			
Группа I	34.70±0.31	34.50±0.54	36.10±0.23	36.70±0.25
Группа II	35.50±0.36	34.90±0.47	36.70±0.31	36.00±0.26*
Группа III	36.10±0.49*	33.50±0.28	35.60±0.46	36.60±0.32
	Тест «открытое поле» (сумм.), ОЕ			
Группа I	53.00±8.49	40.00±7.83	26.00±4.71	34.00±7.51
Группа II	43.00±8.39	41.00±7.56	34.00±11.31	27.00±4.50
Группа III	43.50±6.99	36.00±7.51	47.00±10.18	20.00±3.39
	Тест «подвисание», сек.			
Группа I	22.30±3.36	10.00±1.63	10.00±1.92	9.00±1.57
Группа II	23.40±5.04	8.00±1.44	7.00±1.85	10.00±2.26
Группа III	15.00±6.64*	8.00±1.75	10.00±1.64	12.00±2.61

ОЕ – число пересечений сторон квадрата в единицу времени

\* статистически значимые различия по сравнению с контролем ( $p \leq 0.05$ )

В результате спектрального анализа установлены количества свинца в изучаемом биологическом субстрате (табл.10). Изучение литературных данных показывает, что содержание свинца в крови, печени и почках у контрольной группы находится в пределах фоновых концентраций (Скальный, 1997).

**Таблица 10**

**Содержание свинца во внутренних органах и тканях подопытных животных**

Варианты опытов	Содержание свинца в изученных органах и ткани		
	Кровь, мг/л	Печень, мг/кг	Почки, мг/кг
Группа I	0.30±0.036	0.500±0.036	0.37±0.03
Группа II	3.26±0.29* **	4.65±0.26* **	37.67±2.29* **
Группа III	1.53±0.09* **	2.20±0.15* **	17.83±1.14* **

\* статистически значимые различия по сравнению с контролем (критерий Манна – Уитни  $p \leq 0.05$ ),

\*\* между группами (критерий Крускала-Уоллиса,  $p \leq 0.05$ )

Полученные значения критериев Крускала-Уоллиса и Манна-Уитни показали, что имеет место значимое различие содержания свинца во всех трех группах животных по изученным органам и крови. Причем у животных, получавших БАД



«Овес», содержание свинца в крови, печени и почках в 2–2.5 раза меньше, чем у животных со стандартным рационом. Таким образом, применение данного энтеросорбента дает выраженный профилактический эффект.

Обращает на себя внимание тот факт, что содержание свинца в почках животных из групп II и III в 8–11 раз больше, чем в крови и печени (табл.10). Это может свидетельствовать о том, что свинец накапливается в почках.

Таким образом, БАД «Овес» можно рекомендовать в качестве перспективного энтеросорбента по отношению к соединениям свинца, а также предположить его высокое сорбирующее действие по отношению к кадмию.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повышенное внимание к негативному влиянию свинца на человека в настоящее время обусловлено тем, что из узкого раздела профессиональной патологии и медицины труда вопрос отравления свинцом перерос в глобальную экопатологическую проблему. Существует большое количество научных работ, посвященных изучению обнаружения, накопления и оценке нагрузки тяжелых металлов на организм человека (Ревич 1990, 2001, Скальный, 1997, Розанов, 1999, Venugopal, 1978, Graciano, 1993), а также разработке комплексов лечебно-профилактических мероприятий, направленных на снижение свинцовой и кадмиевой интоксикации и их последствий (Трахтенберг, 1996, Кацнельсон и др., 2004). Известны энтеросорбенты на основе целлюлозы, хитозана, минеральных веществ, которые эффективно производят детоксикацию при воздействии на организм тяжелых металлов. Но в настоящее время также необходимы сорбенты с «мягким» действием для регулярного и длительного профилактического применения. Было сделано предположение, что растительные БАД являются эффективными энтеросорбентами свинца и кадмия и играют существенную роль в биофилактике загрязнения среды обитания человека тяжелыми металлами. Нами была подобрана методика изучения сорбционной способности  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  криопорошками «Биофит» из растительного сырья разной степени дисперсности и пищевыми волокнами, входящими в их состав, в опытах *in vitro*. Полученные в ходе исследования результаты показывают, что найдена новая группа энтеросорбентов из растительного сырья, способная с разной эффективностью сорбировать катионы свинца и кадмия. Разработанная технология переработки исходного сырья позволяет практически полностью сохранить весь комплекс биологически активных веществ, необходимых для лечебно-профилактического питания детей и взрослых. БАД «Биофит» не только эффективно сорбируют свинец и кадмий, но и поставляют в организм витамины и микроэлементы, способные оказывать антагонистическое действие на тяжелые металлы и повышать неспецифическую резистентность организма.

Изучение влияния степени дисперсности БАД на их сорбционную способность позволило выявить зависимость эффективности сорбции  $Pb^{2+}$  от размеров частиц. Показано, что уменьшение размеров частиц БАД приводит к

повышению сорбционной способности. Это дало возможность создать не только таблетированные БАД, но и растворимые напитки и соки на основе криопорошков сверхтонкого измельчения. Интересные результаты получены при изучении совместной сорбции  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$ . Было показано антагонистическое влияние металлов, при котором сорбция  $Pb^{2+}$  оставалась неизменной, а сорбция  $Cd^{2+}$  значительно снижалась.

В результате экспериментов *in vitro* была выбрана БАД «Овес» с высокой сорбционной способностью, введение которой в рацион питания белых крыс привело к значительному (в 1.5 – 2 раза) снижению концентрации свинца в крови и внутренних органах по сравнению с животными, получавшими зерновой овес.

Целесообразно использование методики для определения сорбционной способности растительных сорбентов и составления смесевых продуктов, способных с высокой эффективностью сорбировать и выводить из организма свинец и кадмий.

## ВЫВОДЫ

1. С помощью разработанной методики количественной оценки сорбционной способности БАД построены ряды активности сорбентов (по убыванию) и установлены эффективные энтеросорбенты: для  $Pb^{2+}$ : «Петрушка»  $\geq$  «Сельдерей»  $\geq$  «Тыква»  $\geq$  «Черника»  $\geq$  «Овес»  $\geq$  «Малина»; для  $Cd^{2+}$ : «Сельдерей»  $\geq$  «Овес»  $\geq$  «Петрушка»  $\geq$  «Малина»  $\geq$  «Укроп»  $\geq$  «Черника». Установлена линейная зависимость сорбционной емкости БАД для  $Cd^{2+}$  от массы сухого остатка.
2. Установлено, что диаметр частиц крупнодисперсных БАД составил 100–500 мкм, мелкодисперсных – 5-40 мкм. Сорбционная способность для  $Pb^{2+}$  значительно увеличивается в 1.5-2 раза, а для  $Cd^{2+}$  остается неизменной. При совместной сорбции сорбционная способность для  $Pb^{2+}$  не меняется, а для  $Cd^{2+}$  значительно снижается.
3. Установлено, что сорбционная способность по отношению к  $Pb^{2+}$  смесями «Сонет» и «Калейдоскоп» определяется сорбционной способностью и массовой долей наиболее эффективного компонента. По отношению к  $Cd^{2+}$  сорбционная способность смесей значительно ниже сорбционной способности компонентов смеси, проявляющих антагонистическое взаимное влияние. При совместной сорбции у смесей и их компонентов незначимо увеличивается сорбционная способность для  $Pb^{2+}$  и значительно снижается для  $Cd^{2+}$ .
4. Установлена сорбционная способность пищевых волокон по отношению к  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$ . Ряд активности одинаков для обоих катионов: целлюлоза > пектин > крахмал > инулин. Сорбционная способность «Свеклы» и «Яблока» определяется высоким содержанием крахмала в их составе, «Аронии» – пектином, а «Тыквы» – пектином и целлюлозой.

5. В диапазоне доз нитрата свинца выявлено влияние токсиканта на морфофизиологические (динамика частоты дыхания, ректальной температуры) и гематологические (динамика количества эритроцитов, лейкоцитов, содержания гемоглобина) показатели экспериментальных животных, а в комбинации свинца с БАД «Овес» показана биопротекторная роль энтеросорбента.
6. Введение сорбента (БАД «Овес») в рацион питания перед поступлением свинца приводит к значительному снижению (в 1.5-2 раза) концентрации токсиканта в крови и внутренних органах экспериментальных животных.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Степанова, Е.А. Изучение способности ряда продуктов из растительного сырья сорбировать и выводить из организма человека кадмий / Е.А. Степанова, В.Ф. Урьяш // II Конференция молодых Ученых-химиков: Матер. конф. - Н. Новгород, 1999. - С. 91.
2. Урьяш, В.Ф. Изучение термохимическим методом процесса переваривания продуктов «Биофит» / В.Ф. Урьяш, А.Е. Груздева, Н.В. Новоселова, Н.Б. Плетнева, Е.В. Потёмкина, Е.А. Степанова // Пища. Экология. Человек: Матер. Межд. конф. – М., 1999. - Т.1. - С. 64.
3. Степанова, Е.А. Различные методы исследования способности пищевых добавок «Биофит» сорбировать тяжелые металлы / Степанова Е.А., Гришатова Н.В., Урьяш В.Ф., Кулешова Н.В., Безруков М.Е. // Современные проблемы естествознания: Матер. Межд. конф. – Владимир, 2001. - С. 197-200.
4. Степанова, Е.А. Изучение токсичности водных растворов после удаления из них свинца и кадмия некоторыми продуктами «Биофит» / Е.А. Степанова, В.В. Клепцова, О.П. Мякова, В.Ф. Урьяш // Молодая наука - XXI веку: Матер. Межд. конф. – Иваново, 2001. - Ч.V. - С. 90-91.
5. Степанова, Е.А. Аналитические методы определения свинца и кадмия в водных растворах после сорбции их энтеросорбентами из растительного сырья / Е.А. Степанова, Н.А. Скачкова, Н.В. Коренова, Н.В. Кулешова, В.Ф. Урьяш // IV Конференция молодых Ученых-химиков: матер. конф. - Н. Новгород, 2001. - С. 41-42.
6. Степанова, Е.А. Изучение совместной сорбции свинца и кадмия некоторыми пищевыми добавками / Е.А. Степанова, Н.В. Гришатова, А.Е. Груздева, В.Т. Демарин, В.Ф. Урьяш // Проблемы регионального экологического мониторинга: Матер. конф. - Н.Новгород, 2002. - С. 140-141.
7. Степанова, Е.А. Влияние степени дисперсности криопорошков «Биофит» на их способность сорбировать тяжелые металлы / Е.А. Степанова, В.Ф. Урьяш, Н.В. Гришатова, А.Е. Груздева, В.Т. Демарин // Контроль и реабилитация окружающей среды: Матер. Межд. симп. – Томск, 2002. - С.155.
8. Урьяш, В.Ф. Криопорошки «Биофит» - эффективные энтеросорбенты тяжелых металлов / В.Ф. Урьяш, Е.А. Степанова, А.Е. Груздева, Н.В. Гришатова, В.Т. Демарин, А.Н. Туманова // Тенденции. Теории и практика («ТРАНСТЕХ – 2002»): Матер. Межд. конф. по трансферу технологий в свободных экономических зонах. – Гомель, 2002. - Ч.1. - С.229-233.

9. Урьяш, В.Ф. Изучение процесса сорбции свинца и кадмия некоторыми полисахаридами / В.Ф. Урьяш, Н.В. Гришатова, А.Е. Груздева, Е.А. Степанова // VIII Нижегородская сессия молодых ученых: Матер. докл. - Н.Новгород, 2003. - С. 247-248.
10. Урьяш, В.Ф. Физико-химические свойства инулина – полисахарида, содержащегося в топинамбуре / В.Ф. Урьяш, А.Е. Груздева, Н.В. Гришатова, Н.Ю. Кокурина, Л.А. Фаминская, В.Н. Ларина, Е.А. Степанова // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: Сб. научн. тр. - М., 2003. - Вып.9. - С. 182-188.
11. Урьяш, В.Ф. Изучение совместной сорбции свинца и кадмия мелкодисперсными криопорошками «Биофит» / В.Ф. Урьяш, Е.А. Степанова, Н.В. Гришатова, А.Е. Груздева, В.Т. Демарин, А.Н. Туманова // Аналитика и аналитики: Матер. Межд. Фор. – Воронеж, 2003. - Т.1. - С. 129.
12. Степанова, Е.А., Изучение способности криопорошка «Овес-Биофит» сорбировать свинец в условиях *in vivo* / Е.А. Степанова, А.А. Силкин, В.В. Логинов, В.Ф. Урьяш, Н.В. Гришатова, А.Е. Груздева, А.Н. Туманова // Питание и здоровье – проблемы и пути решения: Матер. конф. - Н. Новгород, 2004. - С. 20-22.
13. Урьяш, В.Ф. Особенности влияния нитрата свинца на организм крыс при совместном поступлении с энтеросорбентом / В.Ф. Урьяш, Н.В. Гришатова, А.Е. Груздева, А.А. Силкин, В.В. Логинов, Е.А. Степанова // IX Нижегородская сессия молодых ученых: Матер. докл. - Н.Новгород, 2004. - С. 105-106.
14. Урьяш, В.Ф. Продукты «Биофит» – эффективные энтеросорбенты свинца и кадмия / В.Ф. Урьяш, А.Е. Груздева, Н.В. Гришатова, Е.А. Степанова, В.Т. Демарин, А.Н. Туманова // Питание и здоровье – проблемы и пути решения: Матер. конф. - Н. Новгород, 2004. - С.17-20.
15. Урьяш, В.Ф. Исследование процесса сорбции тяжелых металлов пищевыми добавками «Биофит» / В.Ф. Урьяш, Е.А. Степанова, Н.В. Гришатова, А.Е. Груздева, Н.В. Кулешова, М.Е. Безруков // Вестник Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского. – Н. Новгород, 2004.- Серия биология, №3(5). - С. 85-91.
16. Степанова, Е.А. Изучение сорбционных свойств биологически активных добавок к пище для профилактики негативного воздействия свинца на организм человека / Степанова Е.А. // Популяция в пространстве и времени. Матер. докл. VIII Всеросс. популяционного семинара. – Н. Новгород, 2005. – С. 397-399.
17. Степанова, Е.А. Исследование сорбции и выведения свинца биологически активными добавками к пище в опытах *in vitro* и *in vivo* / Е.А. Степанова, В.Ф. Урьяш, А.А. Силкин, В.В. Логинов, А.Е. Груздева, Н.В. Гришатова, А.Н. Туманова // Поволжский экологический журнал. - 2005. - №1. - С.71-75.
18. Урьяш, В.Ф. Сорбция свинца и кадмия продуктом «Биофит» из скорлупы куриных яиц, и способности этого продукта поставлять кальций в организм человека / В.Ф. Урьяш, А.Е. Груздева, Н.В. Гришатова, В.Т. Демарин, А.Н. Туманова, В.Ф. Занозина, Е.А. Степанова // Поволжский экологический журнал. - 2005. - № 2. - С.167-172.