

УДК 543.9:257.1:518.5

## ОСОБЕННОСТИ ЭКОАНАЛИТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ПРОМЫШЛЕННОЙ БИОПРОДУКЦИИ И ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА БИОПРОИЗВОДСТВА

Востоков В.М., Смирнова В.М., Пачурин Г.В.

ФГБОУ ВПО «Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева»,  
Нижний Новгород, e-mail: vmvostokov@mail.ru

Проблемы управления качеством промышленной биопродукции по результатам выборочного контроля на всех критических этапах биопроизводства, включая выходной контроль качества биопродукции, где потребуются учитывать специфические особенности количественной оценки биологических объектов, являются весьма актуальными. Путем обобщения результатов ранее выполненных работ сформулированы научные принципы и критерии количественной оценки биологических объектов. В работе изучены особенности экоаналитического контроля биотехнологий рационального кормления с/х животных и птицы. На основе установленных научных принципов и критериев количественной оценки биологических объектов разработан оригинальный способ статистического управления биотехнологическим процессом с целью обеспечения доброкачественной и безопасной биопродукции. Дан приоритет статистическим методам исследований и численных оценок в сфере менеджмента качества промышленной биопродукции. Предложен оригинальный способ оценки экологического риска развития микотоксикозов в рационах кормления птицы по статистическим критериям  $C_p$  и  $C_{pK}$ , характеризующий потенциальные и реальные возможности производства безопасных и сбалансированных рационов.

**Ключевые слова:** система менеджмента качества биопродукции, токсическая безопасность, микотоксины, статистическая оценка экологического риска

## FEATURES ECO-ANALITICAL QUALITY CONTROL OF INDUSTRIAL BIOPRODUCTS AND ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT BIOMANUFACTURING

Vostokov V.M., Smirnova V.M., Pachurin G.V.

FGBOU VPO «Nizhny Novgorod State Technical University», R.E. Alekseev,  
Nizhny Novgorod, e-mail: vmvostokov@mail.ru

Problems of quality control of industrial bio-production as a result of sampling at all critical stages of biomanufacturing, including output quality control of bio-production, where the need to take into account the specific features of the quantitative assessment of biological objects are very relevant. By summarizing the results of earlier works formulated the scientific principles and criteria for quantitative evaluation of biological objects. In this paper we studied the characteristics of eco-analytical control biotechnology rational feeding with/farm animals and poultry. Based on established scientific principles and criteria for quantitative evaluation of biological objects has developed an original method of statistical control of biotechnological processes, in order to ensure sound and safe bioproduction. Given priority statistical research methods and the numerical estimates in the quality management of industrial bioproducts. An original method for assessing the ecological risk of mycotoxicosis in poultry feeding rations on statistical criteria and CP CpK, characterizing the potential and actual ability to produce safe and balanced diet.

**Keywords:** quality management system of bioproduction, toxic safety, mycotoxins, statistical assessment of an environmental risk

Проблемы достоверной оценки качества биопродукции и экологического риска биопроизводства по результатам выборочного экоаналитического контроля являются весьма актуальными, так как качество выпускаемой продукции в условиях рыночных экономических отношений становится важнейшей экономической категорией.

Не менее актуальны проблемы управления качеством промышленной биопродукции по результатам выборочного контроля на всех критических этапах биопроизводства, включая выходной контроль качества биопродукции, где потребуются учитывать специфические особенности количественной оценки биологических объектов [4, 6, 7, 9].

Если для оценки качества и безопасности химической продукции достаточно определить

массовую долю контролируемого ингредиента, то для оценки качества и экологического риска целевой биопродукции, наряду с величиной массовой доли биологически активного вещества (БАВ) –  $m_{\text{БАВ}}$ , еще потребуются определить величину биологической (физиологической) активности БАВ –  $A_{\text{БАВ}}$ , которая косвенно зависит от ряда термодинамических и иных факторов внешнего воздействия на ожидаемый биологический эффект [6–8, 11].

Несмотря на то, что величину  $A_{\text{БАВ}}$  принято оценивать в международных единицах биологической активности (МЕ), тем не менее априорная оценка ожидаемого биоэффекта всегда имеет частный характер, так как в каждом конкретном случае реализации биопродукции на величину  $A_{\text{БАВ}}$  могут оказать влияние следующие факторы:

1. Биохимический синергизм БАВ [11], т.е. воздействие одного БАВ на биоактивность другого. Характерным примером подобного синергентного воздействия аскорбиновой кислоты на *B*-витаминную активность фолиевой кислоты (витамина  $B_9$ ) является специфическое влияние витамина *C* на биологическую активность других водорастворимых витаминов, находящихся в данной биосистеме. Так, в присутствии витамина *C* фолиевая кислота проявляет максимальную  $B_9$ -витаминную активность. Но в его отсутствие биоактивность витамина  $B_9$  близка к нулю. Поэтому общепринятая оценка биологической активности витамина  $B_9$  по величине  $m_{\text{БАВ}}$  без учета синергентного воздействия витамина *C* является ошибочной и – не имеет смысла.

2. Также ошибочной может быть оценка величины биологической активности БАВ, если не учитывать возможные метаболические превращения некоторых БАВ в сложных по составу равновесных биосистемах. Многие из них, вследствие природного метаболизма, способны трансформироваться в иную биологически активную форму, чем изначальная. Однако непредсказуемое изменение величины биоактивности БАВ, склонных к метаболизму с образованием новых биологически активных форм, ведет к искажению результатов оценки величины биологической активности –  $A_{\text{БАВ}}$  по массовой доле БАВ –  $m_{\text{БАВ}}$ , как это продиктовано нормами сертификации промышленной биопродукции на ее соответствие ГОСТ Р, ФС, СанПиН или другим нормативным документам (НД).

В качестве типичного примера недоуверенной оценки величины биологической активности тех или иных БАВ, склонных к метаболизму, рассмотрим условия и возможности определения *A*-витаминной активности кормового концентрата витамина *A* по  $m_{\text{БАВ}}$ , но без учета аддитивного вклада каждого метаболита в суммарное значение величины  $A_{\text{БАВ}}$ . В данном случае природными метаболитами витамина *A* являются ретинол, ретинол пальмитат, ретиноевая кислота, ретиналь и целое семейство каротиноидов. Среди них наибольшей *A*-витаминной активностью обладает ретинол.

Для достоверной численной оценки антиоксидантной активности витамина *A* кормового, в состав которого могут входить любые метаболиты, сначала потребуются определить массовую долю каждого из них с целью оценки аддитивного вклада метаболитов в общую биоактивность БАВ. Чаще антиоксидантную биоактивность концентрата витамина *A* вычисляют по массовой доле наиболее активной формы – ре-

тинола, где за международную единицу *A*-витаминной активности (1 МЕ) принимается активность некой порции ретинола массой 0,3 мг.

3. Витамин *A*, как и многие другие БАВ, обладает полифункциональными биохимическими свойствами, что позволяет ему одновременно участвовать в различных биохимических процессах. Но так как в международных единицах *A*-витаминной активности оценивается лишь антиоксидантная активность ретинола, где он ингибирует процессы окислительного разрушения клеточных мембран, то сразу возникает вопрос: по какой шкале биологической активности следует оценивать активность ретинола, когда он востребован для биосинтеза зрительного пигмента – родопсина, необходимого для зрения? Вопрос остается риторическим, так как при оценке суммарной биоактивности по результатам выборочного контроля массовой доли уже нельзя пренебрегать важнейшей функцией витамина *A* – улучшать зрение. Следовательно, практикуемая ныне оценка качества биопродукции по нормам обязательной сертификации (ГСС) [10] не является корректной, так как в нормах ГСС не нашли отражения специфические особенности количественной оценки биологических объектов.

4. Согласно международным нормам добровольной сертификации серии ISO 9000, для достоверной оценки качества биопродукции в условиях рыночных экономических отношений всякий раз следует учитывать требования заказчика в отношении качества биопродукции и ожидаемого биологического эффекта на месте ее потребления. В данном случае потребуются адресный контроль качества выпускаемой биопродукции, где нормы качества и безопасности определяются заказчиком, тогда как в нормах ГСС не отражены специфические особенности реализации биопродукции на месте ее потребления не выполняются требования заказчика по качеству биопродукции, что весьма важно в современных условиях рыночных экономических отношений.

Рассмотрим пример адресного контроля качества обогащенных витамином *D* кормовых концентратов и премиксов, используемых в технологиях рационального кормления с/х животных и птицы, где нужно учитывать то обстоятельство, что сычужные животные способны усваивать лишь эргокальциферол – витамин  $D_2$ . Другие формы витамина *D* для них оказываются бесполезными. Хотя рационы кормления птицы обогащаются холекальциферолом ( $D_3$ ), наиболее активной формой витамина *D*.

Следовательно, для адресной оценки качества кормового концентрата витамина *D* мало определить массовую долю витамина. Важнее оценить *D*-витаминную активность концентрата, определяя ее не по устаревшим нормам ГСС, а с учетом требований заказчика, тесная связь с которым прописана в международных нормах добровольной сертификации производств серии *ISO 9000*. Как оказалось, использование для достоверной оценки качества кормового сырья, включая витаминные концентраты, устаревших стандартных методик выполнения измерений (МВИ), созданных по нормам ГСС, в условиях рыночных отношений не имеет смысла. Здесь уже потребуются оригинальные МВИ, адекватные биопроцессу, так как в них отражены специфические особенности количественной оценки биологических объектов.

В последние годы в анализе жирорастворимых витаминов *A*, *D*, *E* и *K* нашли применение высокочувствительные и селективные методы распределительной хроматографии: ТСХ и ВЭЖХ [4], которые по своим аналитическим характеристикам значительно превосходят созданные по нормам ГСС стандартные методы фотометрического определения массовой доли БАВ в биологических объектах.

Доступные методы тонкослойной хроматографии (ТСХ) по трудоемкости и длительности МВИ существенно уступают менее доступным, но зато экспрессным методам высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Наиболее существенным преимуществом метода ВЭЖХ является уникальная возможность хроматографического, раздельного определения витаминов (или иных БАВ) из одной навески, по одной хроматограмме. Однако чувствительному методу ВЭЖХ не всегда хватает селективности. В частности, витамины  $D_2$  и  $D_3$ , близкие по своим физико-химическим свойствам, идентифицируются на хроматограмме одним пиком, что не позволяет оценить суммарную величину биологической *D*-витаминной активности по массовой доле БАВ.

Таким образом, весьма сложные, но актуальные проблемы достоверной оценки величины биологической активности требуют своего незамедлительного решения, где в соответствии с международными нормами добровольной сертификации производств и менеджмента качества выпускаемой продукции, получивших признание в странах с развитой рыночной экономикой, каждое предприятие биотехнологического профиля потребует оснастить комплексной системой экоаналитического контроля и управления биопроцессом по результатам

выборочного контроля – эффективно действующей системой менеджмента качества биопродукции (СМК) [5, 10].

В ранее выполненных работах [2, 5, 7, 8, 10] были приведены убедительные доказательства того, что в отсутствие эффективно действующей СМК биопроизводство становится неконтролируемым и плохо управляемым в отношении качества выпускаемой продукции достоверной оценки экологического риска биопроизводства. Все это подтверждается практикой неравномерного развития биотехнологий в последней четверти XX века.

В те времена в период становления микробиологической промышленности страны приоритет имели лишь плановые показатели, а вопросам управления качеством не уделяли должного внимания, слепо полагаясь на самоуправление биопроцессом по программе, заложенной в геном.

В те годы заводские лаборатории (ЗЛ) микробиологических производств оснащались стандартными МВИ, порой не адекватными биопроцессу, так как они напрямую были перенесены из ЗЛ химических производств, без учета специфических особенностей количественной оценки биологических объектов. Хотя без надежной системы экоконтроля и априорной оценки экологического риска биопроизводства в рамках методологии *Prevention Pollution* возникли экологические проблемы. Так, вскоре после пуска крупнотоннажных предприятий микробиологического синтеза кормового белка в различных регионах страны возникла угроза надвигающейся экологической катастрофы, что привело к остановке указанных заводов белково-витаминных концентратов (БВК), а затем, вследствие возникшего дефицита кормового белка, пришлось закрыть многие предприятия животноводства и птицеводства агропромышленного комплекса (АПК).

В итоге страна, выпускавшая более 5% от мирового объема промышленной биопродукции, стала производить 0,25% от мирового объема [1]. В то время как в США, в Канаде и в странах Евросоюза микробиологическая промышленность продолжает бурно развиваться, что объясняется тем, что в указанных странах каждое производство оснащается эффективно действующей СМК, отвечающей международным стандартам добровольной сертификации и менеджмента качества, серии *ISO 9000*.

Сегодня доказана [2, 5, 10] актуальная необходимость скорейшей перестройки ранее действующей в стране системы обязательной сертификации – ГСС, давно не отвечающей требованиям рыночной экономики и международным нормам доброволь-

ной сертификации *ISO 9000*. Так как ГСС становится сдерживающим фактором развития биотехнологий в условиях рыночных экономических отношений. Действительно, сертификация продукции на соответствие нормам ГСС вовсе не способствует росту качества выпускаемой биопродукции. В связи с этим потребовалось начать перестройку ГСС на международные нормы добровольной сертификации, но не продукции, а самого производства.

В настоящее время уже сделано немало шагов в указанном направлении, что позволило создать в 2010 году промежуточную модель национальной системы добровольно-обязательной сертификации – «Системы сертификации ГОСТ Р – ИСО 14000», которая отвечает нормам и требованиям «Таможенного союза», организованного в 2011 г. В 2003 г. было отменено законодательное действие ГОСТ, что позволяет смело и беспрепятственно внедрять в биопроизводство новейшие достижения молекулярной биологии и геной инженерии. В новую национальную систему сертификации включены важнейшие элементы круга качества международной системы *ISO 9000*, имеющей не законодательный, а рекомендательный характер [10]. Все это существенно облегчает процедуру внесения в НД ряда необходимых поправок, касательно внедрения новейших достижений науки и техники.

В стандартах *ISO 9000* важнейшим элементом круга качества [10] является элемент 4.20 – «Статистика». Именно статистика позволяет получать обобщенные

и достоверные данные по техносферной безопасности биопроизводства, где интерес представляют методы и средства статистических исследований и оценок, проводимых как для достоверной оценки качества выпускаемой биопродукции, так и для априорной оценки экологического риска биопроизводства в рамках современной методологии *PreventionPollution* [8, 9].

В данной работе показана реальная возможность статистического управления качеством контаминированного фуражного зерна и зернопродукции, используемой для кормления с/х животных и птицы. В ней, по результатам выборочного экоаналитического контроля на содержание микотоксинов на всех критических этапах экологической цепи «природа – технология выращивания зерна – транспортировка и хранение его – технология производства комбикормов, премиксов и шротов – технология рационального кормления с/х животных и птицы – человек», осуществляется выборочный контроль уровня контаминации зернами котоксинами с учетом профилактических мер по уменьшению уровня микотоксикозов до пределов, указанных в нормах СанПиН или иного НД.

К опасным биотоксикантам [3,13] относятся простейшие микроорганизмы – микотоксины, содержание которых в кормовой и пищевой продукции не должно превышать нанограммовых количеств, что требует применения высоко чувствительных физико-химических методов анализа и уникальных гибридных методик выполнения измерений (МВИ) (табл. 1).

**Таблица 1**

Гибридные методы анализа микотоксинов в пищевой и кормовой зернопродукции

№ п/п	Загрязнители продукции	ПДК, мг/кг	Метод анализа и предел обнаружения, мг/кг	НД Минздрава
1	Афлотоксины В и G	0,01–0,005	ТСХ-Флуориметрия (0,001) ВЭЖХ-Флуориметрия (0,0001)	МУ МЗ 2273-80 МУ МЗ 4082-86
2	Афлотоксин M <sub>1</sub>	0,005	ТСХ-Флуориметрия (0,0005) ВЭЖХ-Флуориметрия (0,00005)	МУ МЗ 2273-80 МУ МЗ 4082-86
3	Дезоксиниваленол, (ДОН, Вомитоксин)	0,5–1,0	ТСХ – Флуориметрия (0,2) ВЭЖХ – УФ-фотометрия (0,05)	МУ МЗ 3940-85 МУ МЗ 5177-90
4	Зеараленон	1,0	ТСХ-Флуориметрия (0,04) ВЭЖХ-Флуориметрия (0,005)	МУ МЗ 2964-84 МУ МЗ 5177-90
5	Т-2 Токсин	0,1	ГЖХ-ДЭЗ (0,05) ГЖХ-ДЭЗ (групповой) (0,001)	МУ МЗ 3184-84 ИНПИТ-90
6	Пагулин	0,05	ТСХ-Флуориметрия (0,02) ТСХ-Флуориметрия (0,01)	МУ МЗ 2655-82 ГОСТ 28038-89
7	Охратоксин А	0,025	ТСХ-Флуориметрия (0,01) ВЭЖХ-Флуориметрия (0,001) ТСХ-Флуориметрия (0,02) ВЭЖХ-УФ-фотометрия (0,003)	МУ МЗ 3245-85 ИНПИТ-92 ИНПИТ-92

Хотя некоторые из указанных в табл. 1 методов и средств контроля недоступны для малых предприятий биотехнологиче-

ского профиля, в заводских лабораториях (ЗЛ) нашли применение чувствительные, селективные и вполне доступные методы

тонкослойной хроматографии, из которых гибридные методы: «ТСХ + Фотометрия» и «ТСХ + Флуориметрия» становятся особенно популярными. Но сначала их нужно адаптировать к условиям биопроизводства. Затем указанные методики выполнения измерений (МВИ) должны пройти метрологическую аттестацию, для которой потребуется выбрать приемлемый метод статистических исследований и оценок на основе общепринятой классической статистики Гаусса, но с поправками Стьюдента для малой выборки [2, 10].

Дело в том, что статистика Гаусса, получившая распространение в мировой практике статистических исследований, не всегда является корректным методом численной оценки качества продукции и ее экологического риска. В идеале применение закона нормального статистического распределения справедливо лишь для бесконечно большого объема выборочной дисперсии ( $n = \infty$ ) и лишь для случайных отклонений от нормы качества. Но реальный объем выборки всегда ограничен ( $n < \infty$ ), поэтому в работах [2, 5, 10] были изучены возможности использования численных методов классической статистики Гаусса для ограниченного объема выборки и впервые указано на то, что статистические методы могут быть успешно реализованы в управлении биотехнологическим процессом по результатам выборочного контроля [5, 10]. Их удобно использовать для оценки экологического риска биопроизводства по статистическим критериям воспроизводимости и надежности исследуемого биотехнологического процесса –  $C_p$  и  $C_{pk}$ , характеризующих потенциальные и реальные возможности контролируемого биопроцесса [5, 10]. В данной работе статистику применяют для численной оценки риска возникновения микотоксикоза фуражного зерна.

Актуальная необходимость проведения мониторинговых испытаний качества фуражного зерна, шротов, премиксов и иной зерновой биопродукции продиктована тем, что в настоящее время сезонная контаминация зерна распространилась по всем регионам страны. В ходе транспортировки, хранения и переработки имеет место порой непредсказуемая контаминация зерна, где рост микотоксинов в различных условиях среды обитания приводит к дальнейшей контаминации муки и кормового сырья.

По экспертным данным 2000 г. контаминировано более четверти производимого в мире зерна. Сегодня средний уровень контаминирования зерна и зернопродукции становится угрожающе высоким, поэтому достоверная оценка данного экологического

риска на предприятиях биотехнологического профиля, например в современных технологиях рационального кормления животных и птицы, является актуальной проблемой, востребующей незамедлительного решения.

Наиболее опасными токсикантами для птицы являются афлотоксины и Т2-токсин, борьба с которыми уже потребует системного подхода с учетом специфических особенностей их роста на тех или иных этапах рассматриваемой экологической цепи.

Поражает резистентность указанных микотоксинов в жестких условиях хранения и переработки зерна, неприемлемых для выживания и роста других простейших микроорганизмов. Указанные микрогрибковые соединения способны выдерживать воздействие как низких, так и достаточно высоких температур.

Общепринятыми способами борьбы с микотоксикозами являются фунгицидный и сорбционный методы сдерживания роста микотоксинов. Но оба способа имеют ряд специфических особенностей и существенных недостатков. Их применение не решает проблемы в целом. Так, добавление к зерну избирательно действующего фунгицида угнетает рост соответствующего микотоксина. Но добавление тебуконазола и флюхинконазола снижает контаминацию зерна афлотоксинами, но увеличивает воздействие vomитоксина. Другой фунгицид – азоксистробин, угнетая рост малоопасной плесени, катализирует рост более опасных грибов вида *Fusarium*.

Синергентное влияние различных факторов на ту или иную экосистему свидетельствует о необходимости системного подхода к выбору эффективного способа предотвращения микотоксикозов. Надежный способ подавления микотоксинов пока не найден, поэтому фунгициды лучше применять на первых этапах экологической цепи «природа – с/х биотехнологии». Тем более что их применение востребует точной дозировки, так как фунгициды также являются токсикантами.

Менее опасен сорбционный способ подавления микотоксикозов, где в корма вносят специальные сорбенты, поглощающие токсичные микроорганизмы. Благодаря этому биологическая активность микотоксикозов снижается до допустимых пределов (табл. 1). Однако данный способ снижения микотоксикозов имеет существенные недостатки. Поэтому метод неоднократно подвергался суровой критике [12].

Дело в том, что добавление сорбентов, а именно – бентонитов, цеолитов и алюмосиликатов кальция, магния или натрия, с включением кислот и ферментов, позво-

ляет лишь временно уменьшить рост и активность микотоксинов, адсорбирующихся на поверхности сорбента. Адсорбция временно замедляет микотоксикоз, снижая уровень токсического воздействия на текущий момент, но это мнимый биологический эффект. Формально общий уровень контаминации зерна остается прежним. После попадания в желудок животного или птицы некой порции корма, содержащей, скажем бентонит с захваченными микотоксинами, возможно кислотное разрушение сорбента, что приведет к внезапной десорбции микотоксинов и острому микотоксикозу.

Таким образом, оба способа подавления микотоксикозов имеют определенные ограничения. Их желательно применять в комплексе на разных стадиях хранения и транс-

портировки зерна. Процесс контаминации можно контролировать по результатам выборочного, экоаналитического контроля, на всех критических этапах биопроизводства.

Трудности количественной оценки ожидаемого биотоксического эффекта, в данном случае трудности численной оценки роста биоактивности «связанных» и «несвязанных» микотоксинов, могут быть успешно преодолены, если применить системный подход при выборе оптимальных условий, чувствительных методов и средств экоаналитического контроля (табл. 2) и современных методов достоверной статистической оценки экологического риска частично контаминированной зернопродукции, используемой при изготовлении рационов кормления с/х животных и птицы.

Таблица 2

Мониторинг среднемесячного уровня контаминации фуражного зерна

Месяц	Концентрации микотоксина в пробе, мг/кг					
	Т-2	ЗЕН	ФУМ	ОА	В-1	ДОН
I	0,1035	0,0487	0,8489	0,0294	0,0026	0,2685
II	0,0651	0,1489	3,4578	0,0995	0,0183	0,3615
III	0,0576	0,0535	3,5087	0,0321	0,0785	0,8025
IV	0,0632	0,0715	2,8046	0,2501	0,0048	0,3400
V	0,1483	0,0550	2,9251	0,0274	0,0196	0,0847
VI	0,0705	0,0547	3,0834	0,0109	0,0344	0,0933
VII	0,0879	0,0505	1,9717	0,012	0,0034	0,2800
VIII	0,0461	0,2101	3,6628	0,0785	0,0246	0,0800
IX	0,0283	0,2779	4,4717	0,1050	0,0090	0,2523
X	0,0588	0,4647	1,9304	0,1031	0,0392	1,2000
XI	0,3428	0,0605	1,7055	0,1340	0,0865	1,6300
XII	0,2206	0,0731	14,7631	0,0200	0,0036	1,0930
Средний за весь период	0,0914	0,1532	3,6234	0,081737	0,0304	0,4811

Рассмотрим пример системного подхода к статистической оценке экологического риска контаминированного фуражного зерна, используемого в рационах кормления птицы, где в качестве статистических критериев экологического риска процесса изготовления безопасных, сбалансированных рационов кормления птицы предложены величины  $C_p$  и  $C_{pk}$ , ранее используемые в статистическом управлении качеством биопродукции [3, 5].

Оба статистических критерия экологической безопасности технологии кормления птицы:  $C_p$  – индекс воспроизводимости и  $C_{pk}$  – индекс надежности процесса [5, 10], характеризующие потенциальные и реальные возможности данного технологического процесса, могут быть вычислены по результатам мониторинговой оценки содержания микотоксинов в фуражном зерне

или в комбикорме на любом критическом этапе приготовления сбалансированных рационов. Расчет индекса воспроизводимости процесса  $C_p$  осуществляется по формуле

$$C_p = \frac{|ВГД - ЦЛ|}{3S}, \quad (1)$$

где ВГД – верхняя граница поля допуска; ЦЛ – центральная линия поля допуска;  $S$  – стандартное отклонение выборочной дисперсии.

Индекс надежности  $C_{pk}$  вычисляется по формуле

$$C_{pk} = \frac{|ВГД - \mu|}{3S}, \quad (2)$$

где  $\mu$  – истинный результат (среднее арифметическое выборочной дисперсии).

В данном случае при оценке технологической безопасности производства

комбикормов, премиксов и шротов, используемых в птицеводстве, верхней границей поля допуска для комбикормов, контаминированных микотоксинами, является численное значение нормы ПДК данного микотоксина. Если  $C_p > 1$ , то все результаты выборочного контроля находятся в пределах поля допуска. Иными словами, вероятность превышения нормы ПДК незначительна, как и минимален риск токсического загрязнения рационов кормления птицы. Наоборот, если  $C_p < 1$ , то ожидаемый экологический риск превышает допустимые нормы, как и велика вероятность развития острого микотоксикоза.

Безусловно, численная оценка экологического риска по статистическим критериям  $C_p$  и  $C_{pk}$  является более точной и объективной, чем оценка по общепринятым схемам «Системы обязательной сертификации ГОСТ Р», так как в статистических критериях качества и техносферной безопасности биопродукции  $C_p$  и  $C_{pk}$  нашел отражение весь комплекс ингредиентов и факторов влияния на ожидаемый биологический эффект.

Как указано выше, по критерию  $C_p$  оценивают потенциальную возможность (вероятность) возникновения микотоксикозов, а по критерию  $C_{pk}$  выявляются реальный риск техносферной опасности от воздействия контаминированного зерна на птицу. По указанным статистическим критериям  $C_p$  и  $C_{pk}$  можно не только констатировать факт токсического загрязнения контаминированным зерном комбикормов и сбалансированных рационов кормления птицы, но также, по результатам статистического мониторинга, выявить источники систематического отклонения от нормы качества выпускаемой биопродукции. Это позволяет создать комплексную систему управления качеством и токсической безопасности комбикормового сырья и выпускаемой биопродукции.

Статистические исследования и оценки позволяют точнее установить источники токсического загрязнения на том или ином этапе биопроизводства и выявить наиболее опасный биотоксикант. Для птицы наиболее опасными токсикантами являются афлотоксины и Т2-токсин. При определении их биологической активности, с целью оценки качества комбикормов, всякий раз потребуются учитывать последствия мероприятий, проводимых с целью подавления микотоксикозов, из которых наиболее действенными являются два способа снижения уровня контаминации фуражного зерна. Это – фунгицидный способ подавления микотоксикоза, осуществляемый путем добавления к фуражному зерну соответствующих фунгицидов, которые ингибируют процесс

роста микотоксинов. Однако добавление фунгицидов, таких как тебуконазол или флюхинконазол, не уменьшают, а порой увеличивают контаминацию зерна некоторыми токсинами, скажем vomitоксином.

Также выяснилось, что фунгицид азоксистробин, угнетая рост малоопасной плесени, одновременно катализирует рост более опасных грибов вида *Fusarium*. Все это свидетельствует о необходимости системного подхода к выбору эффективного способа предотвращения микотоксикозов. Так как надежный способ обеспечения токсической безопасности кормов пока еще не найден, то указанный способ лучше применять на первых этапах экологической цепи «природа – с/х биотехнологии – человек». Тем более что фунгициды, особенно в избыточном количестве, сами по себе являются опасными загрязнителями биосферы.

Относительно безопасным является сорбционный способ подавления микотоксикозов, где в корма заранее вносятся специальные сорбенты, поглощающие микотоксины, снижая общий уровень микотоксикозов до допустимых пределов. Но в последнее время изменился взгляд на эффективность управления качеством и безопасностью кормов путем добавления специальных сорбентов, где в качестве добавки, уменьшающей микотоксикозы, применяются следующие сорбенты: бентониты, цеолиты и алюмосиликаты кальция, магния и натрия, с включением кислот и ферментов.

Существенным недостатком данного способа уменьшения микотоксикозов является невозможность управления процессом адсорбции микотоксинов и, соответственно, прогнозирования ожидаемого биологического эффекта. Хотя адсорбция микотоксинов, безусловно, замедляет их рост, снижая риск острого отравления, однако при попадании в желудок животного или птицы некой порции корма, содержащей бентонит с захваченными микотоксинами, в кислой среде возможна десорбция микотоксинов, приводящая к острому микотоксикозу со всеми вытекающими отсюда последствиями.

В настоящее время проблемы регулирования уровня контаминирования зерна пока не решены, как и не решены проблемы достоверной численной оценки токсической активности микотоксинов. Нужны доступные, высокочувствительные и селективные методы определения уровня микотоксикозов. Так, для определения афлотоксина В1 уже потребуются метод анализа, предел обнаружения которого не превышает нормы ПДК, равной 0,01 мг/кг зерна (табл. 1).

Но если учесть разбавление фуражного зерна остальными компонентами кормовых

смесей, то предел обнаружения уже снижается до микрограммовых количеств, что потребует применения либо суперчувствительного и достаточно селективного метода анализа, либо потребуется создать гибридную МВИ, включающую этапы разделения, концентрирования и высокочувствительного детектирования аналитического сигнала.

Как видно из данных табл. 1, в практике контроля микотоксикозов применяются гибридные методы определения микотоксинов с достаточно низким пределом их обнаружения. Применение гибридных методик выполнения измерений позволяет доступными средствами решать проблемы повышения чувствительности методов инструментального контроля, необходимых для определения малых количеств микотоксинов в сложных по составу многокомпонентных смесях. В связи с этим нами разработан оригинальный способ определения малых содержаний микотоксинов, в основу которого положена гибридная методика хроматографического разделения микотоксинов в тонком слое (двумерная ТСХ) с детектированием флуоресценции микотоксина в проявленной зоне на стандартной пластине «Silufol», облучаемой УФ-светом.

По опытным данным, полученным в лаборатории ОАО «Краснодарзооветснаб», ученые Кубанского ГАУ [3, 13] изучили токсическое воздействие на птицу микотоксинов. По результатам локального мониторинга, проведенного в 2010–2012 гг., были сделаны неутешительные выводы о том, что уровень контаминации зерна и зернопродукции растет и становится угрожающим. По нормам ПДК (табл. 1), установленным в институте питания АМН, можно сделать вывод о том, что указанное зерно непригодно для изготовления хлебопродукции. Однако его можно использовать в качестве фуражного зерна, если учесть, что уровень контаминации зерна микотоксинами зависит от времени года (табл. 2), как и от иных факторов влияния на ожидаемый биологический эффект. Кстати, известно [3], что в экосистеме всегда имеет место синергентное воздействие одних микотоксинов на рост других. Следовательно, с целью эффективного управления процессом контаминации зерна или зернопродукции, используемой в рационах кормления птицы, всякий раз потребуются решить проблемы микотоксикозов, где по международным нормам менеджмента качества биопродукции следует использовать современные методы статистических исследований и оценок, без которых сегодня уже невозможна достоверная численная оценка многопараметровой и многофакторной биосистемы.

В табл. 2 представлены среднемесячные результаты анализа фуражного зерна на содержание распространенных в РФ микотоксинов (Т2-токсина, зеараленона, фумонизина, охратоксина А, афлотоксина В1, дезоксиниваленола (ДОН) – vomitоксина.

Результаты исследований указывают на то, что непредсказуемый рост микотоксинов зависит от времени года. Так, в мае и ноябре наблюдается рост концентрации афлотоксина В1 до величин, намного превышающих норму ПДК, установленную еще Минздравом для пищевой зернопродукции. В остальное время года уровень естественной контаминации зерна не превышает норм, устанавливаемых для фуражного зерна. Для афлотоксинов они ниже ПДК = 0,05 мг/кг. Полученные данные о начальном уровне микотоксикоза могут быть полезными при составлении сбалансированных рационов кормления птицы, для которой афлотоксин В1 является весьма опасным биотоксикантом.

В табл. 3 представлены результаты определения массовой доли афлотоксина В1 в разное время года.

В данном случае для оценки уровня микотоксикоза применяется высокочувствительный, гибридный метод двумерной тонкослойной хроматографии (ТСХ) с флуориметрическим детектированием зоны афлотоксина, проявленной с помощью УФ-облучения стандартной пластины «Silufol». Предел обнаружения указанного гибридного метода анализа ниже нормы ПДК, установленной Минздравом (табл. 1). По результатам выборочного контроля уровня контаминации фуражного зерна, пользуясь формулами (1), (2) и (3), были вычислены статистические критерии  $C_p$  и  $C_{pk}$ , в данном случае характеризующих потенциальные и реальные возможности биотехнологического процесса, обеспечивающего стабильный выпуск сбалансированных рационов, безопасных для птицы, где в качестве верхней границы поля допуска принято значение ПДК = 0,05 мг/кг.

Согласно принятой нами [2, 5, 10] методологии статистического управления биопроцессом в отношении качества биопродукции, если индекс  $C_p > 1$ , то потенциальные возможности производства выпускать безопасную биопродукцию достаточно высоки, так как массовая доля афлотоксина В1 не превышает нормы ПДК. В рассматриваемом случае индекс воспроизводимости процесса  $C_p < 1$ . Здесь  $C_p = 0,62$ , что свидетельствует о низком качестве выпускаемой биопродукции. А повышенное содержание афлотоксина в суточных рационах значительно превышает норму ПДК = 0,05 мг/кг.



Таблица 3

Статистическое исследование закономерностей роста афлотоксикога в контаминированном фуражном зерне в различное время года, мг/кг

Месяц	Содержание афлотоксина В, мг/кг	Отклонение от среднего $\Delta x = x_i - x_m$	$\Delta x^2$	S – стандартное отклонение	$C_p$ и $C_{pk}$ – статистические критерии
I	0,0026	-0,02444	0,05973 $10^{-2}$	0,0269	$C_p = 0,62$ $C_{pk} = 0,32$ $k = 0,48$
II	0,0183	-0,00874	0,00764 $10^{-2}$		
III	0,0785	0,05146	0,2648 $10^{-2}$		
IV	0,0048	-0,02224	0,04946 $10^{-2}$		
V	0,0196	-0,00744	0,005535 $10^{-2}$		
VI	0,0344	0,00736	0,005417 $10^{-2}$		
VII	0,0034	0,02364	0,05588 $10^{-2}$		
VIII	0,0246	0,00244	0,000595 $10^{-2}$		
IX	0,0090	0,01804	0,03254 $10^{-2}$		
X	0,0392	0,01216	0,01479 $10^{-2}$		
XI	0,0865	0,5946	0,35355 $10^{-2}$		
XII	0,0036	-0,02344	0,05494 $10^{-2}$		
Ср. год	$x_m = 0,02704$		$\Sigma \Delta x^2 = 0,517712$		

Поскольку причины столь значительных отклонений от пределов ПДК не известны, то указанные отклонения от нормы являются случайными. Большой размах случайных отклонений от нормы качества в целом указывает на нестабильность процесса (индекс воспроизводимости  $C_p < 1$ ). Такой процесс трудно корректировать, так как неизвестна причина отклонения от нормы. Иногда проще создать концептуально иную биотехнологию, а затем оценить ее потенциальные возможности и экологический риск по статистическому критерию  $C_p$ .

По критерию надежности –  $C_{pk}$  оцениваются реальные возможности процесса, которые ниже потенциальных, так как в индексе надежности  $C_{pk}$  отражены не только случайные, но и систематические отклонения от нормы качества, вызываемые конкретной причиной. В реальности под влиянием определенных факторов внешнего воздействия процесс децентрируется и выходит за пределы поля допуска.

Критерии  $C_{pk}$  и  $C_p$  связаны между собой уравнением  $C_{pk} = C_p \cdot (1 - k)$ , по которому можно вычислить коэффициент децентрирования  $k$ , изменяющийся в пределах от 0 до 1. Так, если  $k = 0$ , то  $C_{pk} = C_p$ . А если  $k = 1$ , то  $C_{pk} = 0$ . Зачастую  $C_p > 1$ , а  $C_{pk} < 1$ . В этом случае процесс потенциально готов к выпуску доброкачественной продукции, но под влиянием определенных факторов внешнего воздействия процесс децентрируется и выходит за пределы поля допуска. В рассматри-

ваемом случае статистической оценки экологического риска, обусловленного ростом концентрации афлотоксина В1 в фуражном зерне и зернопродукции,  $C_{pk} = 0,32$  и  $k = 0,48$ . Следовательно, имеет место систематическое превышение нормы ПДК = 0,05 мг/кг, а значит, экологический риск растет.

### Выводы

1. Путем обобщения результатов ранее выполненных работ сформулированы научные принципы и критерии количественной оценки биологических объектов, которые могут быть реализованы в современных комплексных системах менеджмента качества (СМК), отвечающих международным нормам добровольной сертификации, серии *ISO 9000*, и техническому регламенту Таможенного Союза.

2. Изучены специфические особенности экоаналитического контроля и оценки экологического риска биотехнологических производств, в рамках современной методологии *PreventionPollution*, где приоритетны статистические методы исследований и оценок многопараметровых и многофакторных биосистем.

3. В продолжение ранее выполненных работ, касательно статистического управления качеством биопродукции, разработана методология априорной оценки экологического риска и техносферной безопасности предприятий биотехнологического профиля по статистическим критериям  $C_p$  и  $C_{pk}$ .

**Список литературы**

1. Василов Р.Г. Биоэкономика как следующий шаг развития – шанс для России // Вестник биотехнологии и физико-химич. биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2010. – № 4. – С. 28–32.
2. Востоков В.М., Арбатский А.П. Особенности метрологической оценки результатов аналитического контроля биотехнологий // Изв. вузов. Поволжск. рег. – 2005. – № 6. – С. 231–240.
3. Коростелева Л.А., Кошаев А.Г. Основы экологии микроорганизмов. – СПб.: Изд-во «Лань», 2013. – 240 с.
4. Востоков В.М., Карташов В.Р. Хроматографический контроль биохимической активности жирорастворимых витаминов (А, D, Е) в пищевой и кормовой продукции // Известия вузов. Химия и хим. технол. – 2006. – Т. 49. – № 4. – С. 115–118.
5. Востоков В.М. Статистическое управление биопроизводством // Стандарты и качество. 2006. № 5. С. 42–44.
6. Востоков В.М., Плохов С.А. Научные принципы выбора физико-химических методов анализа и их реализация при разработке систем контроля биотехнологических производств // Н. Новгород, Деп. в ВИНТИ 29.12.2006. № 1640-В 2006. 6 с.
7. Востоков В.М., Давыдов А.Н., Ивашкин Е.Г. Особенности экоаналитического контроля биотехнологических производств // Экоаналитика-2009: материалы VII Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды. – Йошкар-Ола, 2009. – С. 79–80.
8. Востоков В.М., Смирнова В.М., Глебов А.Н. Особенности экоаналитического контроля биотехнологий // Журнал экологии и промышленной безопасности. – 2010. – № 4.
9. Востоков В.М., Смирнова В.М., Дегтяренко Г.Л. Оценка экологического риска биопроизводства // Тр. НГТУ им. Р.Е. Алексеева. – 2011. – № 1(86). – С. 243–251.
10. Востоков В.М. Метрология, стандартизация, сертификация. Статистическое управление качеством и оценка экологического риска химических биопроизводств: учеб. пособие / В.М. Востоков; НГТУ им. Р.Е. Алексеева. – Нижний Новгород, 2012. – 153 с.
11. Мелентьева Г.А. Фармацевтическая химия. – М.: Медицина, 1968. – 775 с.
12. Папазян Т. Микотоксины: Экологический риск и контроль // ООО «Оллтек» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.zzr.ru/archives/2002/08/article7.htm> (дата обращения: 15.09.14).
13. Хмара И.В. Биотехнологические аспекты производства и применения препарата на основе культуры *Bacillus nigricans* 132 для профилактики афлатоксикозов птиц: дис. ... канд. с.-х. наук. – Краснодар, 2002.

**References**

1. Vasilov R.G. Bioeconomy as the next step of development – a chance for Russia // bulletin of biotechnology and

- physical and chem. Biology. Y.A. Ovchinnikov, 2010. no. 4. pp. 28–32.
2. Vostokov V.M., Arbatsky A.P. Features metrological evaluation of the analytical control of biotechnology // Math. universities. Povolzhskiy. reg., 2005. no. 6. pp. 231–240.
3. Korostelyova L.A., Koschaev A.G. Fundamentals of microbial ecology. Petersburg.: Publ «Lan», 2013. 240 p.
4. Vostokov V.M., Kartashov V.R. Chromatographic control biochemical activity of fat-soluble vitamins (A, D, E) in food and feed products // Proceedings of the universities. Chemistry and Chemical Engineering. tehnol., 2006 Vol. 49. no. 4. pp. 115–118.
5. Vostokov V.M. Statistical Office of the biomanufacturing // Standards and Quality. 2006. no. 5. pp. 42–44.
6. Vostokov V.M., Plohov S.A. Scientific principles for the selection of physical and chemical methods of analysis and their implementation in the design of control systems biotechnological productions // Nizhny Novgorod, Dep. VINITI 29.12.2006. Number 1640 in 2006. 6 p.
7. Vostokov V.M., Davidov A.N., Ivashkin E.G. Features eco-analytical control of biotechnological industry // Materials VII All-Russian Conference on the analysis of the environment «Ecoanalytics 2009». Yoshkar-Ola. 2009 pp. 79–80.
8. Vostokov V.M., Smirnov V.M., Glebov A.N. Features eco-analytical control biotechnology // Journal of Environment and Safety. 2010. no. 4.
9. Vostokov V.M., Smirnov V.M., Degtyarenko G.L. Environmental Risk Assessment biomanufacturing // Tr. NSTU them. RE Alekseeva, 2011. no. 1 (86). pp. 243–251.
10. Vostokov V.M. Metrology, standardization and certification. Statistical quality control and environmental risk assessment химических биопроизводств: Proc. Manual / VM Easts; NSTU them. RE Alekseev. – Nizhny Novgorod, 2012. 153 p.
11. Melentyeva G.A. Pharmaceutical Chemistry. M.: «Medicine», 1968. 775 p.
12. Papazian T. Mycotoxins: Environmental risk and control // LLC «Alltech» [electronic resource]. Mode of access: <http://www.zzr.ru/archives/2002/08/article7.htm> (date accessed: 15/09/14).
13. Hmara I.V. Biotechnological aspects of the production and use of the drug on the basis of culture *Bacillus nigricans* 132 for the prevention of aflatoxicosis birds: Dis. ... Candidate. agricultural Sciences: 03.00.23 Krasnodar, 2002.

**Рецензенты:**

Плохов С.В., д.т.н., профессор кафедры «Нанотехнологии и биотехнологии», Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева, г. Нижний Новгород;

Смирнов В.Ф., д.б.н., профессор, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород.

Работа поступила в редакцию 23.09.2014.