

Читать
онлайн
Read
onlineМинаева Л.П.¹, Евсюкова А.Д.¹, Кольцов В.А.², Жидехина Т.В.², Седова И.Б.¹,
Чалый З.А.¹, Ефимочкина Н.Р.¹, Шевелева С.А.¹

Контаминация плодово-ягодной продукции микотоксигенными плесневыми грибами

¹ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», 109240, Москва, Россия;²ФГБНУ «Федеральный научный центр имени И.В. Мичурина», 393774, Мичуринск, Россия

Введение. Оценка риска воздействия микотоксинов, загрязняющих плодово-ягодную продукцию, в том числе малоизученные в этом отношении свежие ягоды и плоды, предполагает в качестве обязательного этапа идентификацию вегетирующих на плодах плесневых грибов, определение уровней их содержания и условий, способствующих формированию токсигенного потенциала.

Материалы и методы. Контаминацию плесневыми грибами ягод и плодов изучали культуральными методами с микро- и макроморфологической идентификацией видов. Определение 28 микотоксинов (МТ) проводили методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (УВЖХ-МС/МС) в режиме мультидетекции.

Результаты. В 87 образцах ягод и плодов, не имеющих признаков порчи, изучены видовой состав микрофлоры, её количественные уровни и содержание МТ. В большинстве проб (80%) содержание плесеней и общая микробная обсеменённость не превышали установленных нормативных значений для аналогичной обработанной быстрозамороженной плодово-ягодной продукции. Наиболее загрязнёнными были образцы клубники и малины, наименее загрязнёнными — слива и кизил. Анализ таксономического состава эпифитной микрофлоры показал доминирование грибов рода *Alternaria* (крыжовник, смородина и слива); *Aspergillus* spp. (клубника); грибов порядка *Micorales* (малина). Следует отметить, что при химическом анализе в образцах клубники, красной смородины и сливы обнаружены опасные фузариотоксины, продуценты которых (*Fusarium* spp.) в поверхностной микрофлоре не выявлены. В целом в ягодах и плодах выявлены опасные МТ (фузариотоксины, патулин, афлатоксины, охратоксин В) и эмерджентные МТ (альтернатоксины, боверицин, энниатины и др.), уровни присутствия которых были ниже нормируемых в пищевой продукции. Сравнение уровней микробной загрязнённости свежих ягод и плодов и подвергнутых технологической обработке (конвекционная сушка и шоковая заморозка) показало, что микробиологическая чистота продукции при таких способах переработки обеспечивается преимущественно качеством исходного сырья, поскольку условия конвекционной сушки и шоковой заморозки не приводят к инактивации микрофлоры.

Ограничения исследования. В рамках настоящей работы видовая принадлежность микромицетов проведена микологическими методами без применения ПЦР-анализа, что может быть предметом дальнейших исследований.

Заключение. Показано, что отсутствие видимой порчи ягод и плодов не означает отсутствия в них МТ, а микотоксигенные виды плесеней могут не обнаруживаться в микрофлоре плодов. Выявлена контаминация плодово-ягодной продукции многообразными регламентруемыми и эмерджентными МТ, что подтверждает необходимость углублённого изучения загрязнения этих видов продукции микотоксинами, представляющими опасность для здоровья человека, с целью последующей оценки риска их поступления в организм.

Ключевые слова: ягоды; плоды; плесневые грибы; продуценты микотоксинов; микотоксины; эмерджентные микотоксины

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Для цитирования: Минаева Л.П., Евсюкова А.Д., Кольцов В.А., Жидехина Т.В., Седова И.Б., Чалый З.А., Ефимочкина Н.Р., Шевелева С.А. Контаминация плодово-ягодной продукции микотоксигенными плесневыми грибами. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(3): 272-278. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-3-272-278>
<https://elibrary.ru/exctgh>

Для корреспонденции: Минаева Людмила Павловна, канд. техн. наук, ст. науч. сотр. лаб. биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 109240, Москва. E-mail: liuminaeva-ion@mail.ru

Участие авторов: Минаева Л.П. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка результатов микробиологических исследований и фенотипической идентификации плесневых грибов, написание текста, редактирование, ответственность за целостность всех частей статьи; Евсюкова А.Д. — сбор и обработка результатов микробиологических исследований и фенотипической идентификации плесневых грибов; Кольцов В.А. — сбор и представление образцов для исследований, технологическая обработка образцов; Жидехина Т.В. — разработка концепции селекции сортов плодов и ягод, полученных с использованием современных ресурсосберегающих агротехнологий, отбор образцов плодов и ягод; Седова И.Б., Чалый З.А. — сбор и обработка результатов исследований методом УВЖХ-МС/МС; Ефимочкина Н.Р. — подбор образцов, сбор и обработка результатов микробиологических исследований; Шевелева С.А. — согласование концепции исследования, редактирование. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи.

Благодарность. Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», принимавшим участие в сборе первичного материала микробиологических исследований, и заведующему лабораторией биохимии и пищевых технологий ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина» доктору сельскохозяйственных наук М.Ю. Акимову за организацию сбора и передачи объектов исследований.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 18-16-00077-П) «Эмерджентные микотоксины в пищевых продуктах растительного происхождения: разработка методов анализа, изучение контаминации, видовая характеристика микромицетов-продуцентов, разработка гигиенических нормативов».

Поступила: 07.11.2022 / Принята к печати: 24.03.2023 / Опубликована: 20.04.2023

Lyudmila P. Minaeva¹, Alena D. Evsjukova¹, Vladimir A. Koltsov², Tatiana V. Zhidekhina²,
Irina B. Sedova¹, Zakhar A. Chalyy¹, Natalia R. Efimochkina¹, Svetlana A. Sheveleva¹

Contamination of fruit and berry products with mycotoxigenic mold fungi

¹Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, 109240, Russian Federation;

²I.V. Michurin Federal Scientific Center, Michurinsk, 393774, Russian Federation

Introduction. To assess the risk of exposure to mycotoxins contaminating fruit and berry products, it is necessary, as a mandatory step, to identify mold fungi growing on fruits, determine their levels and conditions that contribute to the formation of their toxigenic potential. This is relevant in relation to the group of such food products as fresh berries and fruits until now little studied in this aspect -.

Materials and methods. Contamination of berries and fruits with mold fungi was studied by cultural methods with micro- and macromorphological identification of species. Mycotoxins (MT) were determined by UHPLC-MS/MS in multi-detection format (28 MT).

Results. In eighty seven samples of berries and fruits without signs of deterioration, there were studied the species composition of mycoflora, its quantitative levels and the content of MT. In most samples (80%), the mold content and total microbial contamination did not exceed the established standard values for similar processed fruit and berry products (quick frozen). The samples of strawberry were the most contaminated, the least - plum and dogwood. Analysis of the taxonomic composition of the epiphytic mycoflora showed the dominance of fungi of the genus *Alternaria* (gooseberry, currant and plum); *Aspergillus* sp. (Strawberry); mushrooms of the order *Mucorales* (raspberries). However, during chemical analysis, dangerous fusariotoxins were found in samples of strawberries, red currants and plums, the producers of which are *Fusarium* sp. were noted not to be found in the surface microflora. In general, dangerous MTs (fusariotoxins, patulin, aflatoxins, ochratoxin B) and emergent MTs (alternaritoxins, bovericin, enniatines, etc.) were found in berries and fruits, the levels of which were below the levels normalized in food products. A comparison was made of the levels of microbial contamination in fresh berries and fruits and those subjected to technological processing (convection drying and shock freezing). It is shown that the microbiological purity of products with such processing methods is mainly ensured by the quality of food raw materials, since the conditions of convection drying and shock freezing do not lead to microflora inactivation.

Limitations. Within the framework of the study, the species affiliation of MSIs was carried out by mycological methods without the use of PCR analysis, which will be the subject of further research.

Conclusion. The absence of visible spoilage of berries and fruits has been shown to no mean the absence of MT in them, and mycotoxigenic molds may not be detected in the mycoflora of fruits. Contamination of fruit and berry products with a wide range of regulated and emerging MTs was revealed, which confirms the need for an in-depth study of the contamination of these types of products with mycotoxins that are hazardous to human health, with the aim of subsequent assessment of the risk of their entry into the human body.

Keywords: berries; fruits; mold fungi; mycotoxin producers; mycotoxins; emerging mycotoxins

Compliance with ethical standards. This study does not require the conclusion of a biomedical ethics committee or other documents.

For citation: Minaeva L.P., Evsjukova A.D., Koltsov V.A., Zhidekhina T.V., Sedova I.B., Chalyy Z.A., Efimochkina N.R., Sheveleva S.A. Contamination of fruit and berry products with mycotoxigenic mold fungi. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(3): 272-278. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-3-272-278> <https://elibrary.ru/exctgh> (In Russian)

For correspondence: Lyudmila P. Minaeva, MD, PhD, Senior researcher of the laboratory of biosafety and nutrimicrobiome analysis, Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology, Moscow, 109240, Russian Federation. E-mail: liuminaeva-ion@mail.ru

Information about authors:

Minaeva L.P., <https://orcid.org/0000-0003-1853-5735>

Koltsov V.A., <https://orcid.org/0000-0002-2841-6126>

Sedova I.B., <https://orcid.org/0000-0002-6011-4515>

Efimochkina N.R., <https://orcid.org/0000-0002-9071-0326>

Evsjukova A.D., <https://orcid.org/0000-0001-6835-3644>

Zhidekhina T.V., <https://orcid.org/0000-0001-9543-7069>

Chalyy Z.A., <https://orcid.org/0000-0002-9371-8163>

Sheveleva S.A., <https://orcid.org/0000-0001-5647-9709>

Contribution: Minaeva L.P. – concept and design of the study, collection and processing of materials of microbiological studies and of the results of phenotypic identification of molds, writing and editing of the manuscript, responsibility for the integrity of all parts of the article; Evsjukova A.D. – collection and processing of materials of microbiological studies and of the results of phenotypic identification of molds; Koltsov V.A. – collection and provision of samples for research, technological processing of samples; Zhidekhina T.V. – development of the concept of selection of varieties of fruits and berries obtained using modern resource-saving agricultural technologies, sampling of fruits and berries; Sedova I.B., Chalyy Z.A. – collection and processing of material UHPLC-MS/MS research results; Efimochkina N.R. – sampling, collection and processing of material of microbiological studies; Sheveleva S.A. – agreement of the research concept, editing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Acknowledgement. The authors express their gratitude to the staff of the Laboratory of Biosafety and Analysis of the Nutrimicrobiome of the Federal State Budgetary Institution of Science “Federal Research Center for Nutrition and Biotechnology”, who took part in the collection of primary material of microbiological research; Mikhail Yu. Akimov Doctor of Agricultural Sciences, Head of the Laboratory of Biochemistry and Food Technologies of the Federal State Budgetary Scientific Institution “I.V. Michurin Federal Scientific Center” for organizing the collection and transfer of research objects.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation (project No. 18-16-00077-P) “Emergent mycotoxins in food products of plant origin: development of methods of analysis, study of contamination, species characteristics of micromycetes-producers, development of hygienic standards”.

Received: November 7, 2022 / Accepted: March 24, 2023 / Published: April 20, 2023

Введение

Оценка риска воздействия микотоксинов, загрязняющих плодово-ягодную продукцию, в том числе малоизученные в этом отношении свежие ягоды и плоды, предполагает в качестве обязательного этапа идентификацию вегетирующих на плодах плесневых грибов, определение уровней их содержания и условий, способствующих формированию их токсигенного потенциала. Большинство токсигенных микромицетов способны размножаться и накапливать МТ в широком диапазоне условий обитания этих микроорганизмов, повсеместно распространённых во внешней среде и адаптированных к неблагоприятным воздействиям. Интенсификация выращивания сельскохозяйственных культур оказывает влияние на трансформацию почвенной микробиоты, что может приводить к появлению микромицетов с новыми или изменёнными метаболическими профилями, в том числе в части микотоксинообразования. Микроскопические грибы способны поражать возделываемые культуры на этапах созревания в поле, при переработке и хранении. Значимость проблемы также обусловлена всё более частым выявлением среди известных и контролируемых в пище МТ новых или эмерджентных микотоксинов (ЭМТ), к числу которых относят альтернариол, его метиловый эфир, тенауазоновую кислоту, стеригматоцистин, цитринин, боверицин, энниатины А и В, монолиформин, тентоксин, альтенуен, фузапролиферин, микофеноловую и фузариевую кислоты, эмодин и асперглауцид.

Основу пищевых рационов всех категорий населения составляют растительные продукты, поэтому вопросы неблагоприятных последствий при их загрязнении МТ и ЭМТ являются приоритетными с точки зрения безопасности пищи. К числу продуктов, потенциально наиболее опасных в отношении загрязнения МТ, относятся свежие плоды и ягоды, замороженные фруктовые и ягодные полуфабрикаты, реализуемые населению и предназначенные для промышленной переработки [1].

Микроскопические грибы, имеющие наибольшее значение в процессах порчи культивируемых фруктов и ягод, относятся к родам *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Rhizopus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Sclerotinia*, *Colletotrichum*, *Phytophthora* [2]. Значительная часть этих микромицетов является продуцентами опасных МТ, продуцентов ЭМТ наиболее часто обнаруживают среди *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* и *Alternaria* spp.

Основная часть микроскопических грибов находится на поверхности вегетирующих растений, включаясь в комплекс эпифитной микрофлоры. Их фитопатогенные виды повреждают растения в период вегетации в поле, приводя к снижению урожайности и потребительских характеристик плодово-ягодной продукции. Это не всегда сопровождается явным изменением сенсорных свойств, появлением признаков гниения, депигментации. Поэтому основными негативными аспектами загрязнения плесенью плодов и овощей являются синтез и накопление МТ токсигенными штаммами грибных контаминантов, что может опережать появление выраженной порчи. Данное свойство подтверждено результатами исследований токсинообразующих микромицетов, которые не проявляют фитопатогенных свойств и развиваются в тканях растений при отсутствии признаков плесневения. Микотоксигенный потенциал грибных контаминантов во многом зависит от условий внешней среды. Наиболее важными факторами, способствующими росту плесеней и накоплению МТ в продуктах, являются повышенные температура и влажность. Фрукты и ягоды особенно подвержены микробной порче и плесневению из-за естественного содержания доступных сахаров. Одновременное присутствие органических кислот (лимонной, яблочной, винной) может замедлять бактериальный рост за счёт низкого рН (от < 2,5 до 5,0). Однако эти значения рН, подавляющие развитие бактерий, приемлемы для многих видов плесневых грибов.

Задачи настоящего исследования — изучение уровней содержания потенциально токсигенных плесневых контаминантов в свежей и свежемороженой плодово-ягодной продукции, характеризующейся высокой степенью риска загрязнения плесневыми грибами; определение видовой принадлежности выделенных штаммов; изучение загрязнённости этих групп продукции МТ и ЭМТ.

Для проведения скрининга плодово-ягодной продукции в качестве опытного региона была выбрана Тамбовская область как один из интенсивно развивающихся сельскохозяйственных регионов чернозёмной зоны Российской Федерации, в котором наряду с традиционными способами земледелия активно применяются новые агроботехнологии, способные влиять на формирование видового ландшафта плесеней и спектра продуцируемых ими МТ.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись ягодные и плодовые культуры, возделываемые в питомниках ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина» (г. Мичуринск) и фермерских хозяйствах Тамбовской области. Анализировали также продукцию из других регионов Российской Федерации, реализуемую на рынках г. Москвы и Московской области.

Выбор сортов определялся устойчивостью к некарantinным заболеваниям (мучнистая роса, антракноз, септориоз, серая гниль и др.). Для исследований были отобраны образцы земляники (сорт Мальвина), малины (Антарес, Лимонная, Яркая, Золотая осень, Брянское диво), смородины чёрной (Аксения, Диметро, Грация, Чернавка, Кипиано, Тамерлан, Маленький принц, Зелёная дымка), смородины красной (Мармеландия, 30-7-58, Вика, Дана, Газель, Виксне), крыжовника (Сфинкс, Черномор, Шалун, Серенада, Галатея, Казачок, Звездочёт), сливы (Светлячок, Этюд, Ренклюд колхозный, Кооперативная, Евразия), тёрна (Крупноплодный), кизила (Находка, Николка, Волгоградский грушевидный, Обод, Бродовский жёлтый).

Для оценки влияния технологической обработки на уровни и состав микробиоты плодово-ягодной продукции анализировали образцы свежемороженых слив (режим шоковой заморозки при минус 45 °С сортов Ренклюд Харитоновский, Очаковская жёлтая, Болоховчанка, Татарская жёлтая, Радость, Венера, Гармония, Утро, Волжанка, Пемблано) и сушёной чёрной смородины (конвекционная сушка при плюс 50 °С до уровня влажности 3–5%) в сопоставлении со свежей продукцией из тех же партий (до обработки). Образцы свежих ягод и плодов до начала исследований хранили при температуре плюс 6 ± 2 °С не более 48 ч.

Микробиологическую загрязнённость образцов ягод и плодов определяли культуральными методами, оценивая количество плесневых грибов и общее микробное число. Фенотипическую идентификацию микромицетов проводили классическими микологическими методами по макро- и микроморфологическим характеристикам в соответствии с рекомендациями [3–6].

Определение микотоксинов проводили методом УВЭЖХ-МС/МС в режиме мультидетекции по разработанной ранее методике [7]. В перечень анализируемых МТ и ЭМТ входили афлатоксины (AFL B1, B2, G1 и G2), фузариотоксины (3-AcDON и 15-AcDON, DON, NIV, T-2, HT-2, ZEA, b-ZEL, FB1, FB2, MO, BEA, ENN A, ENN B), OTA, STC, MFA, CIT, PAT, альтернариатоксины (ALT, TE, AME, AOH, TNZ).

Результаты

Изучение микофлоры проводили на 68 образцах свежих ягод и плодов без видимых признаков порчи, а также на 19 образцах, подвергнутых технологической обработке. Отдельные виды плодов исследовали сравнительно также после процесса технологической обработки: сливы — после шоковой заморозки, чёрной смородины — после конвекционной

Таблица 1 / Table 1

Микробиологическая характеристика образцов ягод и фруктов
Microbiological characteristics of the studied samples of berries and fruits

Показатели, КОЕ/г Indicators, CFU/g	Клубника свежая Strawberries (fresh) n = 22	Малина свежая Raspberry (fresh) n = 13	Крыжовник свежий Gooseberries (fresh) n = 7	Смородина / Currant			Слива и кизил свежие Plum and dogwood (fresh) n = 12	Слива замороженная Plum (frozen) n = 11
				красная свежая Red (fresh) n = 6	чёрная свежая Black (fresh) n = 8	чёрная сушёная Black (dried) n = 8		
<i>Плесени / Molds</i>								
Норматив Normalized value	< 500*	< 500*	< 500*	< 500*	< 500*	< 100	< 1000*	< 1000
Среднее** / Average**	3.9 · 10 ³	2.6 · 10 ³	2.3 · 10 ²	5.8 · 10 ²	3.5 · 10 ²	3.3 · 10 ²	2.3 · 10 ¹	< 5
Диапазоны значений Range of values	< 5 ... 8 · 10 ⁴	< 5 ... 3 · 10 ⁴	< 5 ... 5 · 10 ²	5.5 · 10 ² ... 2 · 10 ³	< 5 ... 8 · 10 ²	< 5 ... 1,2 · 10 ³	< 5 ... 2 · 10 ²	–
<i>Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)</i> <i>Total Mesophilic Aerobic and Facultative Anaerobic Microbial Count (TMAFaMC)</i>								
Норматив Normalized value	5 · 10 ⁴ *	5 · 10 ⁴ *	5 · 10 ⁴ *	5 · 10 ⁴ *	5 · 10 ⁴ *	5 · 10 ⁴ *	5 · 10 ⁴ *	5 · 10 ⁴
Среднее** / Average**	2.8 · 10 ⁴	3 · 10 ⁴	1.6 · 10 ⁴	4.3 · 10 ²	2.6 · 10 ²	4.5 · 10 ²	5.3 · 10 ⁴	3.1 · 10 ⁵
Диапазоны значений Range of values	< 15 ... 3 · 10 ⁵	2.6 · 10 ² ... 1.8 · 10 ⁵	1.4 · 10 ² ... 10 ⁵	(2 ... 7.6) · 10 ²	(3.5...6.2) · 10 ²	< 15 ... 2,3 · 10 ³	< 15 ... 1,1 · 10 ⁵	< 15 ... 9.3 · 10 ⁵

Примечание. * – по нормативу для быстрозамороженных ягод и плодов; ** – среднее арифметическое значение.

Note. * – according to the standardized level for quick-frozen berries and fruits; ** – averages.

сушки. Уровни микробной контаминации свежих плодов и ягод сопоставляли с нормативами технического регламента Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011), установленными для ягод и плодов свежих быстрозамороженных и сушёных.

Загрязнённость плодово-ягодной продукции плесневыми грибами. По результатам микологического анализа установлено, что плесневые грибы присутствовали во всех исследованных видах доброкачественных плодов и ягод, однако наибольшие уровни загрязнения были выявлены в клубнике: содержание плесеней в среднем составляло 3,9 · 10³ КОЕ/г, достигая в отдельных пробах 8 · 10⁴ КОЕ/г; в 23% проб (5 из 22) уровень загрязнения превышал норматив для быстрозамороженной продукции, равный 500 КОЕ/г (табл. 1). Схожие показатели загрязнения установлены для свежей малины: в среднем 2,6 · 10³ КОЕ/г, уровень 500 КОЕ/г был превышен в 23% проб (3 из 13). Средние значения содержания плесеней в малине, крыжовнике, чёрной смородине были схожими, а в красной смородине несколько превышали уровень 500 КОЕ/г. Минимальное содержание плесеней, в среднем 23 КОЕ/г, было выявлено в свежих сливах, а после их замораживания и хранения в течение 14 сут плесени не были обнаружены (менее 5 КОЕ/г). Пробы чёрной смородины после сушки в сравнении со свежими ягодами чаще характеризовались превышением количества плесеней, 4 из 8 проб (50%) не соответствовали нормативу 100 КОЕ/г.

Бактериальная загрязнённость продукции характеризует условия сбора, транспортировки и хранения сырья. В соответствии с требованиями ТР ТС 021/2011 норматив общего количества микроорганизмов (КМАФАнМ) для плодов (косточковых гладких) и ягод быстрозамороженных и сублимационной сушки установлен на уровне не более 5 · 10⁴ КОЕ/г.

Результаты микробиологического анализа показали, что среди тех видов продукции, для которых установлен норматив, превышение микробного фона было выявлено только в замороженных сливах – в 45% проб (5 из 11), среднее значение составило 3,1 · 10⁵ КОЕ/г. Все образцы сушёной смородины соответствовали установленным требованиям, среднее значение – 4,5 · 10² КОЕ/г (см. табл. 1).

В свежих ягодах повышенные уровни общей микробной загрязнённости были обнаружены в сливах, клубнике, малине и несколько меньше – в крыжовнике. Превышение ориентировочного порога (более 5 · 10⁴ КОЕ/г) было выявлено в 10 из 68 образцов, в том числе в клубнике – в 3 из 22 (13,6%), малине – в 3 из 13 (23%), в крыжовнике – в 1 из 7 (14,2%), сливе свежей – 3 из 12 (25%). В большинстве исследованных образцов средние значения (по группам образцов) находились в диапазоне от менее 15 до 5 · 10⁴ КОЕ/г, что свидетельствует о допустимом уровне бактериальной загрязнённости свежей ягодной продукции.

Состав микромицетов, контаминирующих ягоды и плоды. Анализ таксономического состава выделенных при микологическом посеве микромицетов (табл. 2) показал, что в большинстве проб плодово-ягодной продукции (крыжовника, смородины красной и чёрной, слив) доминирующими контаминантами были грибы рода *Alternaria* (частота обнаружения – от 16,7 до 100%), в образцах клубники – *Aspergillus* spp. (59%), малины – виды порядка *Mucorales* (*Mucor* spp. / *Rhizopus* spp., 54% проб). С меньшей частотой обнаруживали (в порядке убывания): в клубнике *Botrytis cinera*, *Alternaria* spp. и *Mucor* spp. / *Rhizopus* spp.; в малине – *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp.; в крыжовнике – *Mucor* spp. / *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp.; в смородине красной – *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. / *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp.; в смородине чёрной – *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp.; в смородине сушёной – *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. / *Rhizopus* spp.; в сливах – *Aspergillus* spp.

Среди обнаруженных таксонов микромицетов присутствовали характерные для данных видов ягод фитопатогены: *Botrytis cinera* – возбудитель «серой плесени», *Mucor* spp. – «серой гнили», *Rhizopus* spp. – «чёрной гнили» (*Rhizopus stolonifer* Ehrenb); *Fusarium* spp. – фузариоза (*F. oxysporum*, *F. sambucinum*), *Alternaria* spp. – альтернариоза (*A. tenuissima*) [8–10].

Определение содержания 28 микотоксинов методом УВЭЖХ-МС/МС показало в большинстве проб высокую

Таблица 2 / Table 2

Микромицеты, выявленные в плодово-ягодной продукции, и спектр обнаруженных микотоксинов
Micromycetes identified in fruit and berry products and the range of detected mycotoxins

Образец Samples	Плесневые контаминанты Mold contaminants	Частота обнаружения Occurrence		Обнаруженные МТ* Detected MTs*	Потенциальные продуценты MT Potential producers of MT	Частота обнаружения Occurrence	
		абс. / abs.	%			абс. / abs.	%
Клубника (земляника) свежая Strawberries / wild strawberries (fresh) <i>n</i> = 22	<i>Aspergillus</i> spp.	13	59	FB1, FB2, DON, T-2, HT-2, ZEA, β-ZEL, BEA, Enn	<i>Fusarium</i> spp.	20	91
	<i>Botrytis cinera</i>	11	50				
	<i>Alternaria</i> spp.	6	27	PAT	<i>Penicillium</i> spp.	14	64
	Порядок / the order <i>Mucorales</i> *	5	23	AFL B1, B2, G1, G2, TE, AME, АОН ОТА	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Alternaria</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium</i> spp.	12 9 2	54 41 9
Малина свежая Raspberry (fresh) <i>n</i> = 13	Порядок / the order <i>Mucorales</i>	7	54	TE, АОН, ALT, TNZ	<i>Alternaria</i> spp.	6	46
	<i>Alternaria</i> spp.	7	54	PAT	<i>Penicillium</i> spp.	2	15
	<i>Aspergillus</i> spp.	3	23	NIV, HT-2	<i>Fusarium</i> spp.	1	8
	<i>Fusarium</i> spp.	1	8				
Крыжовник свежий Gooseberries (fresh) <i>n</i> = 7	<i>Alternaria</i> spp.	7	100	TE, TNZ	<i>Alternaria</i> spp.	5	71
	Порядок / the order <i>Mucorales</i>	7	100	DON, FB2, HT-2	<i>Fusarium</i> spp.	3	42
	<i>Fusarium</i> spp.	2	28	MPA	<i>Penicillium</i> spp.	1	14
	<i>Penicillium</i> spp.	2	28				
Смородина красная свежая Red currant (fresh) <i>n</i> = 6	<i>Alternaria</i> spp.	5	83	HT-2	<i>Fusarium</i> spp.	1	17
	<i>Aspergillus</i> spp.	4	67				
	Порядок / the order <i>Mucorales</i>	4	67				
	<i>Penicillium</i> spp.	1	17				
Смородина чёрная свежая Black currant (fresh) <i>n</i> = 8	<i>Alternaria</i> spp.	6	75	DON, ZEA	<i>Fusarium</i> spp.	7	87
	<i>Aspergillus</i> spp.	5	62	TE, TNZ	<i>Alternaria</i> spp.	5	62
	<i>Fusarium</i> spp.	2	25	CIT	<i>Penicillium</i> spp.	1	12
	<i>Penicillium</i> spp.	2	25				
Смородина чёрная сушёная Black currant (dried) <i>n</i> = 8	<i>Alternaria</i> spp.	7	87,5	FB1, FB2, NIV, DON	<i>Fusarium</i> spp.	7	87
	<i>Penicillium</i> spp.	1	12,5	TE	<i>Alternaria</i> spp.	7	87
	<i>Aspergillus</i> spp.	1	12,5	CIT, PAT	<i>Penicillium</i> spp.	2	25
	Порядок / the order <i>Mucorales</i>	1	12,5				
Слива и кизил свежие Plum and dogwood (fresh) <i>n</i> = 11	<i>Alternaria</i> spp.	2	16,7	MO, NIV	<i>Fusarium</i> spp.	10	83
	<i>Aspergillus</i> spp.	1	8,3	TE, TNZ, АОН	<i>Alternaria</i> spp.	4	33
				PAT, CIT	<i>Penicillium</i> spp.	2	16,7
Слива замороженная Plum (frozen) <i>n</i> = 12	Не обнаружены Not detected	—	—	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data

Примечание. * – МТ, обнаруженные в количествах выше предела количественного обнаружения.

Note: * – MT detected in quantities above the limit of quantitative detection.

частоту обнаружения МТ и ЭМТ, преимущественно продуцируемых грибами рода *Fusarium* (см. табл. 2). В 91% проб клубники обнаружены фузариотоксины FB1, FB2, DON, T-2, HT-2, ZEA, β-ZEL, а также эмерджентные BEA и Enn; в 87% образцов смородины чёрной свежей и сушёной присутствовали DON, ZEA, FB2, NIV, FB1; в сливе свежей – MO и NIV (83% проб). В малине и крыжовнике наиболее часто обнаруживали эмерджентные альтернативотоксины TE, АОН, ALT, TNZ.

С меньшей частотой в образцах плодов и ягод обнаруживали патулин (*Penicillium* spp.); афлатоксины B1, B2, G1, G2 (*Aspergillus* spp.); ократоксин А (*Aspergillus* spp. и *Penicillium* spp.); микофеноловую кислоту и цитринин (*Penicillium* spp.).

Обсуждение

Результаты исследований свежих ягод и плодов, выращенных преимущественно в Тамбовской области, а также ягод из других регионов Российской Федерации показали, что в большинстве (80%) проб содержание плесеней не превышало нормативных значений, установленных для аналогичных видов быстрозамороженной плодово-ягодной продукции. В 20% случаев выявлены значительные уровни контаминации плесенями: в клубнике, малине – 23% проб, в красной и чёрной смородине – 33 и 25% проб соответственно. По уровням содержания плесеней наиболее загрязнёнными были образцы клубники и малины, наименее

загрязнёнными — крыжовника, сливы и кизила. В полученных ранее авторами результатах микробиологических исследований сухофруктов образцы сушёной сливы (чернослива) также были наименее загрязнены плесенью [11].

Общая микробная обсеменённость большинства исследованных образцов плодово-ягодной продукции (78%) не превышала допустимого уровня $5 \cdot 10^4$ КОЕ/г. Наиболее загрязнёнными среди ягод были образцы малины (23%), в меньшей степени — клубники (13,6%) и крыжовника (14%). В плодах сливы (25% образцов свежей и 45% образцов быстрозамороженной) было выявлено превышение мик-робного фона.

Проведены сравнительные исследования образцов свежей и подвергнутой технологической обработке продукции (смородина — конвекционная сушка, слива — шоковая заморозка). После конвекционной сушки количество плесневых грибов в среднем осталось на том же уровне, но при этом изменилось соотношение между «чистыми» и «грязными» образцами, а с учётом более строгого норматива для высушенных ягод (не более 100 КОЕ/г) возросло количество не соответствующих нормативам образцов с двух в группе свежих до четырёх в группе прошедших обработку (из 8 исходных). Значительного изменения бактериального фона не произошло. Число обнаруженных видов МТ в «высушенных» образцах увеличилось до семи по сравнению с пятью в «свежих», что может быть обусловлено возрастанием минорных количеств МТ до уровней, детектируемых выше предела количественного обнаружения вследствие снижения массовой доли влаги при сушке.

Рассматривая конвекционную сушку как способ производства безопасной и стабильной в микробиологическом отношении продукции, надо учитывать, что температура плюс 50 °С не обеспечивает потери жизнеспособности спор плесеней, а лишь останавливает рост мицелия при влажности, пониженной до 3–5%.

Шоковая заморозка слив не повлияла на уровень плесневого загрязнения образцов, который был изначально низким, однако в замороженных образцах наблюдался повышенный бактериальный фон: среднее значение в группе «замороженных» возросло более чем в 5 раз по сравнению со «свежими», а число образцов, не соответствующих нормативу, увеличилось с 3 до 5. Также надо отметить, что условия шоковой заморозки при температуре минус 45 °С не оказывают инaktivизирующего действия на микрофлору. Оба способа как методы консервации оказывают бактериостатическое действие на микрофлору, а микробиологическая чистота переработанной продукции обеспечивается в первую очередь качеством исходного сырья.

Исследование содержания МТ и ЭМТ в плодово-ягодной продукции свидетельствует о её загрязнении широким спектром токсинов и их производных, в том числе о присутствии как регламентируемых в других видах пищевой продукции фузариотоксинов, афлатоксинов, ократоксина А, патулина, так и эмерджентных МТ (альтернариотоксины, β-зеараленол, ниваленол, боверицин, энниатины, монилиформин, цитринин, микофеноловая кислота). Корреляция между обнаружением в плодах МТ и ЭМТ и жизнеспособными формами их потенциальных продуцентов (*Alternaria*, *Fusarium* и *Penicillium*) была установлена для большинства проб малины и крыжовника. В то же время для значительной доли протестированных образцов такой корреляции не выявлено (см. табл. 2). Так, практически во всех пробах клубники присутствовали различные фузариотоксины (FB1, FB2, DON, T2, HT2, ZEA, β-ZEL, BEA и Enn), однако среди выявленных микроорганизмов их продуценты рода *Fusarium* отсутствовали. Аналогичные данные были получены для красной смородины, слив и кизила. Такая ситуация могла быть следствием развития потенциальных продуцентов этих микотоксинов (например, фитопатогенных видов *F. oxysporum* или *F. sambucinum*) во внутренних частях растения, в том числе в листьях и корнях.

Известно, что фитопатогены, поражая корневую систему, способны проникать и в другие органы растения, в результате чего в плодах могут присутствовать синтезированные ими МТ, что не всегда сопровождается видимыми признаками порчи. Отсутствие признаков порчи фруктов, ягод, овощей при наличии в них МТ отмечено авторами некоторых публикаций. Так, при исследованиях спаржи показана возможность миграции МТ из почвы в съедобную часть растения через корневую систему [12, 13].

Характер загрязнения плодово-ягодной продукции грибами и МТ во многом определяется целостностью внешних оболочек плодов и ягод, их способностью препятствовать поверхностному инфицированию и миграции этих агентов во внутренние ткани; большое значение имеет также диффузия МТ из повреждённых участков в здоровые ткани растений [14]. Установлено, что незрелые плоды с плотной оболочкой препятствуют проникновению гиф грибов в глубины плода, а при созревании оболочки плодов становятся более уязвимыми [15–17]. Ягоды, растущие на низкорослых растениях ближе к земле и имеющие менее плотную оболочку, более уязвимы к поражению микромицетами, в том числе токсигенными, что видно по широкому спектру МТ, обнаруженных в клубнике. Микотоксигенный потенциал грибных контаминантов во многом зависит от условий внешней среды.

Таким образом, показано, что отсутствие как видимых признаков порчи ягод и плодов, так и эпифитной флоры потенциально микотоксигенных плесневых грибов в их составе не всегда коррелирует с отсутствием в них МТ.

Результаты исследований, проведённых на относительно небольшой выборке, свидетельствуют о контаминации плодово-ягодной продукции широким спектром регламентированных и эмерджентных МТ, что подтверждает необходимость углублённого изучения загрязнённости этих видов продуктов микотоксинами, представляющими опасность для здоровья, для последующей оценки риска их поступления в организм человека.

Заключение

Охарактеризована контаминация микроскопическими грибами и бактериями доброкачественных свежих ягод и плодов (клубники, малины, крыжовника, красной и чёрной смородины, слив, кизила), полученных в основном из Тамбовской области. В 80% проб содержание плесеней и общая микробная обсеменённость были на безопасном уровне и не превышали нормативных значений, установленных для аналогичных видов быстрозамороженной плодово-ягодной продукции. По уровням и частоте содержания плесеней наиболее загрязнёнными были образцы клубники и малины, наименее загрязнёнными — слива и кизил.

Анализ таксономического состава жизнеспособных плесеней, выделенных при микологическом посеве из свежей, замороженной и сушёной плодово-ягодной продукции, показал, что наиболее распространёнными были грибы рода *Alternaria*, обнаруженные в большинстве видов плодов (5 из 8) и доминирующие в крыжовнике, смородине и сливе. В клубнике преобладали *Aspergillus* spp., в малине — грибы порядка *Mucorales*. Установлено, что видовой состав поверхностной микрофлоры плодов и ягод существенно отличается от состава потенциальных плесневых продуцентов МТ, обнаруженных в этой же продукции, что свидетельствует о возможном развитии токсигенных видов во внутренних частях растения без видимых признаков порчи у плодов. Результаты исследования подтверждают, что мониторинг широкого спектра микотоксинов в плодово-ягодной продукции важен для выявления менее очевидных источников пищевого воздействия на организм человека.

Литература

(п.п. 1–4, 8, 12–17 см. References)

5. Ганнибал Ф.Б. *Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода Alternaria*. СПб.; 2011.
6. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. *Определитель патогенных и условно патогенных грибов*. Пер. с англ. М.: Мир; 2001.
7. Чалый З.А., Киселева М.Г., Седова И.Б., Минаева Л.П., Шевелева С.А., Тутельян В.А. Изучение контаминации сухофруктов микотоксинами. *Вопросы питания*. 2021; 90(1): 33–9. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-1-33-39>
9. Дьяков Ю.Т., ред. *Фундаментальная фитопатология*. М.: Красанд; 2012.
10. Полунина Т.С., Выборнова М.В., Лавринова В.А. Фитопатогены на ягодах малины. *Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия*. 2020; 29: 210–3. <https://doi.org/10.30679/2587-9847-2020-29-210-213>
11. Минаева Л.П., Полянина А.С., Киселева М.Г., Чалый З.А., Ефимочкина Н.Р., Шевелева С.А. Изучение контаминации сухофруктов токсигенными плесневыми грибами. *Гигиена и санитария*. 2021; 100(7): 717–23. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-7-717-723>

References

1. Fernández-Cruz M.L., Mansilla M.L., Tadeo J.L. Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications. *J. Adv. Res.* 2010; 1(2): 113–22. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2010.03.002>
2. Oyarzabal O., Backert S., eds. *Microbial Food Safety*. Springer Science+Business Media; 2012.
3. Samson R.A., Visagie C.M., Houbraken J., Hong S.B., Hubka V., Klaassen C.H., et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Stud. Mycol.* 2014; 78: 141–73. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.004>
4. Visagie C.M., Houbraken J., Frisvad J.C., Hong S.B., Klaassen C.H., Perrone G., et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Stud. Mycol.* 2014; 78: 343–71. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>
5. Gannibal F.B. *Monitoring of Alternarioses of Crops and Identification of Fungi of the Genus Alternaria. A Manual [Monitoring al'ternariozov sel'skokhozyaystvennykh kul'tur i identifikatsiya gribov roda Alternaria]*. St. Petersburg; 2011. (in Russian)
6. Sutton D.A., Fothergill A.W., Rinaldi M.G. *Guide to Clinically Significant Fungi*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1998.
7. Chalyy Z.A., Kiseleva M.G., Sedova I.B., Minaeva L.P., Sheveleva S.A., Tutel'yan V.A. Dried fruits marketed in Russia: multi-mycotoxin contamination. *Voprosy pitaniya*. 2021; 90(1): 33–9. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-1-33-39> (in Russian)
8. Petrasch S., Knapp S.J., van Kan J.A.L., Blanco-Ulate B. Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. *Mol. Plant Pathol.* 2019; 20(6): 877–92. <https://doi.org/10.1111/mp.12794>
9. D'yakov Yu.T., ed. *Fundamental Phytopathology [Fundamental'naya fitopatologiya]*. Moscow: Krasand; 2012. (in Russian)
10. Polunina T.S., Vybornova M.V., Lavrinova V.A. Phytopathogens on raspberries. *Nauchnye trudy Severo-Kavkazskogo federal'nogo nauchnogo tsentra sadovodstva, vinogradarstva, vinodeliya*. 2020; 29: 210–3. <https://doi.org/10.30679/2587-9847-2020-29-210-213> (in Russian)
11. Minaeva L.P., Polyaniina A.S., Kiseleva M.G., Chalyy Z.A., Efimochkina N.R., Sheveleva S.A. Dried fruits marketed in Russian: toxigenic mold contamination. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2021; 100(7): 717–23. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-7-717-723> (in Russian)
12. Lugauskas A., Stakeniene J. Toxin producing micromycetes on fruit, berries, and vegetables. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2002; 9(2): 183–97.
13. Waškiewicz A., Irzykowska L., Bocianowski J., Karolewski Z., Weber Z., Goliński P. Fusariotoxins in asparagus – their biosynthesis and migration. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* 2013; 30(7): 1332–8. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.796095>
14. Enikova R. *Biological Health of Fruits and Vegetables. Prevention of Well-Known Storage Damage*. Union of the Processors of Fruit and Vegetables; 2018. (in Bulgarian)
15. Montet D., Ray R.C. *Fermented foods. Part I: Biochemistry and Biotechnology*. CRC Press of Taylor & Francis Group; 2015.
16. Jay J.M., Loessner M.J., Golden D.A. *Modern Food Microbiology*. Springer Science+Business Media. Inc.; 2005.
17. Enikova R.K., Stoynovska M.R., Karcheva M.D. Mycotoxins in fruits and vegetables. *J. IMAB*. 2020; 26(2): 3139–43. <https://doi.org/10.5272/jimab.2020262.3139>