



Минаева Л.П., Полянина А.С., Киселева М.Г., Чалый З.А., Ефимочкина Н.Р.,
Шевелева С.А.

Изучение контаминации сухофруктов токсигенными плесневыми грибами

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», 109240, Москва, Россия

Введение. Сухофрукты – ценный источник пищевых волокон, ряда витаминов и минеральных элементов в рационе питания населения. Однако высокое содержание легкодоступных углеводов делает этот вид продукции уязвимым к контаминации плесневыми грибами, наибольшую опасность среди которых представляют токсигенные виды. Но научной информации о загрязнённости сухофруктов, представленных на российском рынке, плесневыми грибами – продуцентами микотоксинов практически нет, что не позволяет судить об этом аспекте безопасности пищи.

Материалы и методы. Культуральными методами анализа изучена контаминация плесневыми грибами и бактериями 57 образцов сухофруктов 7 популярных в России видов. Из сухофруктов выделены моноспорные изоляты плесневых грибов, токсинообразование которых исследовано в условиях *in vitro*, анализ микотоксинов проводили методом УВЭЖХ-МС/МС в режиме мультидетекции.

Результаты. В целом микробная загрязнённость сухофруктов, в большинстве обусловленная плесневыми грибами, была низкой: 87,7% образцов отвечали установленным микробиологическим нормативам. При этом наибольшей степенью загрязнённости отличались финики. В микрофлоре всех видов сухофруктов доминировали виды *Aspergillus*. Среди выделенных 33 изолятов плесеней 45,5% оказались токсигенными, способными в условиях *in vitro* к биосинтезу значительных количеств микотоксинов, включая эмерджентные. У штаммов *Aspergillus* секции *Nigri* обнаружена фумонизин- и охратоксин-продуцирующая активность. На модельных средах у отдельных штаммов накопление микотоксинов превышало значения, нормируемые в пищевой продукции, в том числе (в мкг/кг): для афлатоксинов B_1 – более 32 000 и B_2 – 3230, фумонизина B_2 – более 3100, охратоксина А – до 4,3; для эмерджентных накопление достигало: стеригматоцистина – до 6 218 220 и цитреовиридина – 153.

Заключение. Плесневые грибы являются основным видом микрофлоры, контаминирующей сухофрукты. Установлена способность плесневых изолятов из сухофруктов к образованию микотоксинов, среди которых выявлены высокотоксигенные штаммы. Это свидетельствует о наличии потенциального риска загрязнения данного вида пищевой продукции микотоксинами, в том числе не нормируемыми в ней, и возможном увеличении их содержания в рационах потребителей за счёт данного источника. Полученные результаты обосновывают необходимость широкого мониторинга продуцентов микотоксинов в сухофруктах для прогноза риска токсинообразования и связи конкретных микотоксинов с определёнными видами сухофруктов. Наличие токсигенной активности у плесневых грибов, выделенных из сухофруктов, показано в России впервые.

Ключевые слова: токсигенные штаммы; *Aspergillus*; токсинообразование; *in vitro*; микотоксины; эмерджентные микотоксины; УВЭЖХ-МС/МС

Для цитирования: 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): 717-723. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-7-717-723>

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

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

Финансирование. Исследование выполнено при финансировании РНФ (грант № 18-16-00077).

Участие авторов: Минаева Л.П. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка результатов микробиологических исследований, написание и редактирование текста, ответственность за целостность всех частей статьи; Полянина А.С., Ефимочкина Н.Р. – сбор и обработка результатов микробиологических исследований; Киселева М.Г., Чалый З.А. – сбор и обработка результатов УВЭЖХ-МС/МС исследований; Шевелева С.А. – редактирование. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи.

Поступила 08.10.2020 / Принята к печати 18.05.2021 / Опубликована 31.07.2021

Lyudmila P. Minaeva, Anna S. Polyagina, Mariya G. Kiseleva, Zakhar A. Chalyy,
Natalia R. Efimochkina, Svetlana A. Sheveleva

Dried fruits marketed in Russian: toxigenic mold contamination

Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology, Moscow, 109240, Russia

Introduction. Dried fruits are a valuable source of dietary fibre, many vitamins and minerals in the population's diet. However, the high content of readily available carbohydrates makes this type of product vulnerable to mould contamination. The greatest danger among which are toxigenic species. But there is practically no scientific information about the contamination presented on the Russian market dried fruits with moulds producing mycotoxins. That does not allow judging about this aspect of food safety.

Materials and methods. Contamination with moulds and bacteria of 57 samples of dried fruits of 7 species popular in Russia was studied using cultural methods of analysis. Monospore isolates of moulds were isolated from dried fruits; *in vitro* mycotoxins production studied; by UHPLC-MS / MS analyzed mycotoxins in the multidetection mode.

Results and discussion. In general, the microbial contamination of dried fruits was low: 87.7% of the samples met the established microbiological standards, in most cases, moulds caused it. At the same time, the highest frequency and levels of contamination were found in dates. *Aspergillus* sp. dominated in the microflora of all types of dried fruits. Among the isolated 33 strains of moulds, 45.5% turned out to be toxigenic and, *in vitro*, were capable of biosynthesis of significant amounts of several types of mycotoxins, including emergent mycotoxins. Fumonisin- and ochratoxin-producing activities have been found in *Aspergillus* strains of the *Nigri* section. In model experiments, the accumulation of mycotoxins in individual strains exceeded the level normalized in grain products, including (in µg/kg): for aflatoxins B_1 - more than 32000 and B_2 - 3230; fumonisin B_2 - more than 3100; ochratoxin A up to 4.3; for emergent accumulation reached: sterigmatocystin up to 6218220 and citreoviridine - 153.

Conclusion. Moulds are the main type of microflora that contaminates dried fruits. The ability of mould isolates from dried fruits to form mycotoxins has been established, among which highly toxigenic strains have been identified. This indicates the presence of a potential risk of contamination of this type of food with

unregulated mycotoxins and a possible increase in their content in the diets of consumers. The results obtained substantiate the need for extensive monitoring of mycotoxin producers in dried fruits. This is important for predicting the risk of toxin formation and identifying the relationship of specific mycotoxins with certain types of dried fruits. The presence of toxigenic activity of moulds isolated from dried fruits has been shown in Russia for the first time.

Keywords: toxigenic strains; *Aspergillus*; mycotoxins production; *in vitro*; mycotoxins; emergent mycotoxins; UHPLC-MS/MS

For citation: Minaeva L.P., Polyana A.S., Kiseleva M.G., Chalyy Z.A., Efimochkina N.R., Sheveleva S.A. Dried fruits marketed in Russian: toxigenic mold contamination. *Gigiene i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2021; 100 (7): 717–723. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-7-717-723> (In Russ.)

For correspondence: Luydmila P. Minaeva, PhD in Technical Sciences, senior researcher at the laboratory of biosafety and nutr microbiome analysis, Federal Research Centre of Information and Biotechnology, Moscow, 109240, Russian Federation. E-mail: liuminaeva-ion@mail.ru

Information about the authors:

Minaeva L.P., <http://orcid.org/0000-0003-1853-5735>; Polyana A.S., <https://orcid.org/0000-0002-2766-7716>; Kiseleva M.G., <https://orcid.org/0000-0003-1057-0886>; Chalyy Z.A., <https://orcid.org/0000-0002-9371-8163>; Efimochkina N.R., <http://orcid.org/0000-0002-9071-0326>; Sheveleva S.A., <https://orcid.org/0000-0001-5647-9709>

Contribution: Minaeva L.P. — concept and design of the study, collection and processing of material of microbiological studies, writing and editing of the manuscript, responsibility for the integrity of all parts of the article; Polyana A.S., Efimochkina N.R. — collection and processing of material of microbiological studies; Kiseleva M.G., Chalyy Z.A. — collection and processing of material UHPLC-MS/MS research results; Sheveleva S.A. — editing. All authors — approval of the final version of the article.

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

Acknowledgement. The study was supported by Russian Science Foundation (grant No 18-16-00077).

Received: October 8, 2020 / Accepted: May 18, 2021 / Published: July 31, 2021

Введение

Высушенные фрукты в рационе человека являются источником комплекса витаминов, минералов, углеводов, пищевых волокон, органических кислот, доступным в течение всего года. В последнее время отмечается значительное увеличение удельного веса этого вида продукта в рационе питания населения многих стран, в том числе в РФ. На российском рынке самым востребованным видом таких продуктов является изюм, импортируемый в основном из Ирана, Узбекистана, Турции, Чили, Афганистана, далее по популярности следуют сушёные финики, чернослив и курага [1].

Хотя сухофрукты не относятся к скоропортящимся продуктам, но высокое содержание легкодоступных углеводов делает их уязвимыми к контаминации плесневыми грибами на всех стадиях производства. При вегетации фруктов существует вероятность поражения фитопатогенными видами *Fusarium* spp. и *Alternaria* spp. [2], а на этапах переработки, транспортировки и хранения сапрофитами — *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. [3], способными к росту и токсинообразованию при низкой влажности и высоком содержании углеводов. Наличие плесневой контаминации не всегда указывает на присутствие микотоксинов (МТ), но всегда повышает опасность их образования. Контаминация продовольственного растительного сырья МТ является одной из наиболее острых проблем безопасности, так как они обуславливают канцерогенное, мутагенное, тератогенное, эстрогенное действие на организм человека, вызывают репродуктивные расстройства и подавление иммунной системы [4, 5]. О масштабах и последствиях контаминации сухофруктов токсигенными грибами косвенно можно судить по отчётам RASFF¹, согласно которым МТ неизменно составляют категорию наивысшего риска, и каждый год они входят в десятку опаснейших на протяжении последних 10 лет [5]. При этом на долю сухофруктов приходится в среднем около 10% от числа всех уведомлений по превышению нормативов на МТ, фиксируемых в импортируемой в ЕС продукции. Чаще всего эти инциденты связаны с превышением содержания афлатоксинов (AFLs) в инжире, в меньшей степени охратоксина А (ОТА) (преимущественно в изюме, а также кураге, смородине и инжире) [6]. Всё это свидетельствует об активном токсинообразовании на послеуборочных стадиях переработки фруктов, обусловленном развитием токсигенных видов *Aspergillus* spp. и *Penicillium* spp.

Плесневые грибы способны продуцировать сотни метаболитов. Применение методов на основе высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС/МС) в формате мультидетекции значительно расширило представления о профилях токсичных

метаболитов плесневых грибов. Так, в исследованиях последних лет среди наиболее распространённых контаминантов пищевой продукции — грибов рода *Aspergillus*, показаны новые виды токсигенной активности. Описана способность некоторых видов *Aspergillus* секции *Nigri* продуцировать фумонизины В2 и В4 (FB2 и FB4) и ОТА, которые ранее связывали главным образом с грибами рода *Fusarium* и с *Aspergillus* секции *Flavi* соответственно [7, 8], в связи с высокой токсикологической опасностью этих МТ, существует необходимость в оценке потенциального риска для здоровья людей продукции, контаминированной видами *Aspergillus* секции *Nigri*, и в более подробном изучении токсигенных свойств штаммов, выделенных из сухофруктов.

Данные о наличии плесневых грибов в сухофруктах — важный критерий для прогнозирования возможности накопления МТ, а мониторинг продукции в части её контаминации токсигенными видами грибов позволяет оценить их распространённость по группам продукции, регионам происхождения, выявлять новые риски, что составляет основу обеспечения безопасности пищевых продуктов.

Цель настоящего исследования — изучение контаминации сухофруктов, представленных на потребительском рынке РФ, токсигенными плесневыми грибами на фоне микробиологического состояния этого вида продукции.

Материалы и методы

Исследовано 57 образцов сухофруктов: монокомпонентных (финики, абрикос, изюм, инжир, чернослив, яблоки) и смесей сухофруктов (компотные смеси). Образцы сухофруктов отечественного и импортного происхождения (Армения, Таджикистан, Узбекистан, Алжир, Аргентина, Иран, США, Тунис, Турция, Чили) были отобраны из розничной торговой сети Московского региона. Состав многокомпонентных образцов и происхождение представлены в дополнительных материалах (табл. 1П и 2П).

Микробиологический анализ. Микологический посев проводили по ГОСТ 10444.12-2013². Из посевов сухофруктов выделяли моноспорные изоляты (МСИ) плесневых грибов, таксономическую идентификацию которых проводили по фенотипическим характеристикам в соответствии с Samson и соавт. [9, 10], для морфологически схожих видов указывали принадлежность к секции видов. Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) определяли по ГОСТ 10444.15-94³, бактерии

² ГОСТ 10444.12-2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчёта количества дрожжей и плесневых грибов [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200107308> (дата обращения: 16.09.2020).

³ ГОСТ 10444.15-94. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200022648> (дата обращения: 16.09.2020).

Таблица 1П / Table 1P

Состав многокомпонентных образцов сухофруктов**Composition of multicomponent samples of dried fruits**

№ образца Sample no	Компонентный состав Component composition
3	Абрикос (урюк), яблоки, груша, вишня, чернослив Apricot (uryuk), apples, pear, cherry, prunes
4	Абрикос (урюк), яблоко сушеное (дольки), вишня сушеная с косточкой, чернослив с косточкой Apricot (uryuk), dried apple (slices), dried cherries with stone, prunes with pits
7	Абрикос (курага), сливы черные, инжир Apricot (dried apricots), black plums, figs
13	Яблоки, груши, абрикос (курага), чернослив Apples, pears, apricot (dried apricots), prunes
14	Груши, яблоки, шиповник, алыча, абрикос (курага), сливы, изюм Pears, apples, wild rose, cherry plum, apricot (dried apricots), plums, raisins
21	Абрикосы (урюк), виноград, груша, яблоки, чернослив Apricots (uryuk), grapes, pear, apples, prunes
24	Абрикосы (урюк), виноград черный, груша, яблоки, чернослив с косточкой Apricots (uryuk), black grapes, pear, apples, prunes with pits
39	Абрикос (урюк), яблоко, черешня с косточкой, груша, чернослив с косточкой, персик, алыча с косточкой Apricot (uryuk), apple, cherry with stone, pear, prunes with pits, peach, cherry plum with stone
58	Абрикос (урюк), яблоко, груша, алыча, изюм Apricot (uryuk), apple, pear, cherry plum, raisins

Таблица 2П / Table 2P

Происхождение образцов сухофруктов**Origin of dried fruit samples**

Вид сухофрукта Type of dried fruit	Количество образцов Number of samples	Страна происхождения (количество образцов) Country of origin (number of samples)
Чернослив Prunes	7	Аргентина (1), Армения (1), Чили (1), США (1), «не указано» (3) Argentina (1), Armenia (1), Chile (1), USA (1), "not specified" (3)
Яблоки сушеные Dried apples	3	Российская Федерация (3) Russian Federation (3)
Абрикосы сушеные Dried apricots	9	Таджикистан (3), Турция (2), «не указано» (4) Tajikistan (3), Turkey (2), "not specified" (4)
Инжир Fig	7	Турция (3), «не указано» (4) Turkey (3), "not specified" (4)
Компотная смесь Compote mixture	9	Таджикистан (3), Российская Федерация (5), Узбекистан (1) Tajikistan (3), Russian Federation (5), Uzbekistan (1)
Изюм Raisins	11	Узбекистан (1), «не указано» (10) Uzbekistan (1), "not specified" (10)
Финики Dates	11	Иран (6), Алжир (2), Тунис (1), «не указано» (2) Iran (6), Algeria (2), Tunisia (1), "not specified" (2)

группы кишечных палочек (БГКП) по ГОСТ 31747-2012⁴ патогенные, в том числе сальмонеллы, по ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002)⁵.

Исследование токсинообразования в условиях *in vitro* проводили на модельных средах: картофельно-сахарозный агар (КСА) (PDA), агар Чапека с дрожжевым экстрактом и сахарозой (CY20S), а также на зерне риса с относительной влажностью 20% [10, 11]. МСИ предварительно культивировали

на среде КСА (7 сут при 24 ± 1 °C), затем делали смыв стерильным физраствором. Полученной споровой суспензией по 0,1 мл инокулировали каждую пробирку с 2 г стерильной питательной среды (в трех повторностях). После инкубирования (12 сут при 27 ± 1 °C) из ферментированной среды (субстратного мицелия) экстрагировали МТ.

Приготовление экстракта из субстратного мицелия для анализа МТ. В каждую пробирку с ферментированной средой вносили по 5 мл экстрагента (ацетонитрил/вода/уксусная кислота – 80/20/0,5% об.), перемешивали на вортексе, выдерживали 1 ч в ультразвуковой бане, после чего 1 ч интенсивно встряхивали на шейкере. Далее центрифугировали при 4000 g 10 мин, отбирали 1 мл супернатанта, к которому добавляли 1 мл воды (milliQ), после перемешивания повторно центрифугировали при 10 000 g 10 мин. Супернатант 1 мл переносили в хроматографическую виалу для анализа. В ка-

⁴ ГОСТ 31747-2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200098583> (дата обращения: 16.09.2020).

⁵ ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002). Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella* [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200098239> (дата обращения: 16.09.2020).

Таблица 1 / Table 1

Распределение образцов сухофруктов по уровням микробной загрязнённости

Distribution of dry fruit samples by microbial contamination levels

Показатель, КОЕ/г Indicators, CFU/g	Чернослив Prunes n = 7	Яблоки Apples n = 3	Абрикосы Apricots n = 9	Инжир Fig n = 7	Компотная смесь Compote mix n = 9	Изюм Raisins n = 11	Финики Dates n = 11
<i>Плесени (дрожжи)</i> <i>Mold (yeast)</i>							
Среднее Average	< 5	< 5	< 5	6	83	$1.3 \cdot 10^4$	$5.7 \cdot 10^2$ ($1.7 \cdot 10^{3*}$)
Диапазон значений Range of values	< 5	< 5	< 5	< 5–40	< 5 – ($5.4 \cdot 10^2$)	< 5 – ($1.4 \cdot 10^5$)	< 5 – ($4 \cdot 10^3$) ($1.7 \cdot 10^{3*}$)
Уровни загрязнения Contamination levels	Число образцов по уровням загрязнения Number of samples by contamination levels						
< 5	7	0	0	6	5	6	2 (10*)
5–500	0	3	0	1	3	5	5 (0*)
> 500	0	0	0	0	1	1	4 (1*)
<i>Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов</i> <i>Total Mesophilic Aerobic and Facultative Anaerobic Microbial Count (TMAFaMC)</i>							
Среднее Average	< 15	< 15	$1.1 \cdot 10^3$	74	$2 \cdot 10^3$	25	$1.1 \cdot 10^4$
Диапазон значений Range of values	< 15	< 15	< 15 – ($7.3 \cdot 10^3$)	< 15 – ($2.6 \cdot 10^2$)	< 15 – ($7.5 \cdot 10^3$)	< 15 – ($7.5 \cdot 10^3$)	< 15 – ($1.2 \cdot 10^5$)
Уровни загрязнения Contamination levels	Число образцов по уровням загрязнения Number of samples by contamination levels						
< 15	7	3	2	5	1	7	4
$15-5 \cdot 10^4$	0	0	7	2	8	4	6
$> 5 \cdot 10^4$	0	0	0	0	0	0	1

Примечание. * – дрожжи. КОЕ – колониеобразующие единицы.

Note. * yeasts. CFU – Colony Forming Units.

честве отрицательного контроля использовали экстракты стерильных питательных сред. Стандартное отклонение для трёх повторностей (посевов на питательные среды) анализа микотоксинов в экстрактах из субстратного мицелия составляло 7,4%, получено с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel.

Определение 28 микотоксинов проводили методом УВЭЖХ-МС/МС в режиме мультидетекции по методике, приведённой в [12]. Определяемые аналиты: альтернуен (ALT), альтернариол (AON), AFL (B1, B2, G1 и G2), 3- и 15-ацетил дезоксиниваленол (3- и 15-AcDON), боверицин (BEA), дезоксиниваленол (DON), диацетоксискирпенол (DAS), α - и β -зеараленол (α - и β -ZEL), зеараленол (ZEN), метиловый эфир альтернариола (AME), неосоланиол (NeoS), ОТА, стеригматоцистин (STC), тентоксин (TE), Т-2 токсин (Т-2), НТ-2 токсин (НТ-2), Т-2 триол (Т-2 triol), фузаренон Х (4-ацетил ниваленол) (FusX), фумонизины B1 и B2 (FB1 и FB2), цитреовиридин (CTV), энниатины А, В (ENN A, B). Для исключения влияния матрикса и получения ложноположительных результатов стандарты МТ разводили в экстрактах соответствующих питательных сред.

Результаты

Определение микробной загрязнённости сухофруктов. На первом этапе оценивали контаминацию сухофруктов плесневыми грибами, а также бактериальный фон. В РФ и стра-

нах ЕАЭС, согласно техническому регламенту «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011)⁶, установлены требования к микробиологической безопасности сухофруктов в отношении грибной микрофлоры, обладающей потенциалом токсинообразования: содержание плесневых грибов и дрожжей – 500 КОЕ/г, не более; а также бактериальной, характеризующей общее гигиеническое состояние производства: КМАФАнМ – $5 \cdot 10^4$ КОЕ/г, не более; БГКП – в 0,1 г не допускается; патогенные, в том числе сальмонеллы, в 25 г не допускаются.

Результаты микробиологических исследований 57 видов сухофруктов отечественного и импортного происхождения представлены в табл. 1. По содержанию **плесневых грибов** наиболее контаминированными оказались финики из Ирана, в 4 из 6 образцов до $4 \cdot 10^3$ КОЕ/г; в изюме только в 1 образце из Узбекистана было значительное превышение – $1,4 \cdot 10^5$ КОЕ/г; в 1 образце компотной смеси, расфасованном в РФ, также было незначительное превышение – $5,4 \cdot 10^2$ КОЕ/г. По **дрожжам** превышение норматива было только в 1 из 2 образцов фиников из Алжира –

⁶ ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции: технический регламент Таможенного союза / утв. Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 880 [Электронный ресурс]. КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. URL: <https://docs.cntd.ru/document/902320560> (дата обращения: 20.11.2019).

Таблица 2 / Table 2

Характеристики токсигенных грибов, выделенных из сухофруктов

Characteristics of toxigenic molds isolated from dried fruits

Число изолятов: всего/токсигенных Number of isolates: total / toxigenic	Содержание в образце, КОЕ/г Content in the sample, CFU/g	Видовой состав жизнеспособных плесневых грибов (количество изолятов) Species composition of viable moulds (number of isolates)	Происхождение Origin	Содержание МТ в питательных средах MT content in nutrient substrate	
				> ПКО*, мкг/кг** > LOQ*, µg/kg**	< ПКО (следы) < LOQ (traces)
Инжир / Fig					
1/1	10 ¹	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> (1)	н/д (n/d)	AFLB2: 1,85–56 AFLG2: 21	–
Компотная смесь / Compote mix					
7/4	10 ¹	<i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> (1)	Таджикистан / Tajikistan	FB2: 565–3116	–
	10 ¹	<i>Aspergillus</i> spp. section <i>Nigri</i> (1)	н/д (n/d)	–	–
	10 ¹	<i>Aspergillus</i> section <i>Ochraceorosei</i> (<i>Flavi</i>) (1)	РФ / RF	AFLB1: 32980; AFLB2: 3230; STC: 702	–
	10 ¹	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> (1)	РФ / RF	AFLB2: 0,45	–
	10 ¹	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> (1)	РФ / RF	–	STC
	10 ¹	<i>Penicillium</i> spp. (2)	Таджикистан / Tajikistan	–	–
Финики / Dates					
18/5	10 ²	<i>Aspergillus</i> section <i>Ochraceorosei</i> (1)	Иран / Iran	STC: 237000–6218000	–
	10 ²	<i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> (1)	Иран / Iran	ОТА: 4,3	–
	10 ¹	<i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> (1)	н/д (n/d)	ОТА: 0,22	–
	10 ¹ –10 ²	<i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> (11)	Иран / Iran (10), Тунис / Tunisia (1)	–	–
	10 ³	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> (1)	Иран / Iran	–	STC
	10 ²	<i>Penicillium</i> spp. (1)	Иран / Iran	ОТА: 3,1; CTV: 153	–
	10 ²	<i>Penicillium</i> spp. (1)	н/д (n/d)	–	–
	10 ²	<i>Penicillium</i> spp. (1)	Иран / Iran	–	–
Изюм / Raisins					
7/1	10 ²	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> (1)	н/д (n/d)	–	STC
	10 ¹ –10 ² 10 ⁵ ***	<i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> (6)	РФ / RF (3) н/д (n/d) (3)	–	–

Примечание. * – ПКО предел количественного обнаружения; ** – количество МТ приведено в пересчёте на 1 кг питательного субстрата; (***) – только в одном образце; «–» – МТ не обнаружены; н/д – нет данных.

Note. * – LOQ Limit of Quantitation; ** – the amount of MT in µg / per kg of nutrient substrate; *** – only in one sample; “–” – MTs were not found; n/d – no data. STC – sterigmatocystin.

1,7 · 10³ КОЕ/г. При этом все образцы сушёных чернослива, яблок, абрикосов и инжира независимо от региона происхождения отвечали гигиеническим требованиям.

Определение **бактериальной контаминации** важно при оценке общего гигиенического состояния производства и характеризует условия сбора, переработки и транспортировки. Кроме того, в природных ареалах спорообразующие бактерии являются антагонистами плесневых грибов в борьбе за субстрат, подавляя их развитие и токсинообразование. По полученным результатам 56 из 57 исследованных образцов соответствовали нормативу по КМАФАнМ, превышение обнаружено только в 1 образце фиников из Алжира – 1,2 · 10⁵ КОЕ/г. Бактериальная контаминация была обусловлена преимущественно спорообразующими бактериями *Bacillus* spp. Ни в одном образце не были выявлены на нормируемом уровне БГКП и патогены рода *Salmonella*. В целом установленным микробиологическим требованиям безопасности не соответствовали 7 из 57 (12,3%) образцов. Наибольшие уровни и частота плесневого и бактериального загрязнения выявлены у фиников.

Исследование токсигенных свойств плесневых грибов в условиях in vitro. На втором этапе для исследования токсигенных свойств плесневых контаминантов сухофрук-

тов из микологических посевов были отобраны 33 изолята плесневых грибов, из которых: *Aspergillus* секции *Nigri* – 21 (63,6%), *Aspergillus* секции *Flavi* – 5 (15%), *Aspergillus* секции *Ochraceorosei* (*Flavi*) – 2 (6%) и *Penicillium* spp. – 5 (15%).

Моноспорные изоляты плесневых грибов культивировали на трёх видах питательных сред, рекомендованных для контроля токсинообразования [9], а также на стерильном зерне риса [11]. Экстракты субстратного мицелия анализировали по 28 анализам, включающим регламентируемые и эмерджентные МТ. В табл. 2 представлены данные по числу токсигенных изолятов, уровню присутствия в образце (в пределах логарифмического порядка), видовому составу, происхождению и максимальным количествам МТ, накопленным в модельных средах. Самые высокие уровни токсинообразования были получены на зёрнах риса – на субстрате с минимальной влажностью (20%).

Наибольшее число токсигенных изолятов – 5 – было выделено из фиников, меньше – 4 – из компотной смеси и по одному из инжира и изюма. Среди изолятов *Aspergillus* секции *Nigri* были обнаружены продуценты: ОТА – 2 штамма, FB2 – 1 и остальные 18 нетоксигенные; из изолятов *Aspergillus* секции *Flavi* продуценты: AFLs (B2, G2) – 2 штамма и STC – 3;

совместная продукция AFLs (B1, B2) и STC была у 2 штаммов *Aspergillus* секции *Ochraceorosei* (*Flavi*), а среди *Penicillium* spp. один штамм продуцировал OTA и CTV и 4 были нетоксигенные.

Обсуждение

Анализ микробиологического состояния 57 образцов семи видов сухофруктов (шесть монокомпонентных и одна смесь) отечественного и импортного происхождения в основном показал соответствие установленным в ТР ТС 021/2011 микробиологическим требованиям безопасности: в 50 образцах из 57 (87,7%). В 6 из 7 не соответствующих образцов основным источником контаминации были плесневые грибы, а в одном дрожжи и общее количество микроорганизмов. Наиболее загрязнённым видом сухофруктов среди исследованных как по количеству плесеней, так и бактерий оказались финики.

Полученные результаты согласуются с данными других исследователей, в частности в исследовании Ozer H. и соавт. [14] отмечено, что плесень вносит наибольший вклад в порчу сухофруктов. Если влажность сушённых фруктов колеблется от 2 до 22% в зависимости от вида фруктов [14], то большинство сухофруктов обладают достаточно низкой активностью воды, высокой кислотностью и содержанием сахаров, получаемых в результате сушки. В таких условиях рост бактерий практически прекращается, но возможен рост ксерофильных микромицетов, плесневых грибов. Однако плесень вносит наибольший вклад в порчу сухофруктов [15].

Среди 57 исследованных образцов только в 20 (35%) обнаруживался рост плесневых грибов, из них в 17 максимальные уровни контаминации определяли виды *Aspergillus* секции *Nigri*. В меньших количествах были представлены другие виды микромицетов, в том числе *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., среди которых есть продуценты опасных МТ и ЭМТ.

Изучение **токсикообразования плесневых грибов** позволяет получить более полные знания о метаболических профилях конкретных видов, хемотипах, а также с учётом видоспецифичности токсинпродуцирующей способности является одним из инструментов при установлении видовой принадлежности. Эти данные также важны для понимания источников происхождения МТ и для последующей разработки стратегий контроля и предотвращения загрязнения пищевой продукции.

Полученные результаты показали способность изолятов *Aspergillus* секции *Nigri* (*A. niger*), выделенных из фиников

(2 штамма) и смеси сухофруктов (1 штамм), продуцировать OTA 0,22 и 4,3 мкг/кг, а также FB2 3116 мкг/кг соответственно. Выявление OTA- и FB-производящих видов в популяции *Aspergillus* секции *Nigri* описано сравнительно недавно, в исследованиях последнего десятилетия сообщалось об их обнаружении в инжире, винограде и других фруктах. Среди чёрных аспергилл преобладающим продуцентом OTA в винограде считается *A. carbonarius*, с меньшей частотой встречаются *A. niger* и *A. tubingensis*. Описан морфологически схожий с *A. niger* вид *A. welwitschiae*, выделенный из винограда и изюма в Италии и Турции, способный к одновременному производству FB2 и OTA, что обусловлено наличием генов, кодирующих как продукцию FB2, так и OTA [13, 16, 17]. Чёрные аспергиллы имеют широкое распространение, а FB-продуцирующие *Aspergillus niger* в отличие от *Fusarium* spp. способны к токсикообразованию при минимальной влажности даже в высушенных фруктах. Это вызывает настороженность, учитывая потребление сухофруктов населением разного возраста, так как обычно сухофрукты не рассматриваются как источник поступления в организм человека этих микотоксинов.

У трёх штаммов была выявлена AFL-продуцирующая способность. Два из которых были отнесены к *Aspergillus* секции *Flavi*: из инжира накапливал AFLB2 – до 56 и AFLG2 21 мкг/кг, а из компотной смеси – AFLB2 0,45 мкг/кг. Способность к одновременному биосинтезу AFLs типов B и G была подтверждена, в частности для *A. parasiticus* и *A. nomius* [18]. В исследованиях сушённых фиников и черносливе, загрязнённых AFLs, *A. parasiticus* был преобладающим видом [13]. Третий AFL-токсигенный штамм, выделенный из

компотной смеси, продуцировал очень высокие количества AFLB1 – 32 980 мкг/кг и AFLB2 – 3230 мкг/кг и одновременно в меньшей степени STC – 702 мкг/кг. Известно, что STC является биогенным предшественником AFLB1, но не все продуценты афлатоксинов способны к совместному их накоплению. Такая способность установлена для *A. ochraceoroseus* и *A. rambellii* секции *Ochraceorosei* [19, 20] а также *A. nidulans*, *A. mottae* и *A. togoensis* секции *Flavi* [18].

Изолят из фиников показал самые высокие среди всех МТ количественные уровни, накопление STC достигало 237 750–6 218 220 мкг/кг. Свехпродуктивность STC была описана для вида *A. rambellii* секции *Ochraceorosei* [20].

OTA-продуцирующая способность была выявлена также у штамма рода *Penicillium*, выделенного из фиников, OTA 3 мкг/кг. Основными OTA-продуцирующими видами этого рода являются *P. verrucosum* и *P. nordicum*, однако одно-временное накопление CTV – 0,153 мкг/кг, характерное для *P. islandicum*, *P. citreonigrum*, *P. smithii*, *P. manginii*, *P. miczynskii* [21], требует более глубокого изучения видовой принадлежности этого изолята. Окончательная видовая идентификация может быть установлена только после проведения генетических исследований.

В совокупности из 33 плесневых изолятов 15 (45,5%) были токсигенными. Надо отметить, что МТ, продуцируемые на модельных средах в условиях *in vitro*, не всегда обнаруживаются в исходных образцах, такие наблюдения описаны и другими исследователями [22]. Это может быть обусловлено комплексом внешних и внутренних факторов влияющих на продукцию токсинов в естественной среде, дискретной загрязнённостью образцов, а также, возможно, преобладанием в популяции атоксигенных штаммов.

Полученные результаты показали, что среди плесневых грибов, контаминирующих сухофрукты (реализуемые в торговой сети), присутствуют виды *Aspergillus* spp., обладающие высоким потенциалом токсикообразования и в благоприятных условиях способные к накоплению высоких и сверхвысоких уровней различных МТ, в том числе эмерджентных. Это свидетельствует о наличии потенциальной опасности в загрязнении МТ данного вида продукции. И подтверждает актуальность проведения широкого мониторинга содержания МТ в сухофруктах, реализуемых на российском рынке, для последующего обоснования введения нормативных показателей контроля МТ в сухофруктах и гармонизации с европейскими требованиями по OTA и AFL.

Заключение

Плесневые грибы являются основным видом микрофлоры, контаминирующей сухофрукты, при этом виды с высоким природным содержанием сахаров (финики) наиболее подвержены загрязнению плесенями как по частоте, так и по уровням загрязнения. В большинстве исследованных образцов сухофруктов, загрязнённых плесенями, грибы *Aspergillus* секции *Nigri* доминировали по частоте и по уровням содержания. Среди них выявлены штаммы с фумонизин- и охратоксин-продуцирующей активностью, у которых накопление FB2 было сопоставимо с продукцией у типичных продуцентов – грибов рода *Fusarium*, а также OTA – с уровнем, продуцируемым видами *Penicillium* spp. В условиях *in vitro* установлена способность выделенных из сухофруктов плесеней к накоплению высоких и сверхвысоких количеств МТ, среди которых наиболее опасные и регламентируемые в пищевой продукции, а также эмерджентные. Это свидетельствует о наличии потенциального риска загрязнения данного вида пищевой продукции микотоксинами, в том числе не регламентируемыми в ней, и возможном увеличении их содержания в рационах потребителей за счёт данного источника. Полученные результаты обосновывают необходимость широкого мониторинга продуцентов микотоксинов в сухофруктах для прогноза риска токсикообразования и связи конкретных микотоксинов с определёнными видами сухофруктов. Наличие токсигенной активности у плесневых грибов, выделенных из сухофруктов, показано в России впервые.

Литература

(п.п. 5–11, 13–22 см. References)

1. Анализ рынка сушеных овощей, грибов, сухофруктов и орехов в России в 2014–2018 гг., прогноз на 2019–2023 гг. Available at: https://businessstat.ru/images/demo/dried_vegetables_fruits_nuts_mushrooms_russia_2019_demo_businessstat.pdf
2. Исаева Е.В., Шестопал З.А. *Атлас болезней плодовых и ягодных культур*. Киев: Урожай; 1991.
3. Гарибова Л.В., Лекомцева С.Н. *Основы микологии: Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов*. М.: КМК; 2005.
4. Тутельян В.А., Кравченко Л.В. *Микотоксины (Медицинские и биологические аспекты)*. М.: Медицина; 1985.
12. 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>

References

1. Analysis of the market for dried vegetables, mushrooms, dried fruits and nuts in Russia in 2014–2018, forecast for 2019–2023. Available at: https://businessstat.ru/images/demo/dried_vegetables_fruits_nuts_mushrooms_russia_2019_demo_businessstat.pdf (in Russian)
2. Isaeva E.V., Shestopal Z.A. *Atlas of Diseases of Fruit and Berry Plant [Atlas bolezney plodovykh i yagodnykh kul'tur]*. Kiev: Urozhay; 1991. (in Russian)
3. Garibova L.V., Lekomtseva S.N. *Basics of Mycology: Morphology and Taxonomy of Fungi and Fungi-Like Organisms [Osnovy mikologii: Morfologiya i sistematika gribov i gribopodobnykh organizmov]*. Moscow: KMK; 2005. (in Russian)
4. Tutel'yan V.A., Kravchenko L.V. *Mycotoxins: Medical and Biological Aspects [Mikotoksiny (Meditsinskie i biologicheskie aspekty)]*. Moscow: Meditsina; 1985. (in Russian)
5. Agriopoulou S., Stamatelopoulou E., Varzakas T. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: prevention and detoxification in foods. *Foods*. 2020; 9(2): 137. <https://doi.org/10.3390/foods9020137>
6. RASF, The Rapid Alert System for Food and Feed. Reports and publications. Available at: https://ec.europa.eu/food/safety/rasff/reports_publications_en
7. Nielsen K., Mogensen J., Johansen M., Larsen T., Frisvad J. Review of secondary metabolites and mycotoxins from the *Aspergillus niger* group. *Anal. Bioanal. Chem.* 2009; 395(5): 1225–42. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3081-5>
8. Heperkan D., Moretti A., Dikmen C.D., Logrieco A.F. Toxicogenic fungi and mycotoxin associated with figs in the Mediterranean area. *Phytopathol. Mediterr.* 2012; 51(1): 119–30. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-9467
9. Samson R.A., Noonim P., Meijer M., Houbraken J.A.M.P., Frisvad J.C., Varga J. Diagnostic tools to identify black aspergilli. *Stud. Mycol.* 2007; 59: 129–45. <https://doi.org/10.3114/sim.2007.59.13>
10. 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, 141–173. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.004>
11. Han X., Jiang H., Xu J., Zhang J., Li F. Dynamic fumonisin B2 production by *Aspergillus niger* intended used in food industry in China. *Toxins (Basel)*. 2017; 9(7): 217. <https://doi.org/10.3390/toxins9070217>
12. Chaluy 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)
13. Ozer H., Imge H., Basegmez O., Ozay G. Mycotoxin risks and toxigenic fungi in date, prune and dried apricot among Mediterranean crops. *Phytopathol. Mediterr.* 2012; 51(1): 148–57. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-9806
14. Vinson J.A., Zubik L., Bose P., Samman N., Proch J. Dried fruits: excellent *in vitro* and *in vivo* antioxidants. *J. Am. Coll. Nutr.* 2005; 24(1): 44–50. <https://doi.org/10.1080/07315724.2005.10719442>
15. Rico-Munoz E., Samson R.A., Houbraken J. Mould spoilage of foods and beverages: Using the right methodology. *Food Microbiol.* 2019; 81: 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.03.016>
16. Trucksess M.W., Scott P.M. Mycotoxins in botanicals and dried fruits: A review. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 2008; 25(2): 181–92. <https://doi.org/10.1080/02652030701567459>
17. Daskaya-Dikmen C., Heperkan D. Fumonisin production of black *Aspergilli in vitro*, fumonisin and ochratoxin A production in figs of positive strains and their growth assessment. *Toxin Rev.* 2013; 32(1): 10–7. <https://doi.org/10.3109/15569543.2012.756524>
18. Frisvad J.C., Hubka V., Ezekiel C.N., Hong S.B., Nováková A., Chen A.J., et al. Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Stud. Mycol.* 2019; 93: 1–63. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.06.001>
19. Cary J.W., Ehrlich K.C., Beltz S.B., Harris-Coward P., Klich M.A. Characterization of the *Aspergillus ochraceoseus* aflatoxin/sterigmatocystin biosynthetic gene cluster. *Mycologia*. 2017; 101(3): 352–62. <https://doi.org/10.3852/08-173>
20. Frisvad J.C., Skouboe P., Samson R.A. Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 2005; 28(5): 442–53. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.02.012>
21. Moretti A., Susca A., eds. *Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols*. Totowa, New Jersey: Humana Press; 2017.
22. De Souza Ferranti L., Fungaro M.H.P., Massi F.P., da Silva J.J., Penha R.E.S., Frisvad J.C., et al. Diversity of *Aspergillus* section *Nigri* on the surface of *Vitis labrusca* and its hybrid grapes. *Int. J. Food Microbiol.* 2018; 268: 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.027>