



## ИЗУЧЕНИЕ ЗАГРЯЗНЁННОСТИ ЧАЯ И ЧАЙНЫХ ТРАВЯНЫХ НАПИТКОВ МИКОТОКСИНАМИ (СООБЩЕНИЕ 2)

**М.Г. Киселева, З.А. Чалый, И.Б. Седова, Л.П. Минаева, С.А. Шевелева**

Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Россия, 109240,  
г. Москва, Устьинский проезд, 2/14

Представлены результаты скрининга широкого спектра микотоксинов с помощью высокоэффективной ультра высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (УВЭЖХ-МС / МС) в различных видах чая представленных на рынке РФ. Образцы отобраны в торговой сети и предоставлены оптовыми поставщиками. Из 77 исследованных образцов: 54 нефасованные (полуфабрикат) и фасованные на основе *Camellia sinensis*; 23 – травяные чайные напитки (травяные чаи сухие) моно- и многокомпонентные. Методом УВЭЖХ-МС / МС определяли 29 микотоксинов, в число которых входили регламентируемые в пищевых продуктах микотоксины (афлатоксины, охратоксин А, дезоксиниваленол, фумонизины, Т-2 токсин, зеараленон), их производные и структурные аналоги (трихотецены групп А и В, структурные аналоги зеараленона), а также малоизученные эмерджентные микотоксины (стеригматоцистин, микофеноловая кислота, монилиформин, энниатины, боверицин и метаболиты грибов рода *Alternaria*). Показано, что в образцах чая *C. sinensis* микотоксины обнаруживались на низких уровнях. Совместная контаминация несколькими микотоксинами (более пяти видов), как регламентируемыми в пищевых продуктах, так и эмерджентными, оказалась характерна для травяных многокомпонентных чаев. Боверицин, микофеноловая кислота и энниатин В наиболее часто обнаруживались во всех видах чая. В исследовании *in vitro* токсигенных свойств смешанной микофлоры чая, содержащей потенциально микотоксигенные виды плесеней, показана способность к биосинтезу значительных количеств одновременно нескольких видов микотоксинов, включая эмерджентные. В том числе в модельных опытах с заражением субстрата, состоящего только из листьев зеленого чая *C. sinensis* без добавленных ростовых факторов, накопление микотоксинов составило: фумонизинов В1 и В2 на уровне 290 и 5600 мкг/кг соответственно, зеараленона – 130 мкг/кг, стеригматоцистина – 14 мкг/кг, метилового эфира альтернариола – 160 мкг/кг. Полученные данные свидетельствуют о наличии потенциального риска для здоровья человека, поскольку чаи относятся к продуктам ежедневного потребления. Для оценки безопасности этого вида продукции необходим ее мониторинг с целью накопления массива данных о контаминации спектром микотоксинов, а не только нормируемым афлатоксином В1. Систематические исследования контаминации микотоксинами и их продуцентами различных видов чая, представленных на рынке РФ, проведены впервые.

**Ключевые слова:** микотоксины, эмерджентные микотоксины, чай *C. sinensis*, травяной чай, УВЭЖХ-МС/МС, продуценты микотоксинов, образование микотоксинов *in vitro*.

Микотоксины (МТ) – вторичные метаболиты плесневых грибов – являются глобальными загрязнителями пищевых продуктов, определяющими продовольственную безопасность для потребителя. Согласно исследованию Продовольственной и сельскохозяйственной организации (FAO), около 25 %

продовольствия и кормов мирового производства загрязнены МТ [1], обладающими целым спектром негативных эффектов на организм человека – от иммунной супрессии до канцерогенеза.

Минимизация рисков, связанных с контаминацией продовольствия МТ, – одна из самых актуаль-

© Киселева М.Г., Чалый З.А., Седова И.Б., Минаева Л.П., Шевелева С.А., 2020

**Киселева Мария Геннадьевна** – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории энзимологии питания (e-mail: mg\_kiseleva@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-53-65; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1057-0886>).

**Чалый Захар Андреевич** – лаборант-исследователь лаборатории энзимологии питания (e-mail: brew@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-53-65; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9371-8163>).

**Седова Ирина Борисовна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории питания (e-mail: isedova@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-53-65; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6011-4515>).

**Минаева Людмила Павловна** – кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома (e-mail: liuminaeva-ion@mail.ru; тел.: 8 (495) 698-53-83; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1853-5735>).

**Шевелева Светлана Анатольевна** – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией биобезопасности и анализа нутримикробиома (e-mail: sheveleva@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-53-83; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5647-9709>).

ных задач обеспечения безопасности пищи и здоровьесбережения повсеместно. Для ее реализации ведущими микологами и токсикологами всего мира была принята «Хартия по микотоксинам» ([charter.mycotoxins.eu](http://charter.mycotoxins.eu)), призывающая нынешнее поколение ученых и специалистов к внедрению мер, гарантирующих снижение количества МТ в пищевых продуктах и повышение их безопасности ради безопасности будущих поколений [2]. Производители микотоксинов – плесневые грибы – чрезвычайно распространены и способны расти на разнообразных растительных субстратах в широком диапазоне условий окружающей среды. Токсинообразование возможно как в период вегетации, так и после сбора урожая, то есть охватывает все этапы технологической цепи (переработка, хранение, транспортировка). Содержание наиболее опасных МТ в пище (дезоксиниваленол (DON), Т-2-токсин, зеараленон (ZEA), охратоксин (OTA), афлатоксин В1 (AFL В1), фумонизины (FB)) регламентируется в большинстве стран мира. В РФ нормативной базой являются ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»<sup>1</sup> и ТР ТС 015/2011 «О безопасности зерна»<sup>2</sup>, в методическую базу включено порядка четырех десятков ГОСТ и МУК, основанных на современных аналитических технологиях (иммуноферментный анализ ИФА, ВЭЖХ, ВЭЖХ-МС).

Применение хромато-масс-спектрометрии открывает новые перспективы для контроля безопасности пищевых продуктов, а в режиме мультидетекции позволяет выявлять в одном анализе несколько десятков видов контаминантов. Это особенно важно для мониторинга загрязнённости пищевых продуктов метаболитами плесневых грибов, способных продуцировать десятки опасных соединений различной структуры [3–6]. В этом плане важно подчеркнуть, что знания о спектре метаболитов плесневых грибов постоянно расширяются. Сегодня в пищевых продуктах растительного происхождения, в основном производимых из зерновых, заинтересованными органами контролируются не только регламентируемые МТ, но и их структурные производные (3- и 15-ацетил дезоксиниваленол, ниваленол, фузаренон Х – группа DON (трихотецены В); НТ-2-токсин, Т-2 триол (Т-2 triol), диацетоксикирпенол – группа Т-2-токсина (трихотецены А); афлатоксины В2, G1, G2, стеригматоцистин (STC) – аналоги AFL В1; зеранол, талеранол, α- и β-зеараленолы – аналоги ZEA), микотоксины *Alternaria* (альтернариол (АОН), его метиловый эфир (АМЕ), альтенуен, тентоксин (ТЕ)), а также эмерджентные микотоксины (ЭМТ: энниатины ENN

А и В, боверидин (ВЕА)) [7–10]. Но сведения о распространённости нерегламентируемых и малоизученных МТ в пище, об их негативных воздействиях в малых дозах, в том числе при хроническом совместном поступлении в организм человека пока недостаточны. Это определяет актуальность широких исследований растительной продукции массового потребления, в том числе чая.

Традиционный чай на основе растения *Camellia sp.* является одним из наиболее употребляемых напитков во всем мире и обычно ассоциируется с понятиями пользы, здоровья и безопасности. В то же время климатические условия субтропиков, благоприятные для культивирования чайного куста, способствуют и токсинообразованию у плесневых грибов. Зафиксированы случаи обнаружения в чае FB, OTA, AFL, ZEA, трихотеценовых МТ, цитринина на уровне десятков и даже сотен мкг/кг [11]. Риски, обусловленные контаминацией чая МТ, информация об уровнях загрязнения различных видов чая, а также аналитические методы определения МТ в этом виде продукции детально были рассмотрены авторами в обзоре [11]. Там же собраны сведения о подходах к регулированию МТ в чае в различных странах. Так, на сегодняшний день в чае регламентируются только AFL В1 или общее содержание AFL. Максимальные допустимые уровни (МДУ) введены в Аргентине, Индии, Шри-Ланке, Японии и Китае на уровне от 5 до 30 мкг/кг. Согласно ТР ТС 021/2011, в странах ЕАЭС установлен МДУ для AFL В1 в сухом чае – 5 мкг/кг, не более.

Не менее популярным продуктом являются травяные чаи, потребление которых в последнее время возрастает. Зачастую они содержат лекарственные растения (мята, ромашка, крапива, солодка, шиповник и др.) и позиционируются производителями как «продукты для здоровья». Однако в аналогичных по составу БАД к пище нередко обнаруживаются AFL, OTA и вторичные метаболиты *Alternaria* [12]. До настоящего времени систематические исследования загрязнённости чая МТ в РФ не проводились.

Ранее авторами были получены данные об уровнях и частоте загрязнённости плесневыми грибами более 50 образцов чая (черный, зеленый, травяной и др.) [13]. При анализе видового состава плесневых грибов в группе чаев *Camellia sp.* максимальные уровни загрязнения во всех образцах определялись грибами рода *Aspergillus* с доминированием комплекса *Aspergillus* секции *Nigri*. В группе травяных чаев (напитков) помимо представителей данного комплекса, который также обуславливал высокие уровни кон-

<sup>1</sup> 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: <http://docs.cntd.ru/document/902320560> (дата обращения: 20.11.2019).

<sup>2</sup> ТР ТС 015/2011. О безопасности зерна (с изменениями на 15 сентября 2017 года): технический регламент Таможенного союза / утв. Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 874 [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/902320395> (дата обращения: 20.11.2019).

таминации, были обнаружены *Penicillium sp.*, *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*, *Cladosporium sp.*, отдельные виды которых являются токсинопродуцирующими. Это позволяет предположить присутствие в чаях МТ, продуцируемых этими видами плесеней. В настоящее время дискутируется вопрос о микробиологических показателях по плесеням, установленным для чая в Российской Федерации, и возможности их снижения в целях гармонизации с международными требованиями.

**Целью настоящих исследований** было изучение частоты и уровней контаминации различных видов чая, включая травяные, широким спектром токсических метаболитов: МТ, регламентированных в пищевых продуктах растительного происхождения (AFL B1, B2, G1, G2; OTA, DON, FB1, FB2, T-2, ZEA), их производными и структурными аналогами (DAS, HT-2, T-2 triol, NeoS – производные T-2 токсина; 3- и 15-AcDON, NIV, FusX – производные DON;  $\alpha$ -,  $\beta$ -ZEL,  $\alpha$ -,  $\beta$ -ZAL – производные и аналоги ZEA), а также эмерджентными МТ (STC, MPA, MO, EnnA и B, BEA, AOH и AME, TE). В задачи также входило выявление корреляции содержания МТ в образцах чая с уровнем их плесневой контаминации; исследование токсигенных свойств микофлоры чая в условиях *in vitro*, наиболее приближенных к естественным.

**Материалы и методы.** Исследовано 77 образцов чая: 30 образцов нефасованного традиционного чая (*Camellia sp.*) (полуфабрикат), из них 26 черного и четыре зеленого, из шести чаепроизводящих регионов (Вьетнам, Индия, Индонезия, Кения, Китай, Шри-Ланка), предоставленных торгово-оптовыми компаниями; 22 образца фасованного традиционного черного, зеленого чая (*Camellia sp.*) и чая с добавками; два образца чая пуэр; 23 образца травяных чаев, среди которых монокомпонентные (суданская роза, кипрей ферментированный, чабрец, мята) и многокомпонентные, состав которых представлен в табл. 1. Образцы фасованного чая получены из розничной торговой сети.

**Определение 29 микотоксинов** проводили методом высокоэффективной хроматографии ультравысокого давления с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (УВЭЖХ-МС/МС) в режиме мультидетекции с использованием УВЭЖХ Vanquish (бинарный насос, автосамплер и термостат), совмещенной с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором с подогреваемым электропылителем источником TSQ Endura, программное обеспечение Xcalibur 4.0 QF2 Software (Thermo Scientific, USA).

**Разделение аналитов** осуществляли на обращенно-фазовой колонке с привитыми группами октадецилсилана Titan C18, 2,1×100 мм, 1,9  $\mu$ m (Supelco, PA, USA) в режиме градиентного элюирования. Подвижная фаза А: MeOH-вода (10% об.), подвижная фаза Б: MeOH-вода-ацетонитрил (10/10/80% об.). Обе фазы были модифицированы: 1 мМ формиата аммония и 0,1%-ной муравьиной кислоты. Схема градиента: старт и до 1 мин – 0 % В, от 1 до 2 мин –

Таблица 1

Состав многокомпонентных травяных чаев

№ образца	Компонентный состав смесей
2	Кипрей, смородина
8	Плоды боярышника, побеги омелы белой, трава донника, трава пустырника, корень валерианы
9	Эхинацея, душица, мята перечная, крапива, чабрец, ромашка, шиповник, шалфей, фиалка, солодка
10	Трава чабреца, зверобоя
11	Ромашка, листья мяты перечной, цветки бессмертника песчаного, цветы пижмы, плоды кориандра, расторопша лист мяты, трава донника, плоды шиповника, корень девясила, плоды боярышника
12	Черёда, календула, репешок, бессмертник, ромашка, зверобой, береза
14	Кипрей, брусника
19	Трава лимонная, мирт лимонный, корень имбиря, лакрицы, цедра лимона
20	Ромашка, мята
36	Кипрей, облепиха
38	Кипрей, липа

линейный рост до 15 % В, от 2 до 5 мин – до 30 % В, от 5 до 13 мин – до 70 % В, от 13 до 14 мин – 90 % В, от 14 до 16,5 – 95 % В, до 17 мин – рост до 100 % В и удерживание в течение 3 мин, с 20,0 по 20,5 мин – снижение содержания В до 0 % и уравнивание колонки до 22,0 мин. Объемная скорость подвижной фазы 0,4 мл/мин. Температура колонки 30 °С. Объем ввода образца 2–4 мкл. Продолжительность анализа 22 мин. Детектирование аналитов осуществляли в условиях электрораспылительной ионизации с активацией соударением в режиме мониторинга множественных реакций (MRM). Оптимизацию условий детектирования проводили в автоматическом режиме путем ввода стандартных растворов МТ в поток подвижной фазы, соответствующей времени удерживания аналита. Параметры детектирования, значения минимальной определяемой концентрации (МОК) МТ в чае, рассчитанные по 10 $\sigma$ -критерию, и средние степени извлечения приведены в табл. 2.

Стандартные растворы 29 МТ готовили из сухих стандартов AFL B1, AFL B2, AFL G1, AFL G2, STC, T-2- и HT-2-токсина, DAS, NIV, DON, 3- и 15-AcDON, FusX, FB1, FB2, ZEA,  $\alpha$ - и  $\beta$ -ZEL,  $\alpha$ -ZAL, OTA (Sigma Aldrich); AOH, AME, BEA, EnnA, EnnB, MPA, MO, NeoS, T-2 triol, TE (Fermentek, Jerusalem, Israel). Стандартные растворы хранения готовили в ацетонитриле (AFLs, STC, трихотены групп А и В, ZEA и аналоги, OTA, MPA), метаноле (токсины *Alternaria*, энниатины, BEA, MPA, MO) или смеси «ацетонитрил / вода» – 50/50 (% об.) – FB1, FB2 с концентрацией 100 или 500 мкг/мл. Из стандартных растворов готовили мультистандарт и калибровочные растворы. Все стандартные растворы хранились при –18 °С.

Характеристики УВЭЖХ-МС/МС определения МТ в чае

№ п/п	МТ	$t_R$ , мин	Материнский ион, m/z	Напряж. фрагм., V	Дочерние ионы, m/z (энергия соудар., V)	МОК, мкг/кг	Степень извлеч., %	
1	MO	0.7	[M-H] <sup>-</sup>	97	54	<b>41 (12)</b> , 80 (23)	800	76
2	NIV	1.8	[M+H] <sup>+</sup>	313	100	<b>125 (10)</b> , 177 (10)	1000	81
3	DON	2.9	[M+H] <sup>+</sup>	297	100	<b>203 (18)</b> , 231 (12), 249 (11)	1250	63
4	FusX	3.6	[M+H] <sup>+</sup>	355	103	<b>175 (20)</b> , 229 (16), 247 (12)	100	80
5	NeoS	3.9	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	400	79	<b>185 (17)</b> , 203 (17), 215 (18), 305 (10)	<10	75
6	AcDON	4.6	[M+H] <sup>+</sup>	339	97	<b>203 (17)</b> , 213 (18), 231 (13)	250	94
7	T-2 triol	4.8	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	400	76	<b>215 (10)</b> , 263 (13)	250	75
8	AFLG2	6.2	[M+H] <sup>+</sup>	331	170	<b>189 (41)</b> , 245 (30), 313 (24)	4	79
9	AFLG1	6.6	[M+H] <sup>+</sup>	329	150	<b>200 (41)</b> , 243 (26), 311 (21)	4	85
10	AFLB2	6.8	[M+H] <sup>+</sup>	315	170	<b>243 (39)</b> , 259 (29), 287 (26)	4	85
11	DAS	6.9	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	384	89	<b>247 (14)</b> , 307 (10), 349 (10)	20	95
12	AFLB1	7.3	[M+H] <sup>+</sup>	313	166	<b>213 (45)</b> , 241 (37), 285 (22)	4	85
13	AOH	8.0	[M+H] <sup>+</sup>	259	100	<b>128 (44)</b> , 184 (30), 213 (27)	1000	87
14	HT-2	8.0	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	442	91	<b>215 (10)</b> , 263 (10)	500	77
15	FB1	8.0	[M+H] <sup>+</sup>	772	217	334 (40), <b>352 (36)</b>	400	44
16	$\alpha$ -ZAL	8.3	[M+H] <sup>+</sup>	323	66	<b>189 (22)</b> , 305 (10)	125	76
17	TE	8.3	[M+H] <sup>+</sup>	415	130	<b>302 (13)</b> , 312 (19)	4	78
18	$\beta$ -ZEL	8.5	[M+H] <sup>+</sup>	321	88	<b>189 (20)</b> , 303 (10)	1000	88
19	MPA	8.9	[M+H] <sup>+</sup>	321	113	<b>207 (22)</b> , 275 (16)	50	101
20	$\alpha$ -ZEL	9.5	[M+H] <sup>+</sup>	321	65	<b>189 (22)</b> , 303 (11)	1000	84
21	T-2	9.7	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	484	137	<b>215 (17)</b> , 305 (13)	10	100
22	FB2	9.7	[M+H] <sup>+</sup>	706	150	<b>318 (36)</b> , 336 (36)	100	73
23	OTA	10.4	[M+H] <sup>+</sup>	404	123	<b>221 (35)</b> , 239 (24), 358 (14)	2,5	78
24	AME	10.5	[M+H] <sup>+</sup>	273	150	<b>185 (40)</b> , 199 (40), 258 (30)	750	87
25	ZEA	10.5	[M+H] <sup>+</sup>	319	90	185 (20), <b>283 (10)</b> , 301 (10)	150	86
26	STC	10.9	[M+H] <sup>+</sup>	325	152	<b>253 (44)</b> , 281 (36), 310 (24)	4	78
27	EnnB	15.1	[M+H] <sup>+</sup>	657	142	196 (30), 214 (31), 527 (27), <b>640 (17)</b>	2,5	73
28	BEA	15.5	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	801	215	<b>244 (32)</b> , 262 (30), 784 (17)	2,5	80
29	EnnA	16.2	[M+H] <sup>+</sup>	699	255	<b>210 (24)</b> , 228 (24)	6	92

Примечание: жирным шрифтом выделены дочерние ионы, выбранные для количественного анализа.

*Подготовка проб сухого чая к анализу МТ.* Представительную пробу (10–20 г) образца сухого чая измельчали. К навеске 1,0 г добавляли 10 мл экстрагента (ацетонитрил / вода / муравьиная кислота – 80/20/0,5 % об.), встряхивали в течение 30 мин, центрифугировали, 1 мл супернатанта разбавляли 1 мл подвижной фазы А. Разбавленную пробу после перемешивания центрифугировали в течение 10 мин при 10 000 об/мин. Супернатант объемом 1,5 мл помещали в хроматографическую вialу для анализа.

*Исследование токсинообразования в условиях in vitro* проводили на питательной среде на основе голодного агара со стрептомицином (200 мг/л), содержащей в качестве единственного субстрата 6 % измельченного сухого чая. Для этого использовали микробиологически чистый зеленый чай (менее 10 КОЕ/г плесеней и бактерий), не содержащий МТ, из числа исследованных ранее. Предварительно чай измельчали в мельнице с использованием стерильных одноразовых камер и асептически вносили в расплавленный голодный агар при температуре 40 ± 1 °С. В качестве инокулятов использовали смывы с образцов сухого чая (10 г чая в 90 мл стерильного фосфатного буфера), которые вносили в чашки

Петри по 1 мл и заливали питательной средой. После 10 суток инкубирования при 24 °С содержимое каждой чашки Петри (мицелий с агаризованной средой – субстратный мицелий) тщательно перемешивали и по 1 г вносили в пробирки для последующей экстракции микотоксинов.

*Подготовка проб субстратного мицелия к анализу МТ.* В каждую пробирку с 1 г образца добавляли 5 мл экстрагента (см. «Подготовка проб сухого чая к анализу МТ»), тщательно перемешивали и выдерживали 30 мин в ультразвуковой бане, после чего 10 мин центрифугировали при 4000 об/мин, отбирали 1 мл супернатанта, к которому добавляли 1 мл подвижной фазы А, после перемешивания повторно центрифугировали при 10 000 об/мин 10 мин. Супернатант объемом 1,5 мл помещали в хроматографическую вialу для анализа.

**Результаты и их обсуждение.** *Скрининг микотоксинов в образцах чая.* Исследование МТ и ЭМТ в образцах нефасованного традиционного чая (*Camellia sp.*) из шести чаепроизводящих регионов – Китая, Индии, Индонезии, Шри-Ланки, Вьетнама и Кении – показал, что из 29 исследованных МТ в пробах были обнаружены восемь: AFL G2 – представи-



Обнаружение МТ в образцах фасованного чая (*Camellia sp.*)

Микотоксин	Образцы фасованного чая ( <i>n</i> – число образцов)					
	зеленый листовой, <i>n</i> = 1	зеленый пакетир., <i>n</i> = 3	черный листовой, <i>n</i> = 10	черный пакетир., <i>n</i> = 6	пуэр, <i>n</i> = 2	черный с чабрецом пакетир., <i>n</i> = 2
Количество образцов чая, содержащих МТ*						
Всего образцов чая, содержащих МТ	1	3	7	6	2	1
<i>МТ, регламентируемые в пищевой продукции</i>						
AFL B1	–	–	1	–	–	–
T-2	1	–	–	1	–	–
<i>Структурные аналоги регламентируемых МТ</i>						
AFL G2	–	–	–	1	–	–
STC	–	–	1	–	–	1 (4,4**)
AcDON	–	2	3	–	1	–
FusX	–	–	2	3	–	–
NeoS	–	–	2	–	–	–
<i>ЭМТ</i>						
MPA	–	3	4	3 (до 200)	2 (до 3040)	1
BEA	–	2	4 (до 6,0)	5	1	1
EnnB	–	–	–	–	–	1
AME	–	1	–	–	–	–
TE	–	–	–	1 (10)	–	–

Примечание: \* – МТ в количествах выше ПО, но ниже МОК (следы); \*\* – в скобках указано содержание МТ (диапазон концентраций) в образцах выше МОК, мкг/кг; «–» – МТ не обнаружены.

чая пуэр значительное количество МРА (30,4 мкг/кг). Известно, что МРА продуцируется грибами рода *Penicillium* [19], так называемыми «грибами хранения», и может накапливаться в продукте уже после сбора урожая при нарушении условий хранения [20]. Показатели безопасности для чая с длительной ферментацией типа пуэр четко не определены, а микробиологические нормативы, рекомендуемые для чая Европейской ассоциацией Tea & Herbal Infusions Europe (ТНПЕ, 2018), не распространяются на чай пуэр [21]. По полученным ранее результатам микробиологических исследований все образцы фасованного чая (*Camellia sp.*), в том числе с добавками, соответствовали нормативу [13]. Ни в одном образце не был обнаружен AFL B1 выше установленного норматива.

Травяные чаи были представлены двумя выборками образцов: монокомпонентные и многокомпонентные. Из 12 образцов монокомпонентных травяных чаев (чабрец, мята, кипрей, каркаде) в восьми (66,6 %) были обнаружены 10 из 29 исследованных МТ (табл. 5), среди которых преобладали ЭМТ: на первом месте BEA и MPA, далее в порядке уменьшения: Enn B и TE, AME, Enn A, DAS, FuzX, STC. Из регламентируемых в пищевых продуктах МТ в двух образцах кипрея был обнаружен DON на уровне ниже МОК. По видам сырья наиболее загрязненными оказались чабрец и кипрей. В образцах чабреца содержались все девять нерегламентируемых МТ, выявленных в этой группе чая, а пять из них – в количествах, превышающих МОК. Возможно, присутствие именно этой добавки обусловило содержание STC (4,4 мкг/кг) в одном из образцов фасованного черного чая с чабрецом (табл. 3).

По результатам микробиологических исследований, полученным ранее [13], наиболее загрязнены плесневыми грибами были образцы чабреца, а также мяты, по два из которых не соответствовали установленному нормативу, количество плесеней в них достигало  $10^5$  и  $10^6$  КОЕ/г соответственно; во всех образцах кипрея, ромашки и каркаде содержание плесеней было в пределах норматива. В образцах кипрея низкое количество плесеней – 50 КОЕ/г – было на фоне высокого уровня спорообразующих бактерий –  $10^{6-8}$  КОЕ/г, отдельные виды которых, как известно, обладают антагонистической активностью в отношении плесеней как следствие микробной коммуникации бактерий и грибов, сложившейся в процессе эволюционного развития при конкурентном освоении экологических ниш и борьбе за субстрат [22]. Однако присутствие МТ в образцах кипрея свидетельствует о наличии плесневой контаминации, на ранних стадиях. Поэтому низкие уровни плесени или даже отсутствие жизнеспособных форм плесеней при микологическом анализе не означает отсутствие МТ в продукции, однако высокие уровни в большинстве случаев обуславливают наличие МТ.

Вторая группа – многокомпонентные травяные чаи (чайные напитки) была представлена 11 образцами, состав которых приведен в табл. 1. Многокомпонентные травяные чаи оказались в значительно более высокой степени загрязненными МТ: в 10 (91 %) образцах этой группы из 11 были обнаружены 18 из 29 исследованных МТ (табл. 6), причем в шести (54 %) образцах совместно обнаружены от семи до восьми МТ. Содержание МТ в этих образцах значительно превышало уровни контаминации в остальных изученных группах чая. Среди ЭМТ чаще других

Обнаружение МТ в образцах монокомпонентных травяных чаев

Микотоксин	Травяной чай			
	чабрец, n = 4	кипрей, n = 5	мята, n = 2	каркаде, n = 1
	Количество образцов, содержащих МТ*			
Всего образцов, содержащих МТ	4	3	1	–
	<i>МТ, регламентируемые в пищевой продукции</i>			
<b>DON</b>	–	2	–	–
	<i>Структурные аналоги регламентируемых МТ</i>			
STC	1 (24**)	–	–	–
FusX	1	–	–	–
DAS	1	–	–	–
	<i>ЭМТ:</i>			
MPA	2 (до 100 мкг/кг)	2	–	–
BEA	2 (до 4 мкг/кг)	1	1	–
EnnA	1	–	–	–
EnnB	2 (до 26 мкг/кг)	1	–	–
AME	2	–	1	–
TE	2 (до 13 мкг/кг)	–	1	–

Примечание: \* – содержание МТ выше ПО, но ниже МОК (следы); \*\* – в скобках указано содержание МТ (диапазон концентраций) в образцах выше МОК, мкг/кг; «–» – МТ не обнаружены.

обнаруживали MPA, а также метаболит *Alternaria* – TE: в девяти и семи образцах из 11 соответственно, далее в порядке уменьшения частоты обнаружения: BEA, EnnB и STC в шести образцах, AME – в пяти; EnnA – в трех;  $\beta$ -ZEL – в двух. В единичных случаях детектировали AFL G1, T-2-triol, DAS, ZEA и FusX. В отличие от других исследованных видов чая, в травяных было выявлено значительно больше опасных регламентируемых МТ: AFLB1, OTA, DON, T-2, FB2, ZEA, при этом на уровнях, близких к нормируемым значениям в пищевой продукции. Так, OTA, обнаруженный в количестве 2 мкг/кг (образец № 19), согласно ТР ТС 021/2011, не допускается в количестве более 5 мкг/кг в детских кашах, а в Европейском союзе на том же уровне и в кофейных зернах; FB2 – 100 мкг/кг (образец № 10) – не допускается в количестве более 200 мкг/кг в детских кашах; T-2 токсин – 9,2 мкг/кг (образец № 12) – не допускается более 50 мкг/кг в детских кашах; ZEA – 190 мкг/кг (образец № 8) – не допускается более 200 мкг/кг в пшеничной муке.

Сочетанная контаминация травяных чаев несколькими видами МТ свидетельствует о развитии в растительном сырье токсигенных микромицетов как на этапе вегетации растений («полевые грибы»: *Fusarium sp.* – DON, 3- и 15-АсDON, T-2, T-2-triol, DAS, ZEN,  $\beta$ -ZEL, EnnA и B, BEA, FB1 и FB2 и *Alternaria sp.* – АОН, AME, TEA, TE), так и на этапах переработки и хранения («грибы хранения»: *Aspergillus sp.* – AFB1, AFG1, AFG2, STC, OTA, *Penicillium sp.* – MPA, OTA), что согласуется с результатами микологических исследований этих образцов [13].

В выборке многокомпонентных травяных чаев в пяти образцах (№ 8–12) (табл. 6) большое разнообразие МТ выявлено на фоне высоких уровней плесеней  $10^4$ – $10^5$  КОЕ/г. Однако в образце № 19

(см. табл. 6) восемь видов МТ были обнаружены на фоне низкого количества плесеней (50 КОЕ/г) и высокого количества спорообразующих бактерий ( $8 \cdot 10^5$  КОЕ/г) [13], подобные результаты были получены и для образцов кипрея (см. табл. 5), что свидетельствует о первичной грибной контаминации, подавленной развитием бактерий. Таким образом соответствие образцов чая установленным в ТР ТС 021/2011<sup>1</sup> требованиям микробиологической безопасности не означает отсутствия в них МТ.

Рост числа выявленных МТ также совпадал с увеличением числа компонентов (см. табл. 1 и 6). Видовое разнообразие МТ в травяных чаях было значительно более широким по сравнению с чаями *Camelia sp.* Такая картина отмечалась и другими исследователями для этой группы продукции. Анализ 60 травяных чаев в Латвии показал наличие 12 МТ, в 90 % образцов содержалось от 1 до 8 видов МТ, наиболее часто выявлялись EnnB, DON, AFB1, OTA, ZEA [23]. По данным исследований из 84 образцов лекарственных и ароматических трав в Испании 99% были загрязнены МТ, среди которых преобладали OTA, FB, AFL, ZEN, T-2, DON, цитринин [24]. Такое разнообразие МТ отмечалось и при анализе луговых трав, являющихся природным ареалом для формирования микробных сообществ. Так, при исследовании более 500 образцов были выявлены 16 видов МТ: T-2, DAS, DON, ZEA, FB, АОН, роридин А, AFL B1, STC, циклопиазоновая кислота, эмодин, OTA, цитринин, MPA, PR-токсин, а также эргоалкалоиды [25].

ЭМТ в наших исследованиях обнаруживались во всех видах чая, с наибольшей частотой среди них выявлялись BEA, MPA, EnnB, TE, FusX (табл. 7). Следует заметить, что структурно близкие BEA и энниатины широко распространены и встречаются

Таблица 6

## Обнаружение МТ в образцах многокомпонентных травяных чаев

Микотоксин	Образцы многокомпонентных травяные чаев										
	№14	№2	№36	№38	№20	№19	№8	№9	№10	№11	№12
<i>МТ, регламентируемые в пищевой продукции</i>											
<b>AFL B1</b>	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–
<b>OTA</b>	–	–	–	–	–	2,0*	–	–	–	–	–
<b>DON</b>	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–
<b>T-2</b>	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	9,2
<b>FB2</b>	–	–	–	–	–	–	–	–	100,0	–	–
<b>ZEA</b>	–	–	–	–	–	–	190,0	–	–	–	–
<i>Структурные аналоги регламентируемых МТ</i>											
AFLG1	–	–	–	–	–	3,2	–	–	–	–	–
STC	–	–	–	–	–	+	8,0	+	10,0	9,2	9,6
FusX	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–
T-2 triol	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
DAS	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–
β-ZEL	–	–	–	–	+	–	–	+	–	–	–
<i>ЭМТ:</i>											
MPA	–	–	+	+	+	+	770	690	1760	440	2240
BEA	–	–	–	–	–	20,4	6,0	5,6	5,6	8,0	8,0
EnnA	–	2,8	–	–	–	–	–	+	–	+	–
EnnB	–	–	–	–	–	13,6	22,4	52,0	34,0	55,0	36,0
TE	–	+	–	–	5,6	–	6,0	5,2	5,2	9,2	6,4
AME	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+

Примечание: \* – содержание МТ указано в мкг/кг; «+» – содержание МТ более ПО, но менее МОК (следы); «–» – МТ не обнаружены.

Таблица 7

## Микотоксины, обнаруженные в исследованных видах чая

Группа чаев	Доля образцов, содержащих МТ, %	Число обнаруженных видов МТ, абс.	Микотоксины в порядке уменьшения частоты встречаемости
<i>C. sinensis</i> нефасованные (полуфабрикат)	70	8	BEA > FusX > EnnB > STC > MPA > <b>T-2</b> > (AFL G2, NeoS)*
<i>C. sinensis</i> фасованные	83	12	(BEA, MPA) > AcDON > FusX > ( <b>T-2</b> , NEOS) > (EnnB, AME, TE, STC, <b>AFL B1</b> и G2)
Травяные монокомпонентные	66,7	10	(BEA, MPA) > (EnnB, AME, TE) > <b>DON</b> > (EnnA, DAS, FusX, STC)
Травяные многокомпонентные	91	18	MPA > TE > (BEA, EnnB, STC) > AME > EnnA > ( <b>T-2</b> , β-ZEL) > <b>AFL B1</b> > AFL G1 > ( <b>DON</b> , <b>FB2</b> , <b>OTA</b> , T-2 triol, DAS, <b>ZEA</b> , FusX)

Примечание: \* – в скобках указаны МТ с одинаковой частотой встречаемости.

почти во всех видах пищевого растительного сырья и переработанной пищевой продукции. Например, на уровне ниже ПО в продуктах питания BEA обнаружился в 80 %, а энниатины в 63 % образцов. В 2014 г. EFSA был проведен анализ риска в отношении этих МТ. По результатам признана возможность хронического воздействия BEA и энниатинов на организм человека при поступлении с пищей, в первую очередь с продуктами из зерна [9].

Несмотря на низкие уровни содержания МТ, существует потенциальный риск кумулятивных эффектов. Токсическое воздействие, возникающее в результате одновременного потребления множества микотоксинов, может проявляться как в виде аддитивного эффекта, так и в виде синергетического, в последнем случае общая токсичность может быть выше, чем сумма индивидуальных токсичностей

[26]. Аддитивное действие описано для структурно близких соединений. Так, результаты исследований индивидуального и комбинированного токсического действия фузариотоксинов семейства дезоксиниваленолов (DON, ниваленол, 3- и 15-AcDON, DON-3-глюкозид (D3G) и Fus-X) на эпителиальные клетки желудка человека (GES-1) позволили предположить, что одновременное присутствие их в низкой дозе в питании может быть более или менее токсичным, чем прогноз, основанный для индивидуальных микотоксинов [27]. То же верно и в отношении других структурных аналогов МТ одного и того же вида или семейства, механизм действия которых и профили токсичности схожи, например, фумонизинов, энниатинов. Синергетические эффекты описаны для OTA и афлатоксинов: невысокий уровень смертности при микотоксикозе, вызванном OTA, сильно

возрастает в комбинации с афлатоксинами [28]. Из-за сильных токсических эффектов ВЕА, DON и Т-2 их комбинированное воздействие может провоцировать у людей развитие ряда заболеваний, особенно после длительного периода воздействия [29]. В целом в большинстве случаев комбинированное потребление микотоксинов приводит к аддитивным или синергетическим эффектам, что повышает риски здоровью человека и животных [30].

Формально все образцы исследованных чаев соответствовали нормируемому показателю по AFL B1, но одновременное присутствие низких доз нескольких видов МТ, прежде всего особо опасных, может нести риски для здоровья человека при длительном поступлении в организм. Полученные данные говорят о необходимости оценки риска для здоровья сочетанного загрязнения МТ таких видов пищевых продуктов, где высока вероятность контаминации плесневыми грибами разной таксономической принадлежности – это, в первую очередь, сырье для производства специализированных продуктов для детского и диетического питания и БАД к пище на основе лекарственных растений, чай с добавками, чай травяные, специи и др.

**Исследование токсинообразования микрофлорой чая в условиях *in vitro*.** Недостаточное внимание к плесневой контаминации чая, производимого как из традиционного чайного сырья (*C. sinensis*), так и из других видов растительного сырья (травяные чаи), часто базируется на мнении, что риски контаминации чая и чайного сырья микотоксинами невысоки при условии соблюдения в процессе производства, транспортировки и хранения установленных параметров влажности и температуры [31] и что даже при наличии высоких уровней контаминации плесневыми токсинообразование не происходит вследствие недостатка ростовых факторов и содержания полифенольных соединений, препятствующих синтезу МТ [32]. Однако результаты исследований чая из разных регионов мира подтверждают возможность накопления опасных МТ – FB, OTA, AFL, Т-2, ZEA на высоких детектируемых уровнях [11]. Например, в образцах черного и зеленого чая из розничных магазинов в Италии OTA обнаруживался в 82 %, а в 50 % случаев в количестве 7–21 мкг/кг (на фоне доминирования *A. niger* и *A. tubingensis*), что превышало уровень, установленный для других пищевых продуктов, объемы потребления которых сравнимы с чаем, в частности для кофе – 5 мкг/кг [33]. Исследования в Швейцарии показали, что черные аспергиллы были одной из наиболее распространенной групп плесеней в 22 образцах травяных чаев, а выделенные штаммы *A. niger* и *A. awamori* в условиях *in vitro* продуцировали фумонизины [34]. В ряде научных публикаций показано токсинообразование в условиях *in vitro* отдельными штаммами *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, изолированными из образцов растительного сырья, в том числе чая из

лекарственных трав [34–36]. Результаты этих исследований, полученные на нескольких видах модельных сред, показывают, что виды и уровни накопления МТ грибами-продуцентами на модельных средах имеют субстратную специфичность и не всегда адекватно отражают токсинообразование в природных ареалах. В естественных условиях различные виды плесневых грибов находятся в конкурентных отношениях, а продукция экзометаболитов – микотоксинов – является «оружием» в борьбе за субстрат.

Изучение возможности образования МТ непосредственно в чайном субстрате проводили в условиях *in vitro*, наиболее приближенным к реальным с повышенной влажностью. В качестве единственного субстрата был зеленый чай *C. sinensis*, а продуцентами МТ – консорциумы микромицетов, естественным образом присутствующие в образцах чая. Для этого были выбраны предварительно проанализированные образцы травяных моно- и многокомпонентных чаев с уровнями контаминации плесневыми  $10^3$ – $7 \cdot 10^4$  КОЕ/г, превышающими установленный норматив. С образцов сухих чаев делали смывы, которыми инокулировали агаризованную питательную среду, содержащую измельченные листья зеленого чая *C. sinensis*. В контрольном образце в качестве инокулята была стерильная вода. Через 10 суток инкубирования из субстрата экстрагировали МТ и проводили анализ их содержания методом ВЭЖХ-МС/МС в режиме мультидетекции по приведенной выше методике.

В результате было выявлено, что МТ, которые не обнаруживались в исходных образцах сухого чая, накапливались в значительных количествах в экстрактах из питательной среды (мкг/кг питательной среды): среди них опасные МТ, нормируемые в пищевой продукции: FB1 – 294; FB2 – 4,8–5694; ZEA – 128; и ЭМТ: STC – 14,4; EnnB – 1,8; ВЕА – 1,36–9,0; МРА – 23–303; АМЕ – 158 (табл. 8). Полученные результаты подтвердили способность токсигенных видов плесневых грибов, контаминирующих чай, к одновременному накоплению разных видов МТ и ЭМТ непосредственно в растительном субстрате из листьев *C. sinensis* в качестве единственного питательного компонента при наличии благоприятных условий (влажность – температура), что показывает их потенциал в загрязнении чаев микотоксинами.

**Выводы.** Результаты скрининга 29 МТ в образцах различных видов чая показали, что отобранные в торговой сети и предоставленные оптовыми поставщиками образцы зеленого и черного чая *C. sinensis* загрязнены МТ на низких (следовых) уровнях. В травяных чаях выявлен более широкий спектр МТ и ЭМТ, в том числе тех, которые регламентируются в пищевой продукции. Из них содержание 12 превышало следовые количества. Ни в одном из 77 образцов не обнаружено превышение установленного норматива AFLB1 (<5 мкг/кг).

Образование МТ плесневыми контаминантами чая в модельных условиях *in vitro*

№ образца чая	Видовой состав жизнеспособных плесневых грибов в исходных образцах сухого чая*	Микотоксины, выявленные в питательной среде в условиях <i>in vitro</i>	
		на уровне > МОК, мкг/кг	на уровне < МОК, следы
2	<i>Aspergillus секциии Nigri, Mucor sp., Fusarium sp., Alternaria sp.</i>	EnnB-1,8	TE
3	<i>Aspergillus sp., Penicillium sp., Mucor sp., Fusarium sp., Alternaria sp.,</i>	BEA-9,0	AME
4	<i>Aspergillus секциии Nigri, Mucor sp., Fusarium sp., Alternaria sp.</i>	<b>FB1-294; FB2-218; ZEA-128</b>	BEA
5	<i>Aspergillus секциии Nigri, Mucor sp., Penicillium sp., Fusarium sp., Alternaria sp.</i>	<b>FB2-952</b>	STC, T-2, BEA, DAS
6	<i>Aspergillus секциии Nigri, Mucor sp., Alternaria sp.</i>	STC-14,4; <b>FB2-4,8</b>	β-ZEL, AME
7	<i>Penicillium sp., Aspergillus sp., Aspergillus секциии Nigri, Mucor sp., Epicoccus sp., Fusarium sp., Alternaria sp.</i>	MPA-23	AFLB1, BEA, T-2
8	<i>Aspergillus секциии Nigri, Mucor sp., Fusarium sp., Penicillium sp., Alternaria sp.</i>	BEA-1,36	–
9	<i>Penicillium sp., Aspergillus секциии Nigri, Aspergillus sp., Mucor sp., Fusarium sp. Alternaria sp.</i>	<b>FB2-5624; MPA-303</b>	EnnA и B, BEA
10	<i>Penicillium sp., Aspergillus секциии Nigri, Aspergillus sp., Fusarium sp.,</i>	MPA-45	–
11	<i>Penicillium sp., Aspergillus sp., Aspergillus секциии Nigri, Mucor sp., Fusarium sp. Epicoccus sp., Alternaria sp.</i>	<b>AME-158</b>	BEA
12	<i>Aspergillus секциии Nigri, Aspergillus sp., Penicillium sp., Mucor sp., Fusarium sp.</i>	–	AFLB1, BEA
Субстрат**	Не обнаружены	–	–

Примечание: \* – по данным, полученным авторами ранее [13]; \*\* – зеленый чай *C. sinensis*; «–» – МТ не обнаружены.

Полученные данные об обнаружении микотоксинов, в том числе малоизученных эмерджентных, и их сочетанной контаминации в традиционных (*C. sinensis*) и травяных чаях показывают, что с учетом кумулятивных эффектов, даже на низких уровнях, эти контаминанты могут представлять потенциальную опасность для здоровья человека при длительном поступлении в организм. Для оценки безопасности этого вида продукции необходим ее мониторинг и накопление массива данных о контаминации спектром микотоксинов, включая эмерджентные.

Сопоставление загрязненности чаев микотоксинами и плесневыми грибами показало, что низкие уровни плесневой контаминации не служат гарантией отсутствия микотоксинов, но с увеличением численности плесеней спектр микотоксинов расширяется.

Исследование токсигенных свойств микофлоры чая в условиях *in vitro*, приближенных к естественным (где в качестве субстрата были использованы листья зеленого чая *C. sinensis*), подтвердило способность токсигенных видов плесневых грибов, загрязняющих чай, продуцировать одновременно разные виды МТ и ЭМТ в значительных количествах, сопоставимых с уровнями, нормируемыми в

пищевой продукции растительного происхождения (мкг/кг): FB1-294, FB2-5624, ZEN-128, STC-14,4 AME-158.

**Сокращенные названия:** альтернариол (АОН), афлатоксины B1, B2, G1 и G2 (AFL B1, B2, G1 и G2), 3- и 15-ацетил дезоксиниваленол (3- и 15-AcDON), боверин (BEA), дезоксиниваленол (DON), диацетоксискирпенол (DAS), α-зеараланол (зеаранол, α-ZAL), β-зеараланол (талеранол, β-ZAL), α- и β-зеараленол (α- и β-ZEL), зеараленон (ZEN), микрофеноловая кислота (MPA), метиловый эфир альтернариола (AME), монилиформин (МО), неосоланиол (NeoS), ниваленол (NIV), стеригматоцистин (STC), тентоксин (TE), T-2 (T-2-токсин), HT-2 (HT-2-токсин), T-2-триол (T-2-triol), фузаренон X (4-ацетил ниваленол, FusX), фумонизины B1 и B2 (FB1 и FB2), энниатины A и B (EnnA, EnnB).

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

**Конфликт интересов.** Авторы статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы

1. Worldwide regulations for mycotoxins in foods and feeds in 2003. Food and Agriculture Organization (FAO) [Электронный ресурс] // FAO Food and Nutrition Paper 81. – Rome, Italy, 2004. – URL: <http://www.fao.org/3/y5499e/y5499e00.htm> (дата обращения: 20.11.2019).
2. The Mycotox Charter: Increasing Awareness of, and Concerted Action for, Minimizing Mycotoxin Exposure Worldwide / A.F. Logrieco, J.D. Miller, M. Eskola, R. Krska, A. Ayalew, R. Bandyopadhyay, P. Battilani, D. Bhatnagar [et al.] // Toxins. – 2018. – Vol. 10, № 149. – P. E149. DOI: 10.3390/toxins10040149

3. Njumbe Ediage E., Van Poucke C., De Saeger S. A multi-analyte LC-MS/MS method for the analysis of 23 mycotoxins in different sorghum varieties: the forgotten sample matrix // *Food chemistry*. – 2015. – Vol. 15, № 177. – P. 397–404. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.01.060
4. Development of a new method for the simultaneous determination of 21 mycotoxins in coffee beverages by liquid chromatography tandem mass spectrometry / A. García-Moraleja, G. Font, J. Mañes, E. Ferrer // *Food Research International*. – 2015. – Vol. 72. – P. 247–255. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.02.030
5. Abdallah M.F., Krska R., Sulyok M. Occurrence of Ochratoxins Fumonisin B2 Aflatoxins (B1 and B2) and Other Secondary Fungal Metabolites in Dried Date Palm Fruits from Egypt: A Mini-Survey // *Journal of food science*. – 2018. – Vol. 83, № 2. – P. 559–564. DOI: 10.1111/1750-3841.14046
6. Simultaneous analysis of twenty-six mycotoxins in durum wheat grain from Italy / C. Juan, L. Covarelli, G. Beccari, V. Colasante, J. Manes // *Food Control*. – 2016. – Vol. 62. – P. 322–329. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.10.032
7. Emerging Fusarium and Alternaria Mycotoxins: Occurrence, Toxicity and Toxicokinetics / S. Fraeyman, S. Croubels, M. Devreese, G. Antonissen // *Toxins*. – 2017. – Vol. 18, № 9 (7). – P. E228. DOI: 10.3390/toxins9070228
8. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of Alternaria-toxins in feed and food // *EFSA Journal*. – 2011. – Vol. 9, № 10. – P. 2407. DOI: 10.2903/j.efsa.2011.2407
9. Scientific Opinion on the risks to human and animal health related to the presence of beauvericin and enniatins in food and feed // *EFSA Journal*. – 2014. – Vol. 12, № 8. – P. 3802. DOI: 10.2903/j.efsa.2014.3802
10. Токсико-гигиеническая характеристика микотоксина стеригматоцистин и методы его определения в пищевых продуктах / И.Б. Седова, М.Г. Киселева, Л.П. Захарова, В.А. Тутельян // *Гигиена и санитария*. – 2019. – Т. 98, № 1. – С. 105–117.
11. Sedova I., Kiseleva M., Tutelyan V. Mycotoxins in Tea: Occurrence, Methods of Determination and Risk Evaluation // *Toxins*. – 2018. – Vol. 10, № 11. – P. 444. DOI: 10.3390/toxins10110444
12. Rocha-Miranda F., Venancio A. Mycotoxigenic fungi in plant-based supplements and medicines // *Current Opinion in Food Science*. – 2019. – Vol. 30. – P. 27–31. DOI: 10.1016/j.cofs.2018.08.003
13. Изучение загрязненности чая и чайных травяных напитков плесневыми грибами – потенциальными продуцентами микотоксинов – первый шаг к оценке риска (Сообщение 1) / Л.П. Минаева, А.И. Алёшкина, Ю.М. Маркова, А.С. Полянина, Т.В. Пичугина, И.Б. Быкова, В.В. Стеценко, Н.Р. Ефимочкина, С.А. Шевелева // *Анализ риска здоровью*. – 2019. – № 1. – С. 93–102. DOI: 10.21668/health.risk/2019.1.10
14. Co-Occurrence of Beauvericin and Enniatins in Edible Vegetable Oil Samples, China / X. Han, W. Xu, J. Zhang, J. Xu, F. Li // *Toxins*. – 2019. – Vol. 11, № 2. – P. 100. DOI: 10.3390/toxins11020100
15. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 56. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins // *International Agency for Research on Cancer*. – Lyon, France, 1993. – 609 p.
16. The Microbiome and Metabolites in Fermented Pu-erh Tea as Revealed by High-Throughput Sequencing and Quantitative Multiplex Metabolite Analysis / Y. Zhang, I. Skaar, M. Sulyok, X. Liu, M. Rao, J.W. Taylor // *PLoS ONE*. – 2016. – Vol. 11. – P. e0157847. DOI: 10.1371/journal.pone.0157847
17. Investigation for Pu-erh tea contamination caused by mycotoxins in a tea market in Guangzhou / J.-Y. Wu, G.-Y. Yang, J.-L. Chen, W.-X. Li, J.-T. Li, C.-X. Fu, G.-F. Jiang, W. Zhu // *J. Basic Appl. Sci.* – 2014. – Vol. 10. – P. 349–356. DOI: 10.6000/1927-5129.2014.10.46
18. Identification and quantification of fungi and mycotoxins from Pu-erh tea / D. Haas, B. Pfeifer, C. Reiterich, R. Partenheimer, B. Reck, W. Buzina // *Int. J. Food Microbiol.* – 2013. – Vol. 166. – P. 316–322. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.024
19. Синтез микофеноловой кислоты грибами рода *Penicillium link* / Н.Г. Винокурова, Н.Е. Иванушкина, Г.А. Кочкина, М.У. Аринбасаров, С.М. Озерская // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2005. – Vol. 41, № 1. – P. 95–98.
20. Burkin A.A., Kononenko G.P. Producers of mycophenolic acid in ensiled and grain feeds // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2010. – Vol. 46, № 5. – P. 545–550. DOI: 10.1134/S0003683810050145
21. Compendium of Guidelines for Herbal and Fruit Infusions [Электронный ресурс] // *Tea & Herbal Infusions Europe (THIE)*. – URL: [http://www.thie-online.eu/fileadmin/inhalte/Publications/HFI/2018/2018-07-17\\_Compendium\\_of\\_Guidelines\\_for\\_Herbal\\_Infusions\\_-\\_ISSUE\\_6.pdf](http://www.thie-online.eu/fileadmin/inhalte/Publications/HFI/2018/2018-07-17_Compendium_of_Guidelines_for_Herbal_Infusions_-_ISSUE_6.pdf) (дата обращения: 26.11.2019).
22. Venkatesh N., Keller N.P. Mycotoxins in Conversation with Bacteria and Fungi // *J. Front Microbiol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 403. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00403
23. Mycotoxins in herbal teas marketed in Latvia and dietary exposure assessment / I. Reinholds, E. Bogdanova, I. Pugajeva, V. Bartkevics // *J. Food Additives & Contaminants: Part B*. – 2019. – Vol. 12, № 3. – P. 199–208. DOI: 10.1080/19393210.2019.1597927
24. Screening of mycotoxin multicontamination in medicinal and aromatic herbs sampled in Spain / L. Santos, S. Marín, V. Sanchis, A.J. Ramos // *J. Sci. Food Agric.* – 2009. – Vol. 89. – P. 1802–1807. DOI: 10.1002/jsfa.3647
25. Буркин А.А., Кононенко Г.П. Контаминация микотоксинами луговых трав в европейской части России // *Сельскохозяйственная биология*. – 2015. – Т. 50, № 4. – С. 503–512. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.4.503rus
26. Speijers G.J.A., Speijers M.H.M. Combined toxic effects of mycotoxins // *J. Toxicol. Lett.* – 2004. – Vol. 153. – P. 91–98. DOI: 10.1016/j.toxlet.2004.04.046
27. Individual and Combined Cytotoxic Effects of Co-Occurring Deoxynivalenol Family Mycotoxins on Human Gastric Epithelial Cells / Y. Yang, S. Yu, Y. Tan, N. Liu, A. Wu // *J. Toxins (Basel)*. – 2017. – Vol. 9, № 3. – P. 96. DOI: 10.3390/toxins9030096
28. Combination of selenomethionine and N-acetylcysteine alleviates the joint toxicities of aflatoxin B1 and ochratoxin A by ERK MAPK signal pathway in porcine alveolar macrophages / L.L. Hou, X. Zhou, F. Gan, Z.X. Liu, Y.J. Zhou, G. Qian, K. Huang // *J. Agric. Food Chem.* – 2018. – Vol. 66, № 23. – P. 5913–5923. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b01858
29. Toxicological interactions between the mycotoxins beauvericin, deoxynivalenol and T-2 toxin in CHO-K1 cells in vitro / M.J. Ruiz, P. Franzova, A. Juan-García, G. Font // *Toxicon*. – 2011. – Vol. 58, № 4. – P. 315–326. DOI: 10.1016/j.toxicon.2011.07.015

30. Natural Co-Occurrence of Mycotoxins in Foods and Feeds and Their in Vitro Combined Toxicological Effects / M.C. Smith, S. Madec, E. Coton, N. Hymery // *Toxins* (Basel). – 2016. – Vol. 8, № 4. – P. 94. DOI: 10.3390/toxins8040094
31. Opinion on the potential microbiological risk arising from the presence of moisture in tea [Электронный ресурс] // Scientific Committee on Foods, European Union. – 2016. – URL: <http://www.thic-online.eu/tea/quality-assurance/> (дата обращения: 26.11.2019).
32. Inhibitory effects of tea extract on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* / H.Z. Mo, H. Zhang, Q.H. Wu, L.B. Hu // *Lett. Appl. Microbiol.* – 2013. – Vol. 56. – P. 462–466. DOI: 10.1111/lam.12073
33. Comparative assessment of the quality of commercial black and green tea using microbiology analyses / F. Carraturo, O. De Castro, J. Troisi, A. De Luca, A. Masucci, P. Cennamo, M. Trifuoggi, F. Aliberti // *BMC Microbiology.* – 2018. – Vol. 18, № 1. – P. 4. DOI: 10.1186/s12866-017-1142-z
34. Isolation of mycotoxins producing black aspergilli in herbal teas available on the Swiss market / M. Storari, F.G. Dennert, L. Bigler, C. Gessler, G.A.L. Broggini // *Food Control.* – 2012. – Vol. 26. – P. 157–161. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.01.026
35. Mycotoxigenic Potentials of *Fusarium* Species in Various Culture Matrices Revealed by Mycotoxin Profiling / W. Shi, Y. Tan, S. Wang, D.M. Gardiner S., De Saeger, Y. Liao, C. Wang, Y. Fan, Z. Wang, A. Wu // *Toxins.* – 2017. – Vol. 9, № 1. – P. 6. DOI: 10.3390/toxins9010006
36. Effect of temperature and water activity on the production of fumonisins by *Aspergillus niger* and different *Fusarium* species / J.M. Mogensen, K.F. Nielsen, R.A. Samson, J.C. Frisvad, U. Thrane // *BMC Microbiol.* – 2009. – Vol. 31, № 9. – 281 p. DOI: 10.1186/1471-2180-9-281

*Изучение загрязнённости чая и чайных травяных напитков микотоксинами (Сообщение 2) / М.Г. Киселева, З.А. Чалый, И.Б. Седова, Л.П. Минаева, С.А. Шевелева // Анализ риска здоровью. – 2020. – № 1. – С. 38–51. DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.04*

UDC 542.06;543.544.5.068.7;579.674  
DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.04.eng



## STUDYING THE CONTAMINATION OF TEA AND HERBAL INFUSIONS WITH MYCOTOXINS (MESSAGE 2)

**M.G. Kiseleva, Z.A. Chalyy, I.B. Sedova, L.P. Minaeva, S.A. Sheveleva**

Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky lane, Moscow, 109240, Russian Federation

*The occurrence of wide spectrum of mycotoxins has been studied in C. sinensis and herbal tea available in the Russian Federation by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometer (UHPLC-MS/MS). The batch of 77 samples consisted of 54 samples of bulk loose (prepacked) and packed C. sinensis tea and 23 individual and mixed herbal teas. The list of determined analytes included 29 mycotoxins: regulated in food (aflatoxins, ochratoxin A, deoxivalenol, fumonisins, T-2 toxin and zearalenone), their derivatives and structural analogues (A- and B-trichothecenes, mycotoxins of zearalenone group) and emerging mycotoxins (sterigmatocystin, mycophenolic acid, enniatins, beauvericin, Alternaria toxins). Samples of green and black C. sinensis tea were almost negative or contaminated at about LOD levels. Herbal teas, especially multi component, proved to be the most contaminated. Co-occurrence of several analytes (over five), including regulated and emerging mycotoxins, has been detected. The most frequent pattern was mycophenolic acid, Alternaria mycotoxins (tentoxin, alternariol and its methyl ether), enniatin B, beauvericin and sterigmatocystin. Beauvericin, enniatin B and mycophenolic acid were common for all types of studied tea samples. The study of the toxinogenic properties*

© Kiseleva M.G., Chalyy Z.A., Sedova I.B., Minaeva L.P., Sheveleva S.A., 2020

**Mariya G. Kiseleva** – PhD in chemistry, Researcher at the laboratory of enzymology of nutrition (e-mail: [mg\\_kiseleva@ion.ru](mailto:mg_kiseleva@ion.ru); tel.: +7 (495) 698-53-65; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1057-0886>).

**Zakhar A. Chalyy** – Laboratory Assistant Researcher at the laboratory of enzymology of nutrition (e-mail: [brew@ion.ru](mailto:brew@ion.ru); tel.: +7 (495) 698-53-65); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9371-8163>).

**Irina B. Sedova** – PhD in biology, Senior researcher at the laboratory of enzymology of nutrition (e-mail: [isedova@ion.ru](mailto:isedova@ion.ru); tel.: +7 (495) 698-53-65; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6011-4515>).

**Lyudmila P. Minaeva** – PhD in Technical Sciences, Senior researcher at the laboratory of biosafety and nutrimicrobiome analysis (e-mail: [liuminaeva-ion@mail.ru](mailto:liuminaeva-ion@mail.ru); tel.: +7 (495) 698-53-83; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1853-5735>).

**Svetlana A. Sheveleva** – Doctor of Medical Sciences, Head of the laboratory of biosafety and nutrimicrobiome analysis (e-mail: [sheveleva@ion.ru](mailto:sheveleva@ion.ru); tel.: +7 (495) 6 98-53-83; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5647-9709>).

of tea mycoflora in vitro showed the ability of toxigenic species of molds to produce significant quantities of several types of mycotoxins, including emergent, simultaneously. The production of mycotoxins by molds on a substrate of *C. sinensis* green tea leaves has been 290 and 5600 µg/kg of fumonisins B1 and B2 correspondingly, 130 µg/kg of zearalenone, 14 µg/kg of sterigmatocystin and 160 µg/kg of alternariol methyl ether. These results indicate a potential risk of herbal teas to human health associated with wide spectrum of mycotoxins, especially emerging ones. Their regular monitoring in tea and data accumulation is necessary to assess the safety of this type of food products. The present study is the first attempt to estimate contamination of tea available in Russia with toxigenic mold and their secondary metabolites.

**Keywords:** mycotoxins; emergent mycotoxins; fungal contamination; in vitro mycotoxin production; *C. sinensis* tea; herbal tea; UHPLC-MS/MS.

## References

1. Worldwide regulations for mycotoxins in foods and feeds in 2003. Food and Agriculture Organization (FAO). *FAO Food and Nutrition Paper 81*, Rome, Italy, 2004. Available at: <http://www.fao.org/3/y5499e/y5499e00.htm> (20.11.2019).
2. Logrieco A.F., Miller J.D., Eskola M., Krska R., Ayalew A., Bandyopadhyay R., Battilani P., Bhatnagar D. [et al.]. The Mycotox Charter: Increasing Awareness of, and Concerted Action for, Minimizing Mycotoxin Exposure Worldwide. *Toxins*, 2018, vol. 10, no. 149, pp. E149. DOI: 10.3390/toxins10040149 3
3. Njumbe Ediage E., Van Poucke C., De Saeger S. A multi-analyte LC-MS/MS method for the analysis of 23 mycotoxins in different sorghum varieties: the forgotten sample matrix. *Food chemistry*, 2015, vol. 15, no. 177, pp. 397–404. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.01.060
4. García-Moraleja A., Font G., Mañes J., Ferrer E. Development of a new method for the simultaneous determination of 21 mycotoxins in coffee beverages by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Research International*, 2015, vol. 72, pp. 247–255. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.02.030
5. Abdallah M.F., Krska R., Sulyok M. Occurrence of Ochratoxins Fumonisin B2 Aflatoxins (B1 and B2) and Other Secondary Fungal Metabolites in Dried Date Palm Fruits from Egypt: A Mini-Survey. *Journal of food science*, 2018, vol. 83, no. 2, pp. 559–564. DOI: 10.1111/1750-3841.14046
6. Juan C., Covarelli L., Beccari G., Colasante V., Manes J. Simultaneous analysis of twenty-six mycotoxins in durum wheat grain from Italy. *Food Control*, 2016, vol. 62, pp. 322–329. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.10.032
7. Fraeyman S., Croubels S., Devreese M., Antonissen G. Emerging Fusarium and Alternaria Mycotoxins: Occurrence, Toxicity and Toxicokinetics. *Toxins*, 2017, vol. 18, no. 9 (7), pp. E228. DOI: 10.3390/toxins9070228
8. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of Alternaria-toxins in feed and food. *EFSA Journal*, 2011, vol. 9, no. 10, pp. 2407. DOI: 10.2903/j.efsa.2011.2407
9. Scientific Opinion on the risks to human and animal health related to the presence of beauvericin and enniatins in food and feed. *EFSA Journal*, 2014, vol. 12, no. 8, pp. 3802. DOI: 10.2903/j.efsa.2014.3802
10. Sedova I.B., Kiseleva M.G., Zakharova L.P., Tutelyan V.A. Toxicological and hygienic characteristics of mycotoxin sterigmatocystin and methods for its determination in food products. *Gigiena i sanitariya*, 2019, vol. 98, no. 1, pp. 105–117 (in Russian).
11. Sedova I., Kiseleva M., Tutelyan V. Mycotoxins in Tea: Occurrence, Methods of Determination and Risk Evaluation. *Toxins*, 2018, vol. 10, no. 11, pp. 444. DOI: 10.3390/toxins10110444
12. Rocha-Miranda F., Venancio A. Mycotoxigenic fungi in plant-based supplements and medicines. *Current Opinion in Food Science*, 2019, vol. 30, pp. 27–31. DOI: 10.1016/j.cofs.2018.08.003
13. Minaeva L.P., Aleshkina A.I., Markova Y.M., Polyanina A.S., Pichugina T.V., Bykova I.B., Stetsenko V.V., Efimochkina N.R., Sheveleva S.A. Studying the contamination of tea and herbal infusions with mold fungi as potential mycotoxin producers: The first step to risk assessment (Message 1). *Health Risk Analysis*, 2019, no. 1, pp. 93–102 (in Russian). DOI: 10.21668/health.risk/2019.1.10\_eng
14. Han X., Xu W., Zhang J., Xu J., Li F. Co-Occurrence of Beauvericin and Enniatins in Edible Vegetable Oil Samples, China. *Toxins*, 2019, vol. 11, no. 2, pp. 100. DOI: 10.3390/toxins11020100
15. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 56. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. *International Agency for Research on Cancer*, Lyon, France, 1993, 609 p.
16. Zhang Y., Skaar I., Sulyok M., Liu X., Rao M., Taylor J.W. The Microbiome and Metabolites in Fermented Pu-erh Tea as Revealed by High-Throughput Sequencing and Quantitative Multiplex Metabolite Analysis. *PLoS ONE*, 2016, vol. 11, pp. e0157847. DOI: 10.1371/journal.pone.0157847
17. Wu J.-Y., Yang G.-Y., Chen J.-L., Li W.-X., Li J.-T., Fu C.-X., Jiang G.-F., Zhu W. Investigation for Pu-erh tea contamination caused by mycotoxins in a tea market in Guangzhou. *J. Basic Appl. Sci.*, 2014, vol. 10, pp. 349–356. DOI: 10.6000/1927-5129.2014.10.46
18. Haas D., Pfeifer B., Reiterich C., Partenheimer R., Reck B., Buzina W. Identification and quantification of fungi and mycotoxins from Pu-erh tea. *Int. J. Food Microbiol.*, 2013, vol. 166, pp. 316–322. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.024
19. Vinokurova N.G., Ivanushkina N.E., Kochkina G.A., Arinbasarov M.U., Ozerskaya S.M. Production of Mycophenolic acid by fungi of the genus *Penicillium* Link. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2005, vol. 41, no. 1, pp. 95–98 (in Russian).
20. Burkin A.A., Kononenko G.P. Producers of mycophenolic acid in ensiled and grain feeds. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2010, vol. 46, no. 5, pp. 545–550. DOI: 10.1134/S0003683810050145
21. Compendium of Guidelines for Herbal and Fruit Infusions. *Tea & Herbal Infusions Europe (THIE)*. Available at: [http://www.thie-online.eu/fileadmin/inhalte/Publications/HFI/2018/2018-0717\\_Compendium\\_of\\_Guidelines\\_for\\_Herbal\\_Infusions\\_-\\_ISSUE\\_6.pdf](http://www.thie-online.eu/fileadmin/inhalte/Publications/HFI/2018/2018-0717_Compendium_of_Guidelines_for_Herbal_Infusions_-_ISSUE_6.pdf) (26.11.2019).

22. Venkatesh N., Keller N.P. Mycotoxins in Conversation with Bacteria and Fungi. *J. Front Microbiol*, 2019, vol. 10, pp. 403. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00403
23. Reinholds I., Bogdanova E., Pugajeva I., Bartkevics V. Mycotoxins in herbal teas marketed in Latvia and dietary exposure assessment. *J. Food Additives & Contaminants: Part B*, 2019, vol. 12, no. 3, pp. 199–208. DOI: 10.1080/19393210.2019.1597927
24. Santos L., Marin S., Sanchis V., Ramos A.J. Screening of mycotoxin multicontamination in medicinal and aromatic herbs sampled in Spain. *J. Sci Food Agric*, 2009, vol. 89, pp. 1802–1807. DOI: 10.1002/jsfa.3647
25. Burkin A.A., Kononenko G.P. Mycotoxin contamination of meadow grasses in European Russia. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*, 2015, vol. 50, no. 4, pp. 503–512 (in Russian). DOI: 10.15389/agrobiology.2015.4.503rus
26. Speijers G.J.A., Speijers M.H.M. Combined toxic effects of mycotoxins. *J. Toxicol Lett*, 2004, vol. 153, pp. 91–98. DOI: 10.1016/j.toxlet.2004.04.046
27. Yang Y., Yu S., Tan Y., Liu N., A. Wu. Individual and Combined Cytotoxic Effects of Co-Occurring Deoxynivalenol Family Mycotoxins on Human Gastric Epithelial Cells. *J. Toxins (Basel)*, 2017, vol. 9, no. 3, pp. 96. DOI: 10.3390/toxins9030096
28. Hou L.L., Zhou X., Gan F., Liu Z.X., Zhou Y.J., Qian G., Huang K. Combination of selenomethionine and N-acetylcysteine alleviates the joint toxicities of aflatoxin B1 and ochratoxin A by ERK MAPK signal pathway in porcine alveolar macrophages. *J. Agric. Food Chem*, 2018, vol. 66, no. 23, pp. 5913–5923. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b01858
29. Ruiz M.J., Franzova P., Juan-Garcia A., Font G. Toxicological interactions between the mycotoxins beauvericin, deoxynivalenol and T-2 toxin in CHO-K1 cells in vitro. *Toxicon*, 2011, vol. 58, no. 4, pp. 315–326. DOI: 10.1016/j.toxicon.2011.07.015
30. Smith M.C., Madec S., Coton E., Hymery N. Natural Co-Occurrence of Mycotoxins in Foods and Feeds and Their in Vitro Combined Toxicological Effects. *Toxins (Basel)*, 2016, vol. 8, no. 4, pp. 94. DOI: 10.3390/toxins8040094
31. Opinion on the potential microbiological risk arising from the presence of moisture in tea. *Scientific Committee on Foods, European Union*, 2016. Available at: <http://www.thie-online.eu/tea/quality-assurance/> (26.11.2019).
32. Mo H.Z., Zhang H., Wu Q.H., Hu L.B. Inhibitory effects of tea extract on aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Lett. Appl. Microbiol*, 2013, vol. 56, pp. 462–466. DOI: 10.1111/lam.12073
33. Carraturo F., De Castro O., Troisi J., De Luca A., Masucci A., Cennamo P., Trifuoggi M., Aliberti F. Comparative assessment of the quality of commercial black and green tea using microbiology analyses. *BMC Microbiology*, 2018, vol. 18, no. 1, pp. 4. DOI: 10.1186/s12866-017-1142-z
34. Storari M., Dennert F.G., Bigler L., Gessler C., Brogini G.A.L. Isolation of mycotoxins producing black aspergilli in herbal teas available on the Swiss market. *Food Control*, 2012, vol. 26, pp. 157–161. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.01.026
35. Shi W., Tan Y., Wang S., Gardiner D.M., De Saeger S., Liao Y., Wang C., Fan Y., Wang Z., Wu A. Mycotoxigenic Potentials of *Fusarium* Species in Various Culture Matrices Revealed by Mycotoxin Profiling. *Toxins*, 2017, vol. 9, no. 1, pp. 6. DOI: 10.3390/toxins9010006
36. Mogensen J.M., Nielsen K.F., Samson R.A., Frisvad J.C., Thrane U. Effect of temperature and water activity on the production of fumonisins by *Aspergillus niger* and different *Fusarium* species. *BMC Microbiol*, 2009, vol. 31, no. 9, 281 p. DOI: 10.1186/1471-2180-9-281

**Abbreviations:** alternariol (AOH); aflatoxins B1, B2, G1 and G2 (AFLB1, B2, G1 and G2); 3- and 15-acetyldeoxynivalenol (3- and 15-AcDON); beauvericin (BEA); deoxynivalenol (DON); diacetoxyscirpenol (DAS);  $\alpha$ -zearalanol (zearanol,  $\alpha$ -ZAL);  $\beta$ -zearalanol (taleranol,  $\beta$ -ZAL);  $\alpha$ - and  $\beta$ -zearalenol ( $\alpha$ - and  $\beta$ -ZEL); zearalenone (ZEA); mycophenolic acid (MPA); alternariol methyl ether (AME); moniliformin (MO); neosolaniol (NeoS); nivalenol (NIV); sterigmatocystin (STC); tentoxin (TE); T-2 (T-2 toxin); HT-2 (HT-2 toxin); T-2 triol (T-2 triol); fusarenone X (4-acetyl nivalenol, FusX); fumonisins B1 and B2 (FB1 and FB2); enniatins A and B (Enn A and B).

*Kiseleva M.G., Chalyy Z.A., Sedova I.B., Minaeva L.P., Sheveleva S.A. Studying the contamination of tea and herbal infusions with mycotoxins (Message 2). Health Risk Analysis, 2020, no. 1, pp. 38–51. DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.04.eng*

Получена: 28.11.2019

Принята: 03.02.2020

Опубликована: 30.03.2020