# ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ

### ՀՈՎՍԵՓՅԱՆ ՎԱՐԴՈՒՀԻ ՎԱՐԴԳԵՍԻ

# ՈՐՈՇ ՀԱՄԵՄՈՒՆՔՆԵՐՆ ԱՂՏՈՏՈՂ ՄՆԿԵՐԻ ՏԵՍԱԿԱՅԻՆ ԿԱԶՄԸ ԵՎ ՏՈՔՍԻԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

Գ.00.17 - «Սնկաբանություն» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

### ՍԵՂՄԱԳԻՐ

#### ԵՐԵՎԱՆ - 2012

### НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ

### ОВСЕПЯН ВАРДУИ ВАРДГЕСОВНА

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ТОКСИЧНОСТЬ ГРИБОВ, КОНТАМИНИРУЮЩИХ НЕКОТОРЫЕ СПЕЦИИ

#### **ABTOPE PAT**

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности "03.00.17" – "Микология"

### Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում:

### Գիտանան ոենավար՝

կենսաբանական գիտությունների թեկնածու

Կ.Մ. Գրիգորյան

# Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

կենսաբանական գիտությունների դոկտոր կենսաբանական գիտությունների թեկնածու Հ.Գ. Բատիկյան Ա.Հ. Գրիգորյան

### Առաջատար կազմակերպություն՝

# Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան

Պաշտպանությունը կայանալու է 2012թ. նոյեմբերի 28-ին ժամը 1400-ին ՀՀ ԲՈՀ-ի Կենսաբազմազանության և էկոլոգիայի 035 մասնագիտական խորհրդում։

Հասցե՝ 0063, թ.Երևան, Ամաոյան 1, ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտ

E-mail: botanyinst@sci.am

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ህህብ Բուսաբանության ինստիտուտի գրադարանում և <u>www.sczhe.sci.am</u> կայքում։

Սեղմագիրն առաքված է 2012թ. հոկտեմբերի 26-ին։

035 մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,

կենսաբանական գիտությունների թեկնածու

К.М. Григорян

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете.

### Научный руководитель:

кандидат биологических наук Официальные оппоненты:

доктор биологических наук А.Г. Батикян кандидат биологических наук А.Г. Григорян

Ведущая организация:

Государственный аграрный университет Армении

Защита диссертации состоится 28-го ноября 2012г. в  $14^{00}$  часов на заседании специализированного совета 035 по биоразнообразию и экологии ВАК РА.

Адрес: 0063, ул. Ачаряна 1, Институт ботаники НАН РА.

E-mail: botanyinst@sci.am

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института ботаники НАН РА и на сайте www.sczhe.sci.am

Автореферат диссертации разослан 26 - го октября 2012г.

Ученый секретарь специализированного совета 035, **Диссе Д.Г. Хачатрян** 

### ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Проблема обеспечения безопасности пищевых продуктов является одной из актуальных во всем мире. Обусловлено это повышением загрязненности окружающей среды и выявлением новых опасных для здоровья человека контаминантов пищевых продуктов, загрязняющих его внутреннюю среду.

Среди многочисленных контаминантов продуктов питания особую тревогу вызывают микроскопические плеснеобразующие грибы. Поражая пищевые продукты, они влияют на их качество и могут способствовать накоплению микотоксинов, представляющих опасность для здоровья человека и сельскохозяйственных животных. По данным различных источников (Berthiller et al., 2007; Shephard, 2008; Cigiae, Prosen, 2009) известно от 200 до 300 видов плесневых грибов, продуцирующих более 150-200 токсических метаболитов.

Безопасность специй, широко используемых в разных отраслях пищевой индустрии, является широко актуальной проблемой для многих как развивающихся, так и развитых стран. Специи и пряные травы должны соответствовать международным стандартным требованиям по безопасности и качеству с целью снижения рисков, связанных с их использованием в качестве ингредиентов в пищевой индустрии (Guarque, 1977; Elshae, 2002).

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы является выявление степени контаминации специй (красный перец, черный перец и смесь пряных трав — сунели) мицелиальными грибами и проведение оценки риска загрязнения их микотоксинами.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- 1. Определить видовой состав грибов, контаминирующих некоторые специи (красный перец, черный перец и сунели).
- 2. Определить частоту встречаемости и уровень заспоренности образцов изученных специй мицелиальными грибами.
- 3. Выявить факторы, влияющие на контаминацию красного перца афлатоксигенными грибами в период вегетации и после сбора урожая.
- 4. Изучить влияние гигиенических условий производства красного перца на уровень контаминации готового продукта мицелиальными токсигенными грибами.
- 5. Исследовать токсигенный потенциал изолированных штаммов грибов, с использованием методов биотестирования и хроматографического анализа грибных экстрактов.
- 6. Выявить наличие афлатоксина  $B_1$  в образцах специй методом хроматографического анализа.

**Научная новизна**. Впервые в Армении проведено исследование по выявлению видового состава микобиоты, контаминирующей красный перец, черный перец и сунели, используемых в качестве ингредиентов при приготовлении пищевых продуктов.

Впервые установлена токсигенность штаммов Aspergillus flavus, контаминирующих красный перец и сунели, а также наличие афлатоксина  $B_1$  в образцах указанных специй.

Проведен мониторинг загрязнения красного перца на разных стадиях переработки в некоторых районах, с целью выявления возможных источников контаминации сырья и готового пищевого продукта афлатоксигенными грибами.

Дана оценка риска возможности загрязнения красного перца афлатоксигенными штаммами мицелиальных грибов.

Практическая и теоретическая значимость. Полученные результаты свидетельствуют о существовании высокого риска для здоровья при использовании в качестве специй красного перца, контаминированного токсигенными штаммами A. flavus. Установлено, что при сертификации красного перца, наряду с учетом общего количества мицелиальных грибов, необходимо проводить количественную оценку загрязнения перца видом A. flavus — потенциальным продуцентом афлатоксина  $B_1$ . Результаты по анализу рисков, существующих в процессе переработки красного перца, показали, что технологические режимы сушки должны быть разработаны с учетом особенностей штаммов вида A. flavus. Полученные данные свидетельствуют о необходимости соблюдения гигиенических условий в период вегетации и на всех стадиях производства, упаковки и хранения красного перца, которые являются решающими факторами, обеспечивающими его микотоксикологическую безопасность.

#### Основные положения, выносимые на защиту

- 1. Специи (красный перец, черный перец и сунели) загрязняются видами микромицетов из классов Zygomycetes и Deuteromycetes.
- 2. При микологическом анализе красного перца на разных стадиях переработки чаще всего имеет место его контаминация грибами из родов Aspergillus, Alternaria, Cladosporium и Stemphylium.
- 3. При фитотестировании на семенах зеленого горошка 81% исследованных штаммов *А. flavus*, выделенных из красного перца, проявляют токсичные свойства разной степени.
- 4. Штаммы *A. flavus*, выделенные из красного перца, продуцируют афлатоксин B<sub>1</sub>, а штаммы *A. versicolor*, выделенные из сунели стеригматоцистин.
- 5. Контаминированный молотый красный перец загрязняется афлатоксином B<sub>1</sub>

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на V Всероссийском конгрессе по медицинской микологии (Москва, 2007г.), XII международном симпозиуме по микотоксинам и фикотоксинам (Стамбул, Турция, 21-25 мая, 2007г.), международной научной конференции в Государственном аграрном университете Армении (1-2 октября, 2008г.), второй научной конференции по лекарственным, ароматическим и пряным травам (сентябрь 6-7, 2011г., Словакия), первом Северо-Европейском конгрессе по пищевым продуктам (Апрель 22-24, 2012г., Россия, Санкт — Петербург), научных семинарах кафедры ботаники биологического факультета Ереванского государственного университета (2006, 2008, 2009).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 научных работ.

**Объем и структура работы.** Диссертация состоит из введения, 5 глав, выводов, рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 133 страницах, содержит 48 таблиц, 19 рисунков, 50 цветных фото. Список литературы включает 244 наименований.

### СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

#### ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Глава содержит обзор литературы, который изложен в 5 подглавах. В них дана общая характеристика специй и пряных трав, приводятся показатели качества специй и пряных трав, содержание в специях антимикробных веществ, микобиота специй и пряных трав, а также сведения о микотоксинах.

### ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть работы выполнена на кафедре ботаники Ереванского государственного университета и в Ванадзорском территориальном отделе Национального Института Стандартов 2002-2011гг.

Микологическому исследованию были подвергнуты 142 образца специй (66 - красного молотого перца, 36 - черного молотого перца, 40 - смеси пряных трав - сунели). Кроме того, исследованы 20 образцов свежих плодов красного перца, 20 образцов плодов красного сушеного перца, 20 образцов почвы из-под вегетирующих растений красного перца.

Образцы специй отбирались из разных магазинов и рынков г. Еревана и г. Ванадзора, отбор местных образцов молотого красного перца проводился в фермерских хозяйствах Арташатского и Армавирского районов, в соответствии с ГОСТом 26669-85, а также согласно NF ISO 7954-93 и ISTA (International Seed Testing Association, 1976).

Подсчет числа жизнеспособных спор микромицетов в 1г продукта проводился согласно NF ISO 7954-93.

При идентификации изолированных из исследованных специй изолятов мицелиальных грибов использовали следующие руководства: К.В. Raper, Ch. A. Thom (1949), Н.М. Пидопличко (1953, 1972), К.В Raper., А.Р. Fennel (1956), В. И. Билай, Н.М. Пидопличко (1970), А.А. Милько (1974), М. В. Ellis (1971, 1976), R.A. Samson (1976, 1985), В. И. Билай (1977), J. I. Pitt (1979), J.C. Frisvad (1984), В. И. Билай, Э. З. Коваль (1988) и др.

Определение токсичности экстрактов и культуральной жидкости грибов на личинках жаброногого рачка *Artemia salina*, которые проявляют высокую чувствительность к токсичным метаболитам микроскопических грибов, проводили в соответствии с методами, предложенными Р. Брауном (Brown, 1969), А. Гарвиндом и С. Скотом (Harwing, Scott, 1971) и Дж. Рейсом (Reiss, 1993).

Фитотоксичность штаммов микроскопических грибов на семенах зеленого горошка определяли согласно Р. Табачи (Tabacchi, 1994), Бравоа и др. (Bravoa et al., 2010).

Определение микотоксинов в экстрактах мицелиальных грибов в красном перце проводили методом ТСХ флуометрии.

# ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКОБИОТЫ ИЗУЧЕННЫХ СПЕЦИЙ И ПРЯНЫХ ТРАВ

# 3.1. Таксономический анализ грибов, выявленных в специях и пряных травах.

Из 142 образцов исследованных специй (красный молотый перец, черный молотый перец, сунели) выделено 2584 изолятов мицелиальных грибов, идентифицированных как 34 вида из классов Zygomycetes и Deuteromycetes. Зигомицеты представлены двумя родами — *Mucor* (1вид) и *Absidia* (1вид). Мукоровые грибы отмечены на красном и черном перце.

Подавляющая часть контаминантов специй представлена дейтеромицетами и в основном семейством Moniliaceae (25 видов). Выделенные мицелиальные грибы относятся к 9 родам. По видовому разнообразию и частоте встречаемости среди представителей этого семейства выделяется род Aspergillus (14 видов), большинство видов которого являются потенциальными продуцентами микотоксинов. Род Penicillium представлен в специях 10 видами, большая часть которых принадлежит к секции Asymmetrica (таблица 1).

Таблица 1 Таксономический состав грибов–контаминантов исследованных специй

			Количество	
Классы	Семейства	Роды	видов	изолятов
Zygomycetes	Mucoraceae	Mucoraceae Absidia		22
		Mucor	1	65
Deuteromycetes	Moniliaceae	Moniliaceae Aspergillus		2204
		Penicillium	10	167
		Trichoderma	1	3
	Dematiaceae	Alternaria	3	89
		Cladosporium	1	6
		Stemphylium	1	8
	Tuberculariaceae	Fusarium	2	20
Итого: 2	4	9	34	2584

Семейство Dematiaceae представлено 3 родами - Alternaria (3 вида), Cladosporium (1 вид), Stemphylium (1 вид). Виды из родов Stemphylium, Trichoderma, Fusarium выделены из сунели.

Степень заспоренности исследованных специй варьировала от  $6x10^2$  до  $>10^4$  кое/г (таблица 2). Заспоренность 92% образцов красного перца,

черного перца и сунели диаспорами мицеллиальных грибов превышала предельно допустимые уровни, установленные СанПином, и составляла  $>10^3$  кое/г. Согласно СанПин 2.3.2.1078-01, предельно допустимое значение плесневых грибов в 1г специй, готовых к употреблению, не должно превышать  $1\times10^3$  кое/г.

Таблица 2 Степень заспоренности специй микромицетами

Продукт	Количество образцов	Количество видов грибов- контаминантов	Степень заспоренности кое/г
Красный перец	66	13	$6x10^2 - 1.4x10^4$
Сунели	40	25	6x10 <sup>2</sup> - 2x10 <sup>4</sup>
Черный перец	36	20	$6.02x10^2 - 1.34x10^4$

# 3.2.Таксономический анализ грибов, выявленных в молотом красном перце.

Из 66 образцов молотого красного перца выделено 1126 изолятов мицелиальных грибов, которые относятся к 13 видам микромицетов, принадлежащим к 5 родам из трех семейств: Mucoraceae, Moniliaceae и Dematiaceae.

Из класса Zygomycetes на красном перце отмечаются виды *Mucor* plumbeus и Absidia corymbifera (рисунок 1).

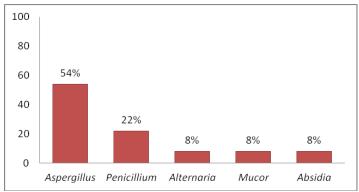


Рисунок. 1. Процентное соотношение количества видов родов мицелиальных грибов, выявленных в молотом красном перце.

Гифальные грибы из семейства Moniliaceae представлены родами Aspergillus (7 видов) и Penicillium (3 вида). Семейство Dematiaceae представлено родом Alternaria, с одним видом A. alternata.

	Вид гриба	Процентное соотношение изолятов видов грибов.		
	- 14 16 13 1	выявленных на красном перце		
1	Mucor plumbeus	18%		
2	Absidia corymbifera	9%		
3	Aspergillus niger	88%		
4	A. flavus	82%		
5	A. fumigatus	18%		
6	A. carbonarius	11%		
7	A. ochraceus	11%		
8	A. candidus	2%		
9	A. terricola	2%		
10	Penicillium citrinum	3%		
11	P. lanosum	3%		
12	P. cyclopium	2%		
13	Alternaria alternata	11%		

Высокая частота встречаемости - > 50%, умеренная частота встречаемости - 25%-49%, низкая частота встречаемости 12%-24%, редкая частота встречаемости <12% (по Mohamed et al. 1986).

Как видно из таблицы 3, доминирующими из числа идентифицированных видов грибов для исследованных образцов красного перца являются A. niger и A. flavus. A. niger встречается в 88%, а A. flavus - 82% красного перца. Другие виды рода Aspergillus по частоте встречаемости можно представить в следующем порядке: A. fumigatus (18%), A. ochraceus (11%), A. carbonarius (11%). Остальные виды из рода Aspergillus характеризуются более низкой частотой встречаемости.

Род *Penicillium* представлен 3 видами - *Penicillium lanosum* (3%), *P. citrinum* (3%), и *P. cyclopium* (2%). Указанные виды выделены преимущественно из упакованных образцов молотого красного перца.

Из семейства Dematiaceae относительно высокой встречаемостью отличается вид *A. alternata*.

В 91% проанализированных образцов красного перца степень заспоренности превышала допустимые значения.

Сравнительный анализ 51 образца сладкого красного перца и 15 острого показал отсутствие заметной зависимости степени загрязнения образцов мицелиальными грибами от содержания в них соединений, обуславливающих острый вкус (рисунок 2).

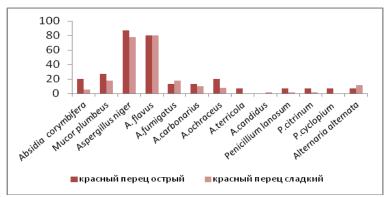


Рисунок 2. Сравнительный анализ частоты встречаемости видов мицелиальных грибов, контаминирующих острый и сладкий красный перец.

Из проанализированных образцов красного перца 23 образца были упакованы в бумажные пакеты, а 43 - развесные. Сравнительный анализ упакованных и развесных образцов красного перца показал высокий уровень загрязнения мицелиальными грибами перца в обоих случаях. В проанализированных образцах отмечено доминирование видов из рода Aspergillus, в частности A. niger и A. flavus. Вид A. flavus обнаружен в 100% исследованных образцов упакованного красного перца и в 81% - развесного. Для остальных видов из рода Aspergillus отмечается редкая частота встречаемости.

Населением Армении в основном используется красный перец местного производства и импортированный из России, Сирии, Украины. Проведен сравнительный микологический анализ 23 образцов упакованного красного перца — 9 образцов из России и Украины, 6 образцов из Сирии и 8 образцов из Армении. Во всех проанализированных образцах местного красного перца обнаружены виды рода Aspergillus - A. niger и A. flavus. Высокое содержание этих грибов наблюдалось также в упакованных образцах из России, Украины и Сирии. Вид A. carbonarius обнаружен в 33% образцах красного перца из Сирии. Мукоральные грибы часто встречались в красном перце из России. Из рода Penicillium в местных образцах красного перца обнаружены следующие виды — P. citrinum (25%) и P. cyclopium (13%). В образцах красного перца из Сирии обнаружен вид P. lanosum.

# 3.3.Таксономический анализ грибов, выявленных в черном молотом перце

Проведен микологический анализ 36 образцов черного молотого перца. Выделено 740 изолятов мицелиальных грибов, которые принадлежат к 20 видам из следующих классов - Zygomycetes и Deuteromycetes. Зигомицеты представлены по одному виду из двух родов *Absidia* и *Mucor* (рисунок 3).

Подавляющая часть грибов, выделенная из черного перца, относится к классу Deuteromycetes, семейству Moniliaceae (16 видов). По видовому

разнообразию и частоте встречаемости среди представителей этого семейства выделяется род *Aspergillus* (11 видов). Большинство видов указанного рода являются потенциальными продуцентами микотоксинов. Наиболее часто из рода *Aspergillus* выделялись виды *A. niger* (229 изолята), *A. flavus* (191 изолят*), A. fumigatus* (142 изолята).

Род *Penicillium* в исследуемых образцах черного перца представлен 5 видами — *P. palitans* (32 изолята), *P. expansum* (28 изолятов), *P. lanosum* (16 изолятов), *P. radulatum* (12 изолятов), *P. roqueforti* (1 изолят).

Семейство Dematiaceae представлено двумя родами – *Alternaria* и *Cladosporium*, которые характеризуются низкой частотой встречаемости.

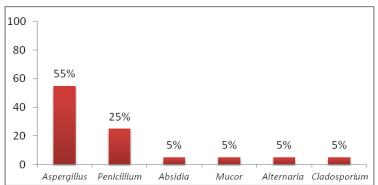


Рисунок 3. Процентное соотношение количества видов родов грибов, выделенных из черного перца.

Степень заспоренности всех проанализированных образцов черного перца находится в пределах от  $6x10^2$  до  $1.34x10^4$  кое/г (таблица 4).

Таблица 4 Степень заспоренности микромицетами в проанализированных образцах черного молотого перца

		Количество	Степень
Продукт	Количество	изолированных	заспоренности
	образцов	видов	кое/г
	-	микромицетов	
Черный перец			
молотый	16	17	1,4x10 <sup>3</sup> -1.34x10 <sup>4</sup>
развесной			
Черный перец			
молотый в	20	16	6x10 <sup>2</sup> -9x10 <sup>3</sup>
упаковке			

Во всех образцах упакованного и развесного черного перца доминируют виды A. niger, A. flavus, A. fumigatus, A. carbonarius. В упакованных образцах идентифицированы виды A. nidulans, A. glaucus и P. roqueforti, которые не были обнаружены в развесных образцах. Виды A. ochraceus,

Alternaria alternata и Cladosporium herbarum обнаружены только в развесных образцах.

Был проведен также сравнительный анализ частоты встречаемости грибов, контаминирующих черный перец, упакованный в разных странах (Армения, Россия, Украина, Сирия).

Как видно из рисунка 4, черный перец, упакованный в Армении, загрязнялся в основном видами *A. niger* и *A. flavus*.



Рисунок 4. Сравнительный анализ частоты встречаемости грибов, контаминирующих молотый черный перец, упакованный в разных странах.

В черном перце, упакованном в Армении идентифицированы также виды *P. radulatum* и *P. roqueforti*. В одном образце был обнаружен вид *A. versicolor*, известный как продуцент стеригматоцистина. Как в местной, так и в импортированной упаковке наблюдалась умеренная встречаемость вида *P. lanosum*. В импортированной упаковке наиболее часто встречались виды *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*. Виды *A. terricola*, *A. nidulans*, *A. glaucus*, *P. expansum*, *P. palitans* не были обнаружены в образцах, упакованных в Армении.

### 3.4. Таксономический анализ грибов, выявленных в сунели

Сунели контаминируется широким спектром мицелиальных грибов, в отличие от красного и черного перца. Возможно, этот факт связан с многокомпонентным составом пряных трав, входящих в его состав.

При исследовании 40 образцов сунели выделено 718 изолятов мицелиальных грибов, которые относятся к 25 видам и 7 родам из класса Deuteromycetes. Подавляющая часть выделенных из пораженных образцов сунели грибов относится к семейству Moniliaceae (18 видов).

Как видно из рисунка 5, в большинстве исследованных образцов сунели встречаются виды из родов Aspergillus и Penicillium. Семейство Dematiaceae представлено родами Alternaria, Cladosporium и Stemphylium.

Семейство Tuberculariaceae в исследованных образцах сунели представлено родом *Fusarium*.

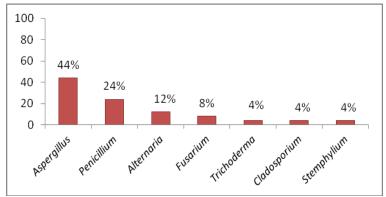


Рисунок 5. Процентное соотношение количества видов родов грибов, выделенных из сунели.

Степень заспоренности проанализированных образцов сунели находится в пределах от  $6x10^2$  до  $2x10^4$  кое/г.

По видовому разнообразию и частоте встречаемости среди представителей семейства Moniliaceae выделяется род *Aspergillus* (11 видов). Большинство видов указанного рода являются потенциальными продуцентами микотоксинов.

Наиболее часто из рода Aspergillus изолировались виды A. flavus (206 изолятов), A. niger (155 изолята), A. carbonarius (45 изолята), A. fumigatus (44 изолята), A. ochraceus (40 изолятов). В некоторых образцах сунели наблюдалось монопольное развитие вида A. versicolor (17 изолятов). Указанный вид обнаружен в 13% исследованных образцов.

Род *Penicillium* представлен 6 видами. Степень заспоренности сунели видом *P. expansum* составляла 6х10<sup>2</sup> кое/г. Высокая частота встречаемости отмечается для следующих видов - *P. kojigenum*, *P. rugulosum*, *P. expansum*.

Из семейства Dematiaceae в сунели обнаружены виды из родов Alternaria (3 вида), Cladosporium (1 вид), Stemphylium (1 вид). В 40% проанализированных образцов сунели обнаружен вид Alternaria alternata. Виды рода Fusarium - F. moniliforme и F. oxysporum выявлены в 4-х образцах сунели. S. botryosum обнаружен в 2 образцах сунели.

В Армении сунели в основном реализуется в неупакованном виде. Развесной сунели загрязнен в большей степени, чем сунели в упаковке. В обоих случаях доминирующими видами являются виды из рода Aspergillus - A. flavus (60%) и A. niger (70%). A. fumigatus был обнаружен в 40% упакованных образцов сунели. Виды A. varians, A. janus, A. sydowii обнаружены в развесных образцах. Наряду с видами рода Aspergillus, из развесных образцов сунели выделялись также виды из родов Alternaria, Cladosporium, Stemphylium, Fusarium, Trichoderma, которые не были обнаружены в упакованных образцах. Из рода Penicillium в упакованных образцах идентифицирован только один вид - P. expansum, который обнаружен в 20% проанализированных образцов.

# ГЛАВА 4. МИКОБИОТА ПЛОДОВ КРАСНОГО ПЕРЦА НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ВЕГЕТАЦИИ И ОБРАБОТКИ

С целью выявления основных источников контаминации молотого красного перца местного производства токсигенными штаммами *A. flavus* – потенциальными продуцентами афлатоксинов, проведен мониторинг сырья в период созревания и сбора урожая, а также на разных стадиях сушки плодов. С этой же целью проведен также анализ 20 образцов почвы из-под красного перца. Микологический анализ выявил высокий уровень загрязнения почвы Арташатского района видом *A. flavus* (68%). В образцах почвы из Армавирского района вид *А. flavus* не был обнаружен. Были выделены виды из родов *Aspergillus* и *Alternaria*.

Проведен анализ 20 образцов перезрелого красного перца из Арташатского и Армавирского районов. Образцы отбирались из приусадебных участков. В результате проведенного микологического анализа выделено 106 изолятов грибов. Изолированные виды микромицетов относятся к четырем родам - Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Stemphylium. Грибы рода Penicillium не обнаружены в проанализированных образцах. Виды рода Aspergillus наиболее часто выявлялись в образцах перца из Арташатского района. Вид А. flavus был обнаружен в 82% исследованных образцов плодов красного перца из Арташатского района и 14% образцов из Армавирского района.

Отмечена высокая частота встречаемости темноокрашенных гифомицетов в образцах перца из Армавирского района. Наиболее часто определялись виды из рода Alternaria. Род Cladosporium представлен одним видом *C. herbarum* и обнаружен в 21% образцов перца. Род Stemphylium представлен 2 видами – *S. botryosum* - в 21% и *S. ilicis* - в 14% образцов перца. В образцах красного перца из Армавира доминировали следующие виды из рода Aspergillus - A. niger в 36% образцов, A. flavus – в 14%, A. ochraceus в 7%, A. oryzae – в 7%.

При анализе красного перца, отобранного в процессе сушки, выделено 97 изолятов грибов из родов Alternaria, Aspergillus, Cladosporium. При анализе 11 образцов молотого красного перца из Армавирского района лишь три образца соотвествовали микробиологическим требованиям, приведенным в СанПине. Вид A. flavus был обнаружен в 50% исследованных образцов сушеного красного перца из Арташатского района и 27% образцов из Армавирского района

Результаты показали, что молотый перец часто контаминируется видами из родов Aspergillus, Alternaria и Mucor, причем виды A. flavus и A. niger отмечаются почти на всех стадиях переработки и упаковки красного перца из Арташатского района. Вид A. alternata более часто отмечается в образцах из Армавирского района. На стадии помола наблюдается загрязнение молотого перца мукоральными грибами, что является свидетельством повышенной увлажненности производственной среды.

Вид *A. flavus* был обнаружен в 67% исследованных образцов молотого красного перца из Арташатского района и 43% образцов из Армавирского района. В результате токсикологического анализа в 2 изолятах *A. flavus*,

выделенных из красного молотого перца Арташатского района, обнаружен афлатоксин В<sub>1</sub>.

Проведен анализ воздуха помещения, в котором проводится перемалывание перца. Результаты анализа воздуха показали его высокую степень заспоренности видами рода Aspergillus и Mucor. Из рода Aspergillus идентифицированы виды A. flavus, A. niger, A. fumigatus, A. carbonarius. Из рода Mucor – M. plumbeus.

Результаты проведенных анализов на разных стадиях производства молотого красного перца дали возможность выявить основные источники контаминации перца видом *A. flavus* (рисунок 6).

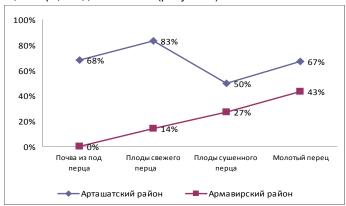


Рисунок 6. Процентное содержание вида *A. flavus* на разных стадиях производства молотого красного перца.

Установлено, что в подавляющем большинстве случаев загрязнение перца темноокрашенными гифомицетами происходит в поле во время вегетации.

# ГЛАВА 5. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КРАСНОГО ПЕРЦА И СУНЕЛИ.

Одна из основных задач представленной работы заключалась в определении токсигенного потенциала идентифицированных грибов из рода Aspergillus. С этой целью исследованы токсичные свойства грибов как биологическими, так и химическими методами. Определение микотоксинов проводилось в культуральной жидкости, в экстрактах грибов и в образцах специй.

# 5.1. Определение токсичности микромицетов, выделенных из красного перца и сунели при биотестировании на личинках жаброногого рачка *Artemia salina*.

Определена токсичность культуральной жидкости и грибных экстрактов, полученных при инкубировании испытуемых штаммов микромицетов на жидкой среде Чапека-Докса.

Изучена токсичность 13 штаммов грибов, выделенных из красного перца, методом биотестирования, из них 11 штаммов принадлежали к виду А. flavus, два — к А. ochraceus и А. terricola. Остротоксичные свойства обнаружены у 3 испытанных штаммов А. flavus, которые вызывали гибель у более 90% личинок Artemia salina. Токсичные свойства выявлены у 5 штаммов, принадлежащих к видам А. flavus, А. terricola, А. ochraceus, изолированных в основном из образцов острого красного перца. Слаботоксичные свойства выявлены у двух штаммов А. flavus.

Культуральная жидкость и экстракты 18 штаммов грибов, выделенных из сунели также были испытаны на личинках жаброногого рачка *Artemia salina*. Из проанализированных штаммов 17 относятся к виду *A. flavus*, один - *A. ochraceus*. Токсичные свойства выявлены у 5 штаммов (28%) *A. flavus*. Остротоксичные свойства обнаружены только у одного штамма *A. flavus* 43-2. Остальные 12 штаммов не проявили токсичных свойств.

# 5.2. Определение фитотоксичности культуральной жидкости штаммов *A. flavus*, выделенных из красного перца.

Изучена фитотоксичность у 21 штамма *А. flavus*, выделенного из красного перца как местного так и импортированного. Остротоксичные свойства проявили 5 штаммов, при испытании культуральной жидкости которых имело место подавление всхожести семян зеленого горошка от 90 до 98%. Токсичные свойства проявили 6 штаммов, их культуральная жидкость ингибировала прорастание семян на 70%. Эти штаммы были выделены из местного красного перца. Слаботоксичные свойства проявили 6 штаммов, выделенные как из местного красного перца, так и импортированного.

Результаты по изучению фитотоксичных свойств культуральной жидкости исследуемых штаммов *А. flavus*, рассчитанные по проценту ингибирования длины проростков, показали, что остротоксичные свойства проявили 11 штаммов. Указанные штаммы выделены в основном из сладкого красного перца. Тоскичные свойства проявили 8 штаммов. Токсичный штамм *А. flavus* 3', выделенный из сладкого красного перца, импортированного из Украины, ингибировал прорастание проростков семян на 85%, в то же время указанный штамм подавлял всхожесть семян на 20% и не проявил токсичных свойств. Слаботоксичные свойства были обнаружены у 2 штаммов, выделеных из красного перца местного происхождения и импортированного из России.

# 5.3. Определение афлатоксина В₁ в культуральной жидкости штаммов *A. flavus*, выделенных из красного перца и сунели.

Проведенный нами микологический анализ специй показал высокую степень контаминированности красного перца и сунели видом *A. flavus*.

Проведен хроматографический анализ экстрактов 35 штаммов *A. flavus*, выделенных из красного перца как местного производства, так и импортированного из России, Украины и Сирии (рис.7).

В 25 (71%) экстрактах исследованных штаммов обнаружен афлатоксин В<sub>1</sub>. Как видно из рисунка 7, в экстрактах всех штаммов *A. flavus,* выделенных из острого и сладкого красного перца, импортированного из Сирии, обнаружен афлатоксин В<sub>1</sub>, в количестве от 18 до 33 мкг/100 мл.



Рисунок 7. Содержание афлатоксина B<sub>1</sub> в экстрактах штаммов *A. flavus*, выделенных из сладкого и острого красного перца, импортированного из разных стран

В 8 (67%) штаммах, выделенных из сладкого красного перца местного производства, обнаружен афлатоксин  $B_1$ , содержание которого составляло от 5 до 55 мкг/100мл. В большинстве исследованных штаммов *A. flavus*, изолированных из образцов острого красного перца, обнаружен афлатоксин  $B_1$  в количестве от 7.3 до 50 мкг/100 мл.

Афлатоксин  $B_1$  не обнаружен в 10 (29%) штаммах *A. flavus,* 7 из которых были выделены из сладкого красного перца.

Хроматографический анализ экстрактов 18 штаммов *A. flavus*, выделенных из сунели на присутствие афлатоксинов, показал, что афлатоксин  $B_1$  обнаружен лишь в 2 экстрактах (11 %) в количестве 5 и 10 мкг/кг.

# 5.4. Определение стеригматоцистина в культуральной жидкости штаммов *A. versicolor*, выделенных из сунели.

В экстрактах всех трех штаммов *А. versicolor* обнаружен стеригматоцистин. Содержание токсина составляло от 120 до 210 мкг/100 мл в культуральной жидкости гриба.

#### 5.5. Определение афлатоксина B₁ в молотом красном перце.

Проведен хроматографический анализ 17 образцов порошкообразного сухого красного перца как местного производства, так и импортированного. Результаты показали, что афлатоксин  $B_1$  обнаружен в 10 образцах. Из 17 проанализированных образцов острого и сладкого красного перца в 9 образцах содержание афлатоксина  $B_1$  превышало предельно допустимые концентрации, предусмотренные СанПиН-ом (5 мкг/ кг), и варьировало в пределах от 10 до 50 мкг/кг. Наибольшая концентрация афлатоксина  $B_1$  - 50 мкг/кг выявлена в образце острого перца.

#### выводы

- 1. В результате исследования видового состава мицелиальных грибов контаминирующих специи (красный перец, черный перец и сунели), выявлены 34 вида микромицетов из классов Zygomycetes и Deuteromycetes. В качестве типичных контаминантов отмечены представители родов Aspergillus (14 видов), Penicillium (10 видов), pоды Mucor, Absidia, Alteranaria, Cladosporium, Stemphylium и Fusarium представлены 1-3 видами. Высокой частотой встречаемости во всех исследованных образцах специй отличаются виды A. flavus и A. niger.
- 2. Количественный состав родов и видов, контаминирующих красный и черный перец, отличается незначительно. Установлено отсутствие заметной зависимости степени загрязнения микромицетами красного перца от содержания в них соединений, обуславливающих острый вкус. Родовой и видовой спектр контаминантов сунели весьма широк и своеобразен, что является следствием многокомпонентности пряных трав, входящих в его состав.
- 3. Видовой состав грибных контаминантов в специях из разных стран, включая и Армению, в основном тождественен, за редким исключением, так, в образцах красного перца из Сирии обнаружен вид *A. carbonarius*, в красном перце из России наиболее часто встречаются мукоральные грибы.
- 4. Установлено, что степень заспоренности микромицетами в красном перце, черном перце и сунели в 92% проанализированных образцов, превышает предельно допустимые значения.
- 5. Определяющим фактором степени контаминированности исследованных специй являются гигиенические условия среды, в которых производятся сбор, сушка, обработка сырья, транспортировка и хранение продуктов.
  - При микологическом анализе красного перца на разных стадиях переработки чаще всего имеет место его контаминация грибами из родов Aspergillus, Alternaria, Cladosporium и Stemphylium.
- 6. Методом биотестирования установлена разная степень токсичности экстрактов и культуральной жидкости у 17 из 30 испытанных штаммов *A. flavus, A. ochraceus, A. terricola.*
- 7. Хроматографический анализ экстрактов и культуральной жидкости штаммов *A. flavus* выявил присутствие афлатоксина B<sub>1</sub> в 71% штаммов выделенных из красного перца, и в 11% из сунели
  - Во всех трех проанализированных экстрактах *A. versicolor,* выделенных из сунели, идентифицирован стеригматоцистин в количестве от 120 до 250 мкг/100мл.
- В результате хроматографического анализа 17 образцов молотого красного перца в 10 обнаружен афлатоксин В₁ в количестве от 5 до 50 мкг/кг.
- 9. Полученные результаты свидетельствуют о существовании высокого риска при использовании красного перца, контаминированного токсигенными штаммами *A. flavus*.

### РЕКОМЕНДАЦИИ

- 1. При сертификации красного перца в качестве специй, наряду с учетом общего количества грибов-контаминантов, следует проводить количественную оценку загрязнения перца видом *A. flavus* как продуцента афлатоксина B<sub>1</sub>.
- 2. Используемые при сушке красного перца технологии должны быть составлены с учетом особенностей наиболее часто встречающегося вида *A. flavus*.
- 3. Следует соблюдать гигиенические условия на всех стадиях производства красного перца сбора, сушки, помола, упаковки, транспортировки и хранения. Необходимо проводить сортировку сырья до процесса сушки красного перца. Мельница должна быть размещена в отдельном помещении, с системой вентиляции.
- С целью ликвидации дополнительных источников заражения красного перца токсигенными микромицетами следует проводить регулярный контроль за гигиеническими условиями сушки, степени контаминированности воздуха и оборудования мицелиальными плеснеобразующими грибами.

#### ОПУБЛИКОВАННЫЕ РАБОТЫ

- 1. Григорян К.М., Овсепян В.В., Саркисян М.П. Исследование видового состава и токсичность грибов, контаминирующих специи // ВГПИ, Ванадзор 2005. С. 353-363.
- 2. Григорян К.М., Овсепян В.В. Встречаемость вида *А. flavus* в некоторых видах пряностей // Успехи медицинской микологии, том IX, Материалы пятого Всероссийского конгресса по медицинской микологии. Москва 2007. С. 81-83.
- Grigoryan K., Hovsepyan V. Prevalence of aflatoxin-forming strains of Aspergillus flavus in spices // XII<sup>th</sup> IUPAC Mycotoxins and Phycotoxins. Symposium, 21-25 May 2007, Istanbul, Turkey. - №1260.
- Григорян К.М., Овсепян В.В. Токсигенность штаммов A. flavus, контаминирующих красный перец // Международная научная конференция в Государственном аграрном университете Армении, 1-2 октября, 2008г.- международный научный журнал Известия. - 4(24). -2008. - C. 22-27.
- Овсепян В.В. Микобиота черного молотого перца // Агронаука 11-12. -2009, Ереван - С. 525-528.
- 6. Григорян К.М., Овсепян В.В. Материалы к микофлоре, контаминирующей специи // Ученые записки Ереванского государственного университета. 1. 2010. С. 38-41.
- Grigoryan K., Hovsepyan V. Contamination of Armenian red pepper by filamentous fungi and aflatoxin B<sub>1</sub> // 1st North European Congress on Food, NEFood – 2012. - Saint Petersburg, Russia. – 2012. - p. 85.

### ՎԱՐԴՈՒՀኮ ՎԱՐԴԳԵՄԻ ՀՈՎՄԵՓՅԱՆ

### ՈՐՈՇ ՀԱՄԵՄՈՒՆՔՆԵՐՆ ԱՂՏՈՏՈՂ ՄՆԿԵՐԻ ՏԵՍԱԿԱՅԻՆ ԿԱԶՄԸ ԵՎ ՏՈՔՍԻԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

#### ՂՎՔԱՓՈՓԱԱ

Մննդի արդյունաբերության տարբեր Ճյուղերում օգտագործվող համեմունքների անվտանգությունն արդիական խնդիր է՝ ինչպես զարգացող, այնպես էլ զարգացած երկրների համար։ Տվյալ ատենախոսությունը նվիրված է որոշ համեմունքները (կարմիր պղպեղ, սև պղպեղ և սունելի) աղտոտող միցելիալ սնկերի տեսակային կազմի հայտնաբերման, սնկերով աղտոտման աստիձանի վրա ազդող հիմնական գործոնների ուսումնասիրման, առավել շատ տարածված տեսակների տոքսիկության հայտնաբերման և նրանց կողմից աֆլատոքսին B<sub>1</sub> և ստերիգմատոցիստինի արտադրման հարցերին։

Մնկաբանական հետազոտության են ենթարկվել թարմ, չորացած, աղացած կարմիր պոպեղի, սև աղացած պոպեղի և սունելիի նմուշները։

Համեմունքներն աղտոտող սնկերի տեսակային կազմի հետազոտման արդյունքում առանձնացվել են 2584 միցելիալ սնկերի իզոլատներ, որոնք նույնականացվել են որպես Zygomycetes և Deuteromycetes դասերից 34 տեսակ։ Որպես տիպիկ աղտոտիչներ նշված են Aspergillus (14 տեսակ), Penicillium (10 տեսակ) ցեղերի ներկայացուցիչները, Mucor, Absidia, Alteranaria, Cladosporium, Stemphylium և Fusarium ցեղերը ներկայացված են 1-3 տեսակներով։ Հետազոտված համեմունքների բոլոր նմուշներում առավել հաձախ հանդիպում են A. flavus և A. niger տեսակները։

Պարզվել է, որ կարմիր պղպեղի, սև պղպեղի և սունելիի աղտոտման աստիձանը միկրոմիցետներով ուսումնասիրված նմուշների 92%-ում գերազանցել է թույլատրելի սահմանները։

Հետազոտված համեմունքների աղտոտվածության աստիձանի որոշիչ գործոնը միջավայրի հիգիենիկ պայմաններն են, որոնցում իրականացվում է մթերքի հավաքումը, չորացումը, հումքի մշակումը, տեղափոխումը և պահպանումը։

Աղացած կարմիր պղպեղի նմուշներից առանձնացվել են միկրոմիցետների 13 տեսակներ, որոնք պատկանում են երեք ընտանիքի՝ Mucoraceae, Moniliaceae և Dematiaceae, հինգ ցեղի։ Նույնականացված սնկերից կարմիր պղպեղի համար A. flavus և A. niger հանդիսանում են գերակշոող տեսակներ։ Penicillium ցեղը ներկայացված է 3 տեսակով։ Dematiaceae ընտանիքից առավել հաձախ հանդիպում է A. alternata տեսակը։

Պարզվել է, որ կարմիր պղպեղի կծու համը պայմանավորող միացությունների և այն միկրոմիցետներով աղտոտման աստիձանի միջև չկա զգալի կախվածություն։

Տարբեր երկրների համեմունքներում սնկային աղտոտիչների տեսակային կազմը հիմնականում նույնական է, ՝ որոշ բացառություններով, օրինակ՝ Միրիայից բերված կարմիր պղպեղի նմուշներում հայտնաբերվել է *A. carbonarius* տեսակը, իսկ Ռուսաստանից բերված կարմիր պղպեղում առավել հաձախ հանդիպում են մուկորային սնկերը։

Մև պղպեղի սնկաբանական վերլուծության արդյունքում առանձնացվել են 20 տեսակի պատկանող միցելիալ սնկեր՝ Zygomycetes և Deuteromycetes դասերից։ Տեսակային բազմազանությամբ և հանդիպման հաձախականությամբ աչքի է ընկնում Aspergillus (11 նմուշ) ցեղը։ Penicillium ցեղը ուսումնասիրված նմուշներում հանդես է գալիս 5 տեսակով։ Dematiaceae ընտանիքը ներկայացված է երկու ցեղով՝ Alternaria և Cladosporium։

Uունելիի 40 նմուշների հետազոտության ընթացքում առանձնացվել է Deuteromycetes դասին պատկանող միցելիալ սնկերի 718 իզոլատներ։ Սունելիի աղտոտիչների ցեղային և տեսակային կազմը բավականին լայն է և առանձնահատուկ, ինչը պայմանավորված է նրա բաղադրության մեջ մտնող տարբեր համեմունքների առկայությամբ։ Սունելիի նմուշներից անջատված սնկերի զգալի մասը պատկանում են Moniliaceae (18 տեսակ) ընտանիքին։ Սունելիի որոշ նմուշներում նկատվել է A. versicolor տեսակի մոնոպոլ զարգացում։ Penicillium ցեղը ներկայացված է 6 տեսակով։ Dematiaceae ընտանիքը ներկայացված է Alternaria, Cladosporium և Stemphylium ցեղերով։

Մնկաբանական վերլուծության արդյունքում, կարմիր պղպեղի վերամշակման տարբեր փուլերում, առավել հաձախակի տեղի է ունենում դրա աղտոտումը Aspergillus, Alternaria, Cladosporium և Stemphylium ցեղերի սնկերով:

Աղացած կարմիր պղպեղի արտադրության տարբեր փուլերում կատարված վերլուծությունների արդյունքներն ի հայտ բերեցին *A. flavus* տեսակով պղպեղի աղտոտման հիմնական աղբյուրները, որոնցից հիմնականը նրա արտադրման, փաթեթավորման, տեղափոխման և պահպանման ընթացքում հիգիենիկ կանոնների անբավարար պահպանումն է։

Կենսաբանական մեթոդներով ուսումնասիրված *A. flavus, A. ochraceus, A. terricola* 30 շտամներից 17-ի մոտ հայտանավերվել է էքստրակտների և կուլտուրալ հեղուկների տարբեր աստիձանի տոքսիկություն։

A. flavus շտամների էքստրակտների և կուլտուրալ հեղուկի քրոմատոգրաֆիկ վերլուծությունը ցույց տվեց աֆլատոքսին Bւ առկայությունը կարմիր պղպեղից անջատված A. flavus շտամների 71%-ում և սունելիից անջատված 11% -ում։

Սունելիից անջատված *A. versicolor* բոլոր երեք շտամների ուսումնասիրված էքստրակտներում հայտնաբերվել է ստերիգմատոցիստին՝ 120-210մկգ/100մլ քանակությամբ։

Քրոմատոգրաֆիկ վերլուծության արդյունքում աղացած կարմիր պղպեղի 17 նմուշներից 10-ի մեջ հայտնաբերվել է աֆլատոքսին  $B_1$  10-50մկգ/կգ քանակությամբ։

Մտացված արդյունքները վկայում են *A. flavus* տոքսիգեն շտամներով աղտոտված կարմիր պղպեղի օգտագործման վտանգի մասին։

### VARDUHI HOVSEPYAN

### SPECIFIC STRUCTURE AND TOXICITY OF FUNGI CONTAMINATING SOME SPICES

#### **SUMMARY**

Safety of the spices used in different branches of the food industry, is an actual problem for many developing, and developed countries. This dissertation work is devoted to identification of specific structure of filamentous fungi, contaminating some spices (red pepper, black pepper and a mix of spicy herbs - suneli), studying of the major factors influencing extent of their pollution by fungi, determination of toxigenic potential of most often met types of fungi and a producing by them such mycotoxins as an aflatoxin of  $B_1$  and sterigmatocistin.

Samples of fruit of red fresh, dried, ground pepper, ground black pepper, and a mix of spicy herbs – suneli were subjected to mycological research.

As a result of the research of specific structure of filamentous fungi studied contaminating, it is isolated 2584 isolates the filamentous fungi identified as 34 species, from the classes Zygomycetes and Deuteromycetes.

As typical contaminants Aspergillus (14 species), Penicillium (10 species) are noted as specimens, other genera – Mucor, Absidia, Alteranaria, Cladosporium, Stemphylium and Fusarium are presented by 1-3 species. High frequency of occurrence in all studied samples of spices types are A. flavus and A. niger.

It is established that the extent of pollution micromicets in black, red pepper and suneli, in 92 % of the analysed samples of spices, exceeds maximum permissible values.

Defining factor of degree of a contaminating of the studied spices are hygienic conditions of the environment in which are made collecting, drying, raw materials processing, transportation and storage of products.

From samples of ground red pepper 13 species micromycetes, belonging to 5 genera from three families are allocated: Mucoraceae, Moniliaceae and Dematiaceae. From among identified species of fungi, *A. flavus* and *A. niger* are dominating for red pepper. The genus *Penicillium* is presented by 3 species. From Dematiaceae family rather high occurrence the species differs from *A. alternata*.

Lack of appreciable dependence of extent of pollution primary micromycetes development red pepper from the content in them the connections causing sharp taste is established.

The specific structure of fungus contaminant in spices from the different countries is generally identical with rare exception. So, in samples of red pepper from Syria, the species of *A. carbonarius* is found, filamentous fungi most often are been in red pepper from Russia.

As a result of the mycological analysis are allocated mycelium fungi belonging to 20 species, from the following classes - Zygomycetes and Deuteromycetes. On a specific variety and frequency of occurrence the genera *Aspergillus* (11 species) is

allocated. The genus *Penicillium* in studied samples of black pepper, is presented by 5 species. The Dematiaceae family is presented by two genera – *Alternaria* and *Cladosporium*.

In the research of 40 samples suneli is allocated 718 isolates filamentous fungi from class with Deuteromycetes. The patrimonial and specific range of contaminant suneli is very wide and peculiar that is the result of multiple components of the spicy herbs entering into its structure. The overwhelming part allocated of the struck samples suneli fungi belongs to Moniliaceae family (18 species). In some samples suneli exclusive development of a species of *A. versicolor* was observed. The Dematiaceae family is presented by the genera *Alternaria*, *Cladosporium* and *Stemphylium*.

The mycological analysis of the red pepper, at different stages of processing, showed that its contamination of fungi from the genera *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* and *Stemphylium* more often takes place.

The results of the carried-out analyses at different stages of production of the ground red pepper revealed the main sources of a contamination of pepper a species of *A. flavus*. The main reason of high contamination of the red, ground pepper is the not sufficient observance of hygienic conditions at all stages of production, packing, transportation and keeping.

The method of bio testing established toxicity at different degree of extracts and cultivated liquid at 17 strains of *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. terricola* from 30 tested.

The chromatographical analysis of the extracts and cultivated liquid of strains of *A. flavus* revealed the presence of aflatoxin  $B_1$  at 71 % of strains of *A. flavus* allocated from the red pepper and in 11 % - from suneli.

In all three analysed *A. versicolor* extracts allocated from suneli, it is identified sterigmatocistin in quantity from 120 to 250 mkg/100ml.

As a result of the chromatographical analysis of 17 samples of ground the red pepper, in 10 aflatoxin  $B_1$  in quantity from 5 to 50 mkg/kg is found.

The received results testify the existence of high risk when using the red pepper, contaminated toxigenic strains of *A. flavus*.