

## מניעת יצירתם של רעלני פטריות (מיקוטוקסינים) מקבוצת האפלאטוקסינים על-ידי מיצויים צמחיים

נ' פסטר<sup>1</sup>

### תקציר

רעלני פטריות (מיקוטוקסינים) הם חומרים רעילים לאדם ולבעלי-חיים, והם נוצרים במוצרים חקלאיים רבים. מבין המיקוטוקסינים, אלה השייכים לקבוצת האפלאטוקסינים הם מהמסוכנים ביותר ופעילותם כמסרטיני כבד הוכחה בבעלי-חיים. לפיכך נחקרה השפעתם המעכבת של חומרי טבע על יצירת רעלנים, בעיקר לגבי אפלאטוקסינים. במקרים רבים נבע העיכוב ביצירת האפלאטוקסינים מפגיעה בצימוח הפטריה, אך נמצאו חומרים שהוכח כי הם מעכבים ישירות את סינתזת הטוקסינים. עם חומרים אלה נמנים מיצויים שהופקו, בין היתר, מפלפל שחור ומקינמון. חשוב לציין כי השפעתם המעכבת של חומרי טבע ומרכיביהם תלויה בקו הפטריה הנבדק, וכי יש להם השפעות שונות על עיכוב יצירת רוב הטוקסינים הנמנים עם קבוצת האפלאטוקסינים (כגון  $G_2, G_1, B_2, B_1$ ). פנולים ידועים כמעכבי פטריות מחד גיסא וכמרכיבים של חומרי טבע רבים מאידך גיסא, ולכן נערכו מחקרים רבים לבדיקת ההשפעה של פנולים על סינתזת אפלאטוקסינים. בניסויים נמצא שעם החומרים שהיו פעילים בעיכוב יצירת הטוקסינים אפשר למנות את החומצה הפרולית, הוויילין, החומצה הבנזואית ופירוקטכול. מנגנון העיכוב שבאמצעותו פועלים החומרים טרם הובהר ועדיין נדרשים מחקרים נוספים בנושא זה.

### מבוא

רעלני פטריות (mycotoxins) הם חומרים רעילים הנוצרים כמטאבוליטים משניים על-ידי מינים רבים של "פטריות שדה ומחסן". רוב המינים המיקוטוקסיגניים שייכים לסוגים האלה: *Aspergillus*, *Penicillium* ו-*Fusarium*. התנאים המשפיעים על גידול הפטריות הם גם אלה המשפיעים על יצירת רעלני הפטריות, אך לא תמיד התנאים המיטביים לגידול הם גם אלה שבהם יש יצירה מרבית של רעלנים אלה. המבנה הכימי של הרעלנים השונים אינו זהה, אך יש בהם בעלי שלד מולקולרי דומה, ולפיכך אפשר לחלק כמה מרעלני הפטריות על-פי מבנם לקבוצות, כגון: אפלאטוקסינים

מפרסומי מינהל המחקר, סדרה ע', 1994, מס' 66.

1 המחלקה לאיסוס גרעינים, המכון לטכנולוגיה ואחסון של תוצרת חקלאית, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, בית-דג 50250

(aflatoxins), אוכראטוקסינים (ochratoxins), טריכותצנים (trichothecenes) ועוד. חלוקה רוחת יותר מתבססת על אתרי הפגיעה בגוף, למרות שבמקרים מסוימים נפגעים אברים ורקמות רבים בעת ובעונה אחת.

מספר רב של רעלני פטריות תוקפים את הכבד וכמה מהם [אפלאטוקסינים, סטריגמאטוציסטין (sterigmatocystin)] אף מעוררים בו גידולים סרטניים. כמה מהרעלנים [טריכותצנים, פאטולין (patulin)] עלולים לשבש את מנגנוני סינתזת החלבון או את חלוקת התאים. במקרים אלה נגרמת הפגיעה לאחר אכילת מזון מזוהם ברעלנים, ואולם ישנם גם כאלה הגורמים נזק בבואם במגע עם העור (טריכותצנים). מינים רבים של בעל-חיים רגישים לפגיעת רעלני פטריות אפילו בכמויות זעירות, ומקרי תחלואה ותמותה רבים יוחסו ישירות לפגיעותיהם של חומרים אלה. עדויות נסיבתיות מצביעות בבירור על מעורבותם של רעלני הפטריות (בעיקר אפלאטוקסינים) גם בהרעלות בבני-אדם. רעלנים מופיעים בטבע במגוון רחב של סוגי גרעינים (ואף בפירות ובירקות). חשוב לציין כי פטריות שדה מיקוטוקסיגניות עלולות לזהם גרעינים עוד בעת הבשלתם, ובעת האיסוס נוצרים רעלנים רבים על-ידי פטריות המחסן אגב התפתחותם על הגרעינים.

אפלאטוקסינים הם קבוצה של רעלנים הנוצרים על-ידי פטריות מהקבוצה *Aspergillus flavus*. נהוג לחלקם לשתי קבוצות עיקריות - B ו-G - עלפי הצבע הפלואורסצנטי שבו הם זוהרים באור העל-סגול (UV). האפלאטוקסינים מקבוצת B הם בעלי זוהר כחול, בעוד שלאחלה מקבוצת G זוהר ירוק. האפלאטוקסינים העיקריים בקבוצות אלה הם  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$ ,  $G_2$ . כל האפלאטוקסינים הם תרכובות הטרוציקליות. הם עשויים להופיע בטבע יחד, ביחסים שונים ביניהם, או כל אחד לחוד. מבין בעל-החנף, הרגישים ביותר לחומרים אלה הם ברווזונים ואפרוחים של תרנגולי הודו. מבין היונקים, הרגישים ביותר הם גורי חזירים, אך גם בקר וצאן רגישים במידה ניכרת לקבוצת רעלנים זו.

אתרי הפגיעה העיקריים של האפלאטוקסינים הם צינורות המרה והכבד שבהם הם גורמים לשטפי דם ולהופעת גידולים סרטניים. גם חשיפה ממושכת לכמויות מועטות של אפלאטוקסינים גורמת גידולים סרטניים בכבד בכמה בעל-חיים. כך למשל בדג השמך (טרוטה) הופיעו גידולים בכבד כבר לאחר אכילת מנות שהכילו את הרעלן בשיעורים של חלקי-מיליארד (ppb). פעולתם המסרטנת של האפלאטוקסינים בכבד הוכחה לפני כ-20 שנה. פעולה זו נובעת כנראה מהשפעתו של הרעלן על גרעין התא. נמצא כי אפלאטוקסין  $B_1$  מונע סינתזה של חומצות הגרעין, גורם שינויים כרומוסומיים ומשבש את חלוקת התאים. עדויות מצביעות על קשר בין הופעת סרטן הכבד בבני-אדם ובין אכילת מזון שהכיל אפלאטוקסין. מחקרים שנעשו באוגאנדה בסוף שנות השישים, ובקניה, בתאילנד ובמזמביק בשנות השבעים, הוכיחו קשר ישיר בין רמת האפלאטוקסין במזון ובין שיעור הופעת הסרטן באזורים אלה. תפוצתם של האפלאטוקסינים בטבע גדולה למדי. דווח על הימצאותם בגרעיני-חיטה, בשעורה, בשיבולת שועל, בתירס, באגוזי-אדמה, באגוזים למיניהם, בשקדים,



בזרעי כותנה, בפולי קקאו, בתבלינים ובמוצרי מזון אחרים. אין כיום שיטה לפירוק או להריסה מוחלטת של רעלני פטריות שכבר נוצרו בגרעינים (להוציא טיפול באמוניה ההורס אפלאטוקסין, אך גם גורם לפחיתת איכות הגרעינים). יתרה מזו, רוב הרעלנים יציבים מאוד בתהליכי עיבוד הגרעינים (קלייה, אפייה, טיגון וכו') ולפיכך גוברת סכנת הימצאותם במוצר המוגמר. מניעת התפתחותן של פטריות המחסן ומניעת יצירתם של רעלני הפטריות הן אפוא הדרכים העיקריות לאבטחת שימוש במזון נקי מרעלנים לתצרוכת בעל־חיים ובני אדם כאחד.

## פרק א': עיכוב יצירת אפלאטוקסינים על-ידי חומרי טבע

פעילותם של מיצויים צמחיים בעיכוב יצירתם של רעלני פטריות נחקרה בעולם בעיקר בהקשר ליצירת אפלאטוקסינים (טבלה 1), אך דיווחים בספרות מתארים את השפעתם של כמה חומרים על יצירת רעלני פטריות נוספים, כמו אוכראטוקסין וסטריגמאטוציסטין (14, 23). סקירה זו תתמקד בממצאים אודות עיכוב יצירת אפלאטוקסינים בלבד.

השפעת חומרי טבע על יצירת אפלאטוקסינים נחקרה בעולם בשיטות שונות, כגון הוספת תבלינים טחונים או מיצויים שלהם למצע-המזון, או אילוח אבקות שהוכנו מתבלינים בתבדידים יוצרי-אפלאטוקסינים, ומעקב אחר הופעת הרעלנים במועדי הדגרה שונים. יש לציין כי במספר מקרים רב שבהם צוינה פעילותו של חומר הטבע הנבדק כמעכב יצירת אפלאטוקסינים, יוחסו כמויות הרעלן המועטות שנוצרו לעיכוב שאובחן בצימוח המושבה, ולא להשפעה הישירה של החומר על מנגנון הביוסינתזה של הרעלן. מסקנה זו נתקבלה על-פי אינדקס של רמות טוקסין לגרם תפטיר. Graham מציניים (13) כי הוספת מיצוי שום (0.3%) למצע-המזון עיכבה את יצירת האפלאטוקסינים  $G_1$  ו- $B_1$ , בשיעור של 73%, אך במינון זה גם אובחן עיכוב בצימוח התפטיר. השפעה דומה של עיכוב האפלאטוקסינים עקב עיכוב הגידול אובחנה גם במצע שהכיל שמן קארדאמום (cardamom oil) (21), ובמצעים שהכילו שמנים שהופקו מקליפות הדרים (17, 1), ממוצרי צמח הגינסנג (Ginseng) (2), מתימול (thymol) (8), מטרפינן (terpinene) (4) ומפלפל שחור (15, 20). יש לציין כי לפחות במקרה אחד (19) עיכוב פלפל שחור את יצירת האפלאטוקסין בלא פגיעה בצימוח התפטיר.

השפעתם המעכבת של חומרי טבע ומרכיביהם תלויה גם בקו הנבדק, וממצאי מחקרים מלמדים על שונות רבה בתגובתם של קווים יוצרי-אפלאטוקסינים לאותו חומר. Llewellyn וחבריו (18) אילחו תבלינים טחונים בתבדידים יוצרי-אפלאטוקסינים של *A. flavus* ו-*A. parasiticus*. ומצאו שעל ציפורן, קינמון, אורגאנו ותימוס לא נוצרו אפלאטוקסינים, אך גם צימוח הפטריות על תבלינים אלה היה מצומצם. עוד מצאו החוקרים שיש הבדלים בין הפטריות ביכולתן ליצור

אפלאטוקסינים על מיגוון התבלינים שנבדקו. למשל, אחד התבדידים ייצר את האפלאטוקסין  $B_1$  ברוזמרין בלבד, תבדיד אחר ייצר רעלן זה ברוזמרין, בכרפס, בגייגר, בשומשום, בחרדל ובפלפל אנגלי, ואילו התבדיד השלישי ייצר את הרעלן רק בסלרי, ברוזמרין, בשומשום או בפלפל אנגלי. גם היחסים בין כמויות האפלאטוקסינים שנמצאו ( $G_1, B_1, G_2$ ) היו שונים בהתאם לתבדיד ולתבלין שנבדק. Hitokoto ועמיתיו (15) דיווחו גם הם על צמחים (חרדל, עליתה, פילודנדרון) שעכבו כליל את יצירת האפלאטוקסינים עלידי *A. parasiticus*, ובשיעור נמוך בלבד עלידי *A. flavus*. אפשר אפוא לומר שאותו תבלין עשוי לעכב יצירת אפלאטוקסינים עלידי מין פטריה או תבדיד מסוים, אך בה במידה הוא אינו משפיע על יצירת הרעלנים עלידי תבדידים (אחרים), או על היחסים שבין סוגי האפלאטוקסינים הנוצרים.

עם החומרים שאפשר לסווגם כמעכבים ישירים של ביוסינתזת האפלאטוקסין (צימוח התפטיר לא נפגע או שהוא עוכב רק במידה מועטת) אפשר למנות את המנטה והכמון (15), החרדל ועליתה (15) והפלפל השחור (19). כמה מחקרים עוסקים בהשוואת פעילותם של תבלינים לזו של מרכיביהם, כמו גם מרכיבים אחרים של חומרי טבע. Bullerman וחבריו (10) השוו למשל את פעילותם של שמני קינמון וציפורן לזו של מרכיביהם - אלדהיד-צינאמי (cinnamic aldehyde) ואאוגנול (eugenol). הממצאים לימדו כי אף לא אחד מהחומרים מנע יצירת אפלאטוקסינים, ובכמה מינונים אף היה ייצור מוגבר של הרעלנים בנוכחות שני המרכיבים. החוקרים מסכמים כי שני החומרים וגם מרכיביהם היו יעילים יותר כקוטל-פטריות ולא כמעכב-רעלן.

חשוב לציין כי בחקר פעילותם של חומרי טבע ומרכיביהם יש חשיבות רבה לשיטת מיצוי המרכיבים. למשל, שמן שהופק מקינמון לא היה יעיל בעיכוב סינתזת האפלאטוקסינים בעוד שלמיצוי כוהלי של קינמון היתה השפעה מעכבת ניכרת (יותר מ-90%) מבלי שעוכב צימוח התפטיר (9). רמתם והרכבם של המרכיבים הפעילים בעיכוב רעלני-פטריות (וגם בעיכוב הפטריה עצמה) משתנה בהתאם לשיטות המיצוי, ויש אפוא חשיבות להשוות בין מיצויים שונים בעת בחינת השפעתם של חומרי טבע בעיכוב הביוסינתזה של רעלנים. מבין המיצויים הצמחיים שנמצאו כמעכבי ביוסינתזה של אפלאטוקסינים יצוינו כאלה שהופקו מצמחי מרפא שונים (3) ומצמחי נוי, כגון: קרוטון (*Croton sparsiflorus*) ממשפחת החלבוביים; וינקה (*Vinca rosea* L.) ממשפחת ההרדופיים; קיקיון (*Ricinus communis* L.) ואיזדרכת [*Azadirachta indica* (Neem)] (5, 6). לפעילות המעכבת של Neem יש חשיבות הואיל וחומר זה משמש כיום גם להדברת מזיקים.



## פרק ב': השפעת פנולים על עיכוב יצירת אפלאטוקסינים

הפנולים ידועים כמעכבים גידול פטריות וחיידקים (11) וכמרכיבים של חומרי טבע, ובעבודות מחקר רבות נבחנה יעילותם של פנולים בעיכוב סינתזת האפלאטוקסינים. עם החומרים שהיו פעילים בעיכוב יצירת אפלאטוקסינים בלא פגיעה משמעותית בגידול הפטריות נמנים: פלורוגלוצינול (phloroglucinol), חומצה פרולית (ferulic acid), ונילין (vanillin) פארא-הידרוכסי, חומצה בנוואית (p-hydroxy benzoic acid) ופירוקאטכול (pyrocatechol) (7, 26).

זיתים הידועים כעשירים בפנולים, או מיצויים שלהם, שימשו גם הם כמצע בניסויים לאיתור חומרים המעכבים יצירת אפלאטוקסינים. פסטר וחובריו (24) דיווחו כי יצירת אפלאטוקסין B<sub>1</sub> על מצע שהכיל מיצוי שהופק מקאלוס של זיתים עוכבה כליל למרות שגידולה של פטריית המבחן *A. flavus* לא עוכב כלל. מבין הפנולים שמוצו מהקאלוס [חומצה קומארית (coumaric acid), קאטכין (catechin), קומארין (coumarin) וחומצה קפאית (caffeic acid)], רק לחומצה האורטרקומארית (o-coumaric acid) היתה השפעה מעכבת על יצירת הרעלן. Bullerman ו-Mahjoub (22) מצאו שאפלאטוקסינים לא נוצרו על רסק זיתים וייחסו את תופעת עיכובם לנוכחות הפנולים ברסק, ובהם אולאורופאין (oleuropein) שפעילותו הוכחה גם כקוטלת-פטריות על-ידי Juven ו-Henis (16). פעילותו של אולאורופאין כמעכב יצירת אפלאטוקסינים הוכחה על-ידי Gourama ו-Bullerman (12).

ידוע שאולאורופאין פוגע בדפנות תאים ועשוי להגיב למרכיבים של ממברנות התא, אך מנגנון מעורבותו בסינתזת האפלאטוקסין אינה ברורה. לעומת זאת הציעו San ו-Chen (25) מנגנון פעולה אפשרי שבאמצעותו מעכבים פנולים את המטאבוליזם של האפלאטוקסינים. חוקרים אלה בדקו פנולים ומצאו כי כאשר הפנולים ניתנו בשילוב עם אפלאטוקסין B<sub>1</sub>, הם מנעו השראת מוטאציות על-ידי האפלאטוקסין בחיידק *Salmonella typhimurium* ובתאי כבד. החוקרים גם מצאו כי פעילות התרכובות הפנוליות לא נבעה מקשר קואלנטי בין הרעלן ובין הפנולים, אלא מעיכובם של אנזימים המעורבים בתהליך השראת מוטאציות או סרטן. אובחנה השפעה מעכבת כזו של כמה פנולים על נשימת מיטוכונדריות ועל פעילותם של אנזימים שונים בכבד. חשוב לציין כי לא לכל הפנולים יש פעילות אנטימוטאגנית, ופנולים הידועים כמונעי-חימצון (BHT, BHA ו-propyl gallate) דווקא עודדו השראת מוטאציות על-ידי אפלאטוקסין B<sub>1</sub>.

לסיכום: במספר מחקרים רב הוכח כי מיצויים צמחיים עשויים לעכב ביוסינתזה של אפלאטוקסינים. תוצאות אלה מעודדות המשך מחקרים ללימוד השפעתם של המיצויים גם על רעלני-פטריות אחרים, ולאיתור חומרים נוספים שימנעו יצירת מיגוון של רעלני-פטריות. השימוש בחומרים אלה יבטיח צריכת מזון נקי מרעלנים.

**טבלה 1:** השפעתם של חומרי טבע בנחרים על יצירת אפלטוקסין  
**Table 1:** The effect of selected natural products on aflatoxin formation

מספר ברשימת המקורות Ref. no.	הערות Comments	דוּסֶגֶה Dosage	אופן הבדיקה Assay method	החומר הצמחי הנבדק Plant substance tested	ההשפעה על צמיחה ותפוח mycelial growth	ההשפעה על יצירת טוקסין Effect on toxin formation	הפטריות שבדיקה Fungus tested	האמצעים טוקסיים Afla- toxins
1		3,000 ח"ט 3,000 ppm	הוספה למצע הגידול Addition to the growth medium	שמן קליפות הדרים (תפוז, לימון) Citrus peel oils (orange, lemon)	עירוב בולט Strong inhibition	עירוב בולט* Strong inhibition*	אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus parasiticus</i>	B <sub>1</sub> , G <sub>1</sub>
9		2.0%	הוספת תבלין טחון למצע הגידול Addition of ground spice to the growth medium	קינמון Cinnamon	עירוב קל* Slight inhibition**	עירוב בולט* Strong inhibition*	אספרגילוס פלאווס <i>Aspergillus flavus</i>	
6		1%	הוספת מיצוי ממנו למצע הגידול Addition of aqueous extract to the growth medium	ריקיניון Ricinus communis	עירוב קל* Slight inhibition**	עירוב מוחלט Complete inhibition	אספרגילוס פלאווס אספרגילוס פאראזיטיקוס ואספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus flavus</i> and <i>A. parasiticus</i>	
22			אינולציה וטס ויתום במקרת המבחן Inoculation of olive paste with the fungus	זיתים	עירוב בולט Strong inhibition			
20	נבדקה רק הפטריות אספרגילוס פאראזיטיקוס Only the fungus of <i>Aspergillus parasiticus</i> was tested		אינולציה תבלין טחון במקרת המבחן Inoculation of ground spice	פלפל שחור, פלפל לבן Black pepper White pepper			אספרגילוס פלאווס <i>Aspergillus flavus</i>	B <sub>1</sub>
23		0.25%	הוספת מיצוי כלורפורם למצע הגידול Addition of chloroform extract to the growth medium	קינמון Cinnamon		עירוב בולט Strong inhibition	אספרגילוס פלאווס <i>Aspergillus flavus</i>	
5	יצירת אפלטוקסין ע"י אספרגילוס פלאווס עוכבה כליל Total inhibition of aflatoxin for <i>Aspergillus flavus</i>	>15%	הוספת מיצוי ממנו של עלים למצע הגידול Addition of leaf aqueous extract to the growth medium	נימ ( <i>Azadirachta indica</i> )	אין עירוב No inhibition		אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus parasiticus</i>	

\* Strong inhibition - mycelial growth/toxin formation - less than 50% of the control.  
 \*\* Slight inhibition - mycelial growth/toxin formation - more than 50% of the control.

\* עירוב בולט - צמיחה ותפוח/יצירת טוקסין - פחות מ-50% מן הניקוד.  
 \*\* עירוב קל - צמיחה ותפוח/יצירת טוקסין - יותר מ-50% מן הניקוד.



טבלה 1 (המשך)  
Table 1 (continuation)

מספר בדיקה השדה Ref. no.	הערות Comments	המבחן Dosage	אופן הבדיקה Assay method	החומר הנבדק Plant substance tested	ההשפעה על צמיחת תפוח מיקוב Effect on mycelial growth	ההשפעה על צמיחת תפוח מיקוב Effect on toxin formation	הפטריות שבדוקה Fungus tested	האמצעים המבדקים Afla- toxins
19		10%	הוספת תבלין שריון למעץ-הגידול Addition of ground spice to the growth medium	פלפל שריון Black pepper מנטה Mint ג'ינג'ר Ginger כמון Cummin	אין עיכוב No inhibition	עיכוב מוחלט Complete inhibition	אספרגילוס פלאוויס <i>Aspergillus flavus</i>	
15	לא מבדקים האמצעים שבדוקה The aflatoxins analyzed were not specified	1.0%	הוספת מעץ כלורפורם למעץ הגידול Addition of chloroform extract to the growth medium	פלפל שריון Black pepper				
9		1.0%	הוספת מעץ אלכוהול למעץ הגידול Addition of alcohol extract to the growth medium	קינמון Cinnamon	עיכוב קל Slight inhibition**	עיכוב מוחלט Complete inhibition	אספרגילוס פאראסיטיקוס <i>Aspergillus parasiticus</i>	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub>
4		3,000 ppm 3,300 ppm	הוספת מעץ שמן Addition of seed oil extract to the growth medium	זרעי גזר Carrot seeds				
13	בדוקה רק האמצעים המבדקים Only aflatoxins B <sub>1</sub> and G <sub>1</sub> were analyzed	0.3%	הוספת מעץ מים למעץ הגידול Addition of aqueous extract to the growth medium	שום Garlic	עיכוב בולט Strong inhibition	עיכוב בולט* Strong inhibition*		

\* Strong inhibition - mycelial growth/toxin formation - less than 50% of the control.  
\*\* Slight inhibition - mycelial growth/toxin formation - more than 50% of the control.

\* עיכוב בולט - צמיחת תפוח/צמיחת תפוח - פחות מ- 50% מהבקורת.  
\*\* עיכוב קל - צמיחת תפוח/צמיחת תפוח - יותר מ- 50% מהבקורת.

## רשימת הספרות

1. Alderman, G.G. and Marth, E.H. (1976) Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by citrus oils. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 160: 353-358.
2. Bahk, J. and Marth, E.H. (1983) Growth and synthesis of aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in the presence of ginseng products. *J. Food Prot.* 46: 210-215.
3. Bahk, J. and Marth, E.H. (1983) Aflatoxin production is inhibited by selected herbal drugs. *Mycopathologia* 83: 129-134.
4. Batt, C., Solberg, M. and Ceponis, M. (1983) Effect of volatile components of carrot seed oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *J. Food Sci.* 48: 762-764, 768.
5. Bhatnagar, D., Zeringue, H.J. and McCormick, S.P. (1990) Neem leaf extracts inhibit aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. in: Locke, J.C. and Lawson, R.H. [Eds.] *Neem's Potential in Pest Management Programs*. Proc. USDA Neem Workshop (Beltsville, MD, USA), pp. 118-127.
6. Bilgrami, K.S., Misra, R.S., Sinha, K.K. and Singh, P. (1980) Effect of some wild and medicinal plant extracts on aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* in liquid cultures. *J. Indian Bot. Soc.* 59: 123-126.
7. Bilgrami, K.S., Sinha, K.K. and Singh, P. (1981) Inhibition of aflatoxin production by ferulic acid on some cereals and oil-seeds. *Curr. Sci.* 50: 997-998.
8. Buchanan, R.L. and Shepherd, A.J. (1981) Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by thymol. *J. Food Sci.* 46: 976-977.
9. Bullerman, L.B. (1974) Inhibition of aflatoxin production by cinnamon. *J. Food Sci.* 39: 1163-1165.
10. Bullerman, L.B., Lieu, F.Y. and Seier, S.A. (1977) Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. *J. Food Sci.* 42: 1107-1109.
11. Friend, J. (1979) Phenolic substances and plant disease. in: Swain, T., Harbone, J.B. and Van Sumere, C.F. [Eds.] *Biochemistry of Plant Phenolics*. Plenum Press, New York, NY. pp. 557-588.
12. Gourama, H. and Bullerman, L.B. (1987) Effects of oleuropein on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Lebensm. - Wiss. u.-Technol.* 20: 226-228.
13. Graham, H.D. and Graham, E.J.F. (1987) Inhibition of *Aspergillus parasiticus*



- growth and toxin production by garlic. *J. Food Saf.* 8: 101-108.
14. Hitokoto, H., Morozumi, S., Wauke, T., Sakai, S. and Kurata, H. (1980) Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 818-822.
  15. Hitokoto, H., Morozumi, S., Wauke, T., Sakai, S. and Ueno, I. (1978) Inhibitory effects of condiments and herbal drugs on the growth and toxin production of toxigenic fungi. *Mycopathologia* 66: 161-167.
  16. Juven, B. and Henis, Y. (1970) Studies on the antimicrobial activity of olive phenolic compounds. *J. Appl. Bacteriol.* 33: 559-567.
  17. Karapiner, M. (1985) The effect of citrus oils and some spices on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. *Int. J. Food Microbiol.* 2: 239-245.
  18. Llewellyn, G.C., Burkett, M.L. and Eadie, T. (1981) Potential mold growth, aflatoxin production and antimycotic activity of selected natural spices and herbs. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 64: 955-960.
  19. Mabrouk, S.S. and El-Shayeb, M.A. (1980) Inhibition of aflatoxin formation by some spices. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 171: 344-347.
  20. Madhyastha, M.S. and Bhat, R.V. (1984) *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production on black and white pepper and the inhibitory action of their chemical constituents. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 376-379.
  21. Madhyastha, M.S. and Bhat, R.V. (1985) Evaluation of substrate potentiality and inhibitory effects to identify high risk spices for aflatoxin contamination. *J. Food Sci.* 50: 376-378.
  22. Mahjoub, A. and Bullerman, L.B. (1987) Effects of nutrients and inhibitors in olives on aflatoxigenic molds. *J. Food Prot.* 50: 959-963.
  23. Morozumi, S. (1978) Isolation, purification, and antibiotic activity of o-methoxycinnamaldehyde from cinnamon. *Appl. Environ. Microbiol.* 36: 557-583.
  24. Paster, N., Juven, B.J. and Harshemesh, H. (1988) Antimicrobial activity and inhibition of aflatoxin B<sub>1</sub> formation by olive plant tissue constituents. *J. Appl. Bacteriol.* 64: 293-297.
  25. San, R.H.C. and Chan, R.I.M. (1987) Inhibitory effect of phenolic compounds on aflatoxin B<sub>1</sub> metabolism and induced mutagenesis. *Mutat. Res.* 177: 229-239.
  26. Sinha, K.K. and Singh, P. (1981) Effect of some phenolics on aflatoxin production and growth of *Aspergillus parasiticus*. *Indian Phytopathol.* 34: 530-531.