

שימוש בחומרי טבע לעיכוב פטריות עובש התוקפות מזון וגרעינים מאוסמים

נ' פסטר¹

תקציר

חומרי טבע רבים ומרכיביהם ידועים כקוטלי מיקרואורגניזמים או כמעכבים את גידולם, ומחקרים רבים נערכו לבדיקת השפעתם על פטריות עובש התוקפות גרעינים ומזון, במטרה לבדוק את אפשרות השימוש בחומרי טבע כמשמרי מזון חילופיים לכימיקלים. המחקרים התמקדו בעיקר בהשפעת החומרים על מיני *Aspergillus*, *Penicillium* ו-*Fusarium* הידועים גם כיוצרי רעלנים שהם מסוכנים לבעלי חיים ולבני אדם. מיצויים שהופקו מצמחי תבלין, מרפא, ניחוח ונוי הוכחו כמעכבי גידול של מיני פטריות עובש. גם לחלק ממרכיביהם של מיצויים אלה היתה השפעה פונגיסטוקסית. בכמה מקרים היתה ההשפעה המעכבת תלויה באופן המיצוי, בתנאי הבדיקה ובקווי הפטריה שנבחנו.

כדי לאמוד את עלויות הטיפולים בחומרי טבע הושוותה פעילות החומרים לזו של פונגיסטאטים מקובלים. כמו כן נערכו ניסויים לבדיקת פעילותם של תכשירים משולבים (חומרי טבע ופונגיסטאטים) במינונים מופחתים. ברוב המקרים דווח על השפעה משולבת מועצמת (סינרגיסטית) בין חומרי הטבע ובין הפונגיסטאטים. לממצאים אלה עשויה להיות חשיבות בתכנון חומרי הדברה עתידיים, שיהיו מבוססים על שילוב בין חומרי טבע (שעלותם גבוהה) במינונים נמוכים ובין מנות מופחתות של כימיקלים.

מנגנון הפעולה של חומרי הטבע טרם הובהר דיו, אף כי יש עדויות שאתר הפגיעה של חומרים אלה הוא קרום התא. החומרים פוגעים בחזירות הממברנה ובתהליכים החיוניים לצימוח הפטריה. ישנה גם דעה שבתהליך עיכוב הפטריות מעורבים יותר ממנגנון אחד. עדיין דרושים מחקרים לבירור מנגנוני הפעולה המעורבים בתהליך.

מבוא

1. התנאים להתפתחות פטריות עובש בגרעינים מאוסמים

המיקרופלורה של גרעינים מאוסמים כוללת מיני פטריות עובש העשויות לגרום נזק כלכלי ותברואי רב במהלך התפתחותן על הגרעינים. ביטוי של נזק זה הם

מפרסומי מינהל המחקר, סדרה ע', 1994, מסי 65.

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

התחממות, הידבקות לגושים, פגיעה בתכונות טכנולוגיות (כגון כושר אפייה) וירידת ערכים תזונתיים. כמו כן עלולים מינים רבים לייצור רעלנים (מיקוטוקסינים - mycotoxins) הרעילים לאדם ולחי ופוגעים, אפילו בכמויות קטנות, במגוון אברים ורקמות. פטריות עלולות לזהם גרעינים עוד בהיותם בשדה, בשלבי ההבשלה השונים. על "פטריות השדה" נמנים בעיקר מינים השייכים לסוגים האלה:

Fusarium, *Helminthosporium*, *Alternaria*, *Cladosporium* ו-

להתפתחותן של פטריות השדה דרושה לחות גבוהה והן אינן מתפתחות בתנאי יובש השוררים באסם. לעומתם קיימים מינים המתפתחים אף בלחות נמוכות ואלה עלולים לכן לתקוף את הגרעינים במהלך האיסוס. על "פטריות המחסן" נמנים בעיקר המינים של הסוגים *Aspergillus* ו-*Penicillium*. פטריות המחסן נחלקות, על-פי דרישות הלחות שלהן, לקבוצות האלה: קסרופיטים - המתפתחים בלחות של 65%-80% (בעיקר מינים המרכיבים את הקבוצות *A. glaucus* ו-*A. restrictus*); מזופיטים - המתפתחים בלחות של 80%-90% (מיני *Penicillium* כמו *P. citrinum* ומינים רבים של *Aspergillus* כמו *A. flavus*, *A. niger* ו-*A. ochraceus*); והידרופיטים - הזקוקים ללחות יחסית גבוהה מ-90% (שמרים, חיידקים ומיני *Fusarium* הנמנים כאמור גם עם פטריות השדה). תהליך העיפוש עלול להתחיל בגרעינים מאוסמים כתוצאה מפעילותן של פטריות קסרופיטיות אשר יוצרות, אגב התפתחותן, לחות ותנאים נוחים להתפתחותם של מינים מזופיטיים, ומאוחר יותר - גם הידרופיטיים.

את פטריות המחסן אפשר גם לחלק לקבוצות בהתאם לדרישות הטמפרטורה שלהן, כלהלן: פסיכרופילים - המתפתחים אף בטמפרטורות של 0-5 מ"צ (מיני *Penicillium*); מזופילים - העשויים להתפתח בטמפרטורות של 5-10 מ"צ אך הטמפרטורה המיטבית להתפתחותם היא 20-30 מ"צ (רוב מיני ה-*Aspergillus*); ותרמופילים - המתפתחים אף בטמפרטורות גבוהות כגון 50-60 מ"צ (כמו *A. fumigatus*).

גורמים נוספים המשפיעים על התפתחות פטריות המחסן הם אלה: הרכב האווירה הביך-גרגרית באסם, נוכחות חרקים, זמינות חומרי התזונה, הרכב הגרעין, רמת הפסולת בצובר, תחרות בין מינים ונוכחות אנטאגוניסטים (כגון חיידקים ושמרים). חשוב מאוד לציין שהתפתחות הפטריות מושפעת בעיקר מפעילות-גומלין בין כל הגורמים. למשל, בתנאים של לחות מיטבית לגידול תתאפשר התפתחות מינים רבים גם כאשר תנאי הטמפרטורה שונים מאלה המקובלים כמיטביים. בכל מקרה, מאחר שלחות של 65% נחשבת כמגבילה את התפתחותם של המינים הקסרופיטיים, היא מוגדרת כיום כלחות הסף הנדרשת לאיסוס בטוח.

2. זרכים למניעת התפתחותן של פטריות מחסן

א. שימוש בכימיקלים. הכימיקלים המקובלים בשימוש למניעת התפתחות פטריות בגרעינים הם חומצות אורגאניות בעלות משקל מולקולרי נמוך [בין היתר: חומצה

פרופיונית (propionic acid) וחומצה אצטית (acetic acid) ומלחיהן (פרפיונאט הסיידן או הנתרן) ועוד]. לחומרים אלה יש מוניתין כבטוחים לשימוש [generally regarded as safe (GRAS)] אך הם בעלי פעילות פונגיסטאטית מוגבלת וקורוסיביים (ולכן הם גורמים לאיכול תאי איסוס מתכתיים) ומחייבים אמצעי מיגון מיוחדים למשתמשים בהם.

ב. אמצעים פיזיקליים. מקובלים האמצעים האלה: יבוש הגרעינים, הורדת לחות הסביבה עד מתחת לרמה הקריטית, הורדת טמפרטורת הצובר, איסוס באווירות מבוקרות דלות בחמצן ועשירות בפחמן דרחמצני, ושימוש בקרינת גאמא לקטילת מקורות מידבק (אינוקולוס) בגרעין.

ג. שימוש בזנים עמידים. בשנים האחרונות הואצו המאמצים למציאת זנים בעלי עמידות לפטריות או ליצירת מיקוטוקסינים. הוכח שיש הבדל בין זנים ברמת עמידותם להתקפת פטריות המחסן, ואין ספק כי בעתיד ייעשה שימוש בטכניקות מולקולריות לאיתור גנים האחראיים לעמידות ובשיטות לטיפוח זנים עמידים.

ד. הדברה ביולוגית. אפשר לנצל אנטאגוניסטים טבעיים (בעיקר שמרים וחיידקים) להדברת פטריות מחסן בגרעינים. ואולם הוספת מיקרואורגאניזמים לתוצרת החקלאית המיועדת למאכל מחייבת תהליכי רישוי ארוכים, וגם היישום של אותם אנטאגוניסטים הוא בעייתי. חשיפת מנגנוני הפעולה המעורבים בעיכוב התחרות בין מינים עשויה להאיץ את השימוש בהדברה ביולוגית. גישה נוספת שנוסתה בהצלחה היא הדברה ביולוגית של פאתוגנים בעת הזריעה ומניעת אילוח הגרעין בשלבי הבשלתו.

ה. שילוב כמה שיטות. השימוש בשיטה משולבת שבה מאחדים כמה אמצעים גם יחד נוסה בהצלחה. נמצא כי שילוב של חומצה פרופיונית, קרינת גאמא ואווירה מבוקרת (כל אחת מהן ברמה נמוכה) היה יעיל במניעת עיפוש גרעיני תירס לתקופה ממושכת מזו שאובחנה בשימוש בכל אמצעי בנפרד. שילוב כמה שיטות מתבטא בהשפעה משולבת מועצמת (סינרגיסטית) שאיפשרה כאמור יישום של כל אחד מהאמצעים שנוכרו במינונים נמוכים בהרבה מהמקובל.

ו. שימוש בחומרי טבע. מספר רב של חומרי טבע ידועים כמעכבים או כקוטלים מיקרואורגאניזמים. לפיכך נחקרה השפעתם של חומרי טבע על פטריות עובש המזהמות גרעינים ומזון, ושל פעילותם כמעכבי יצירת רעלנים. כמה מהממצאים נדונו בעבר על-ידי Marth ו-Rusul (29) ואילו המאמר הזה מסכם מחקרים נוספים שעסקו בנושא.

פרק א': השפעת גורמי המבחן על יעילותם של חומרי טבע קוטלי מיקרואורגאניזמים

גורמי מבחן - כמו שיטת הבדיקה, המיקרואורגאניזם הנבדק, חומר הבדיקה ועוד

(15) - עשויים להשפיע על תוצאות בדיקתם של חומרי טבע כקוטלי מיקרואורגניזמים. הבדלים בין גורמי מבחן אלה עשויים להסביר הבדלים בדיווחים בספרות לגבי פעילותם של כמה חומרים. לפיכך, בעת תכנון הניסויים יש הכרח לציין במדויק כמה נתונים הקשורים לגורמי מבחן אלה.

שיטות הבדיקה נבדקו בניסויים *in vivo* ושיטות *in vitro* הן אלה: שיטת המצע המורעל (poisoned medium) שבה מוסיפים את החומר הנבדק, או מיצויים ממנו, למצע הגידול; בחינת מקטעים נדיפים (volatiles) של חומרי הטבע; שיטת הדיסקיות שבה מספיגים דיסקיות של נייר סינון במיצויים מן החומר הנבדק ומניחים אותן על מצע הגידול; ושיטת ה"בארות" שבה מוסיפים מיצויים מהחומר לנקבים במצע הגידול. יש לציין כי גם בשיטות שבהן מוסף החומר למצע אי אפשר לקבוע בוודאות אם ההשפעה המעכבת של חומר הטבע נובע מפעילותו הישירה כחומר מגע, או מפעילותם של מקטעים נדיפים שלו. בכל מקרה, רמת הפעילות מושפעת בין היתר מהרכב מצע-המזון, מה-pH, מטמפרטורת ההדרגה ועוד.

שיטות הבדיקה *in vivo* כוללות מתן טיפול לגרעינים (או למזון) בחומר הטבע הנבדק (הניתן כאבקה, כנוזל, או כחומר נדיף), או אילוח החומר הנבדק (חלקי צמח שונים, אבקות, רסק וכו') במטרה לזהות השפעה מעכבת של חומר זה.

בין סוגי הפטריות ובין מינים השייכים לאותו הסוג יש הבדלים בתגובתם לאותו החומר הנבדק, ומחקרים רבים מצביעים על כך שגם קווים השייכים לאותו המין נבדלים אלה מאלה ברגישותם לחומר בדיקה מסוים. יתרה מזו, נמצאו פטריות כמו *Rhizopus stolonifer* A. niger המסוגלות לפרק רכיבים של חומרי טבע (22). יש אפוא הכרח לציין במדויק את מקורו של קו הפטריה הנבדק (האוסף שממנו הוא נרכש ומספרו באוסף זה). שלבים פיזיולוגיים של הפאתוגן נבדלים גם הם ברגישותם לחומרי טבע. נמצא כי נדרשו ריכוזי סף מזעריים [minimal inhibitory concentrations (MIC)] שונים לשם קטילת נבגים, תפטיר או קשיונות של אותו קו נבדק. ריכוזי המידבק (כגון צפיפות הנבגים בתרחיף) עשויים גם הם להשפיע על תוצאות הבדיקה.

לרכיבים רבים של חומרי טבע יש פעילות מעכבת בולטת על צימוח פטריות. יתרה מזו, נמצא כי לכמה רכיבים יש פעילות משולבת המגבירה את השפעתם המעכבת. לסוג הרכיבים בחומר הטבע הנבדק, לכמותם וליחס ביניהם יש אפוא השפעה בולטת על פעילותו של החומר. היחס ביניהם עשוי להשתנות עד מאוד בהתאם לתנאי הגידול (תנאים אגרוטכניים, תנאי אקלים ועוד), לשיטות עיבוד המוצר (תבלינים למשל), וכן לסוג ולשיטת המיצוי (מימי, כוהלי וכו'). לכן יש חשיבות לציין את מקור החומר הנבדק (שמו הבוטאני של הצמח) והרכבו המדויק של החומר, אגב הסתמכות על שיטות מקובלות של כרומאטוגרפיה.

כאמור, כל הגורמים הנ"ל משפיעים על תוצאות הניסויים ודוגמאות לכך יובאו בהמשך המאמר.

פרק ב': עיכוב פטריות עובש על-ידי חומרים ממקורות צמחיים

נבדקה פעילותם המעכבת של חומרי טבע על מספר רב של פטריות שהן פאתוגניות לגרעינים ולמזון (טבלה 1). בין היתר נבדקו צמחי תבלין, צמחי מרפא, ירקות, הדורים ועוד, וגם מרכיביהם. יש לציין כי החומרים נבדקו בשיטות שונות שאותן אפשר לחלק לשלוש הקבוצות העיקריות האלה: (1) הוספת צמחים טחונים או מיצויים שהופקו מחלקיהם השונים (עלים, זרעים וכו') למצע הגידול של פטריות המבחן; (2) בדיקת פעילותם של שמנים אתריים שיושמו כחומרים נדיפים (volatiles); (3) אילוח של צמחים (או תבלינים) ובדיקת רמת הנגיעות בהם לאורך זמן. החומרים שנבדקו הם: אורגאנו, קורנית, ציפורן, חרדל, פלפל לבן, קינמון, זנגוויל, מנטה, שום, אניס, מרוה, שמנים שהופקו מקליפות הדורים, חומרים שהופקו מירקות (בצל, גזר), נים, קיקיון ועוד.

במספר מקרים רב נמצאו ממצאים סותרים לגבי פעילותו של חומר זה או אחר, ואלה נובעים בדרך כלל מהבדלים בשיטות הבדיקה ובקווי הפטריות שנבדקו. הסקירה תתמקד בעיקר בציון אותם חומרים שפעילותם הוכחה בכמה מחקרים ולאחר שימוש בטכניקות שונות, ולפיכך אפשר לציין כמעט בוודאות שהם פעילים נגד פטריות עובש ובעלי פוטנציאל יישומי.

1. הוספת חומר צמחי למצע הגידול של פטריות המבחן

החומרים דלהלן נמצאו כמעכבי פטריות עובש:

אורגאנו. Kivaner Agkul בדקו את השפעות התבלין, או השמן שהופק ממנו, על מיני *Aspergillus* ו-*Penicillium* (1) ומצאו כי אורגאנו - בשני אופני היישום שנבחנו - עיכב במידה בולטת הן את צימוח התפטיר והן את התפתחות הנבגים, בשתי רמות ה-pH של המצע. יעילותו של השמן שהופק מאורגאנו בעיכוב שלושה מיני *Aspergillus* הוכחה גם על-ידי פסטר וחובריו (26), והחומר שהוסף למצע גרם עיכוב מוחלט כשהוא ניתן בריכוז של 500 ח"מ. על פעילותו האנטיפטרייתית של האורגאנו דיווחו גם Azzouz ו-Bulleman (3).

ציפורן. תבלין זה הוכח כיעיל בעיכוב הצימוח של פטריות בכמה מחקרים (3, 13, 19). El-Shayeb Mabrouk (19) דיווחו כי מבין ששת התבלינים שבדקו, רק הציפורן עיכב באופן מוחלט את צימוח התפטיר של *A. flavus*. העיכוב אובחן כאשר ריכוז החומר במצע (כתבלין טחון) היה יותר מ-0.5%.

קינמון. הקינמון והשמן שהופק ממנו עיכבו במידה בולטת את המינים *Aspergillus* ו-*Rhizopus* (9, 33, 34). יתרה מזו, Bulleman (8) מצא כי התפתחות מיני עובש על לחם שהכיל קינמון וצימוקים היתה איטית מאוד לעומת התפתחותם בסוגי לחם אחרים. יש לציין כי פעילותו של קינמון הוכחה גם בעיכוב התפתחותם של חיידקים ושמרים, וממצאים אלה מצביעים על אפשרות השימוש בתבלין זה להגנה מפני תחום נרחב של פאתוגנים של מזון. Hitokoto וחובריו (14) דיווחו כי מתוך 30 החומרים שבדקו, רק מיצויים (מימיים וכוהלים) שהופקו מקינמון - וגם הוספת התבלין עצמו

טבלה 1: השפעתם של חומרי טבע נבחרים על גידול פטריות עובש התוקפות גרעינים ומוזן

Table 1: The effect of selected natural substances on the growth of moulds attacking food and stored grain

| מספר ברשימת הספרות Ref. no. | הערות Comments | משך העיכוב (ימים יותר מהבקורת) Inhibition length (days more than control) | השפעה על: Effect on: | הפטריות שנבדקו Fungi tested | המינון Dosage | אופן הבדיקה Assay method | החומר הנבדק Substance tested |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 3 | זמן עיכוב שונה בין הפטריות שנבדקו בין תקופות שונות Different inhibition periods according to the different fungi tested | 8-4 | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס ופניצילוס <i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. | 2.0% | הוספת חומר טחון למצע הגידול Addition of ground material to the growth medium | שום Garlic |
| 12 | | עיכוב מוחלט Complete inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus</i> <i>parasiticus</i> | 0.4% | הוספת מצע מוצק למצע תזון Addition of aqueous extract to the growth medium | |
| 14 | המדד שנבדק: משקל יבש Parameter tested: mycelial dry weight | עיכוב בולט* Strong inhibition* | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס <i>Aspergillus</i> spp. | 10% | הוספת מוצקים למצע תזון בדיליט למצע תזון Addition of aqueous, chloroform or ethanol extracts to the growth medium | |
| 3 | | 1-0 | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס ופניצילוס <i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. | 2.0% | הוספת חומר טחון למצע תזון Addition of ground material to the growth medium | |
| 19 | המדד שנבדק: משקל יבש Parameter tested: mycelial dry weight | עיכוב בולט Strong inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | אספרגילוס פלאוס <i>Aspergillus</i> <i>flavus</i> | 0.1% | הוספת חומר טחון למצע תזון Addition of ground material to the growth medium | פלפל שחור, Black pepper |
| 20 | המדד שנבדק: משקל יבש Parameter tested: mycelial dry weight | עיכוב בולט Strong inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus</i> <i>parasiticus</i> | | אילוח תבלין טחון בפטריות ומוזן Inoculation of ground spice | |

* Strong inhibition = Mycelial growth: less than 50% of that in the control.

עיכוב בולט = צמיחה תפטיר בשיעור של פחות מ-50% מהבקורת.

טבלה 1 (המשך)
Table 1 (cont.)

| מספר בשיטת הפטרות Ref. no. | הערות Comments | משך העיכוב (ימים יותר מהבקורת) Inhibition length (days more than control) | הרשפעה על: Effect on: | הפטריות שנבדקו Fungi tested | רמייען Dosage | אופן הבדיקה Assay method | החומר הנבדק Substance tested |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 20 | תבדד שנבדק: Parameter tested: mycelial dry weight | עיכוב בולט Strong inhibition | צמיחת תפסיר Mycelial growth | אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus parasiticus</i> | | אילוח תבלין טריון בפטריית ומבחן Inoculation of ground spice | פלפל לבן White pepper |
| 34 | עיכוב מוחלט Complete inhibition | עיכוב מוחלט Complete inhibition | צמיחת תפסיר Mycelial growth | אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus parasiticus</i> | 200 ח"מ 200 ppm | הוספת מיני שמן למעט הנדודל Addition of spice oil to the growth medium | אניס Anise |
| 16 | אין עיכוב No inhibition | אין עיכוב No inhibition | צמיחת תפסיר Mycelial growth | אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus parasiticus</i> | 16.0% | הוספת תבלין טריון למעט הנדודל Addition of ground spice to the growth medium | |
| 18 | 14 עיכוב מוחלט Complete inhibition | 14 עיכוב מוחלט Complete inhibition | צמיחת תפסיר Mycelial growth הגברה Sporulation | מיני אספרגילוס <i>Aspergillus</i> spp. | | אילוח תבלין טריון בפטריית ומבחן Inoculation of ground spice | אורגנו Oregano |
| 3 | תקופות עיכוב שונות במיני הפטריות שנבדקו Different inhibition periods among the fungal species tested | 7-2 | צמיחת תפסיר Mycelial growth | מיני אספרגילוס פניציליים <i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. | 2.0% | הוספת חומר טריון למעט הנדודל Addition of ground material to the growth medium | |
| 1 | עיכוב בולט Strong inhibition | עיכוב בולט Strong inhibition | צמיחת תפסיר Mycelial growth | מיני אספרגילוס פניציליים, מוקרין, וגיאסטריוס קאנדידוס <i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. <i>Mucor</i> spp. <i>Geotrichum candidum</i> | 0.025% | הוספת מיני שמן למעט הנדודל Addition of spice oil to the growth medium | |

טבלה 1 (המשך)
Table 1 (cont.)

| מספר הפרסום Ref. no. | הערות Comments | משך העיכוב (ימים יותר מהבקורת) (days more than control) | הרשפה על- השפעה על- Effect on: | הפטריות שנבדקו Fungi tested | דמיין Dosage | אופן הבדיקה Assay method | החומר הנבדק Substance tested |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 26 | אספרגילוס אורגנוס ערכה רק 600-2 ח"מ <i>A. ochraceus</i> was inhibited at 600 ppm | עיכוב מוחלט Total inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס <i>Aspergillus</i> spp. | 400 ח"מ 400 ppm | הוספת מוצעו שמן למועץ הבדיקה Addition of spice oil to the growth medium | אורגנו <i>Oregano</i> |
| 26 | משך הבדיקה: 30 ימים Experiment duration: 30 days | עיכוב מוחלט Total inhibition | נבירה נבירה Spore germination | מניי אספרגילוס <i>Aspergillus</i> spp. | | הוספת מוצעו שמן למועץ הבדיקה Addition of spice oil to the growth medium | |
| 27 | רחוקה ניון באידו, חשיפה ל-24 שעות Applied as fumigant, 24 h exposure | רק 20% עיכוב נבירה לעומת הבקורת (100% נבירה) only 20% of infested grain as compared with the control (100% of infestation) | | מיקרופלורה טבעית Natural microflora | | הדברת מיקרופלורה של גרעיני חיטה Control of microflora of wheat grain | |
| 18 | רק לבני מני פטריות אחד For only one fungal species | 2 עיכוב מוחלט Complete inhibition | רוביה Sporulation צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס <i>Aspergillus</i> spp. | | אילוח תבלין טחון בפטריות ותבלין Inoculation of ground spice | תימין <i>Thyme</i> |
| 33 | | עיכוב מוחלט Complete inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס ריזופוס <i>Aspergillus</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp. | 1,000 ח"מ 1,000 ppm | הוספת מוצעו שמן למועץ הבדיקה Addition of essential oil to the growth medium | |
| 26 | צמיחה חלקית רק באספרגילוס אורגנוס Partial growth in <i>A. ochraceus</i> | עיכוב מוחלט Complete inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס <i>Aspergillus</i> spp. | 600 ח"מ 600 ppm | הוספת מוצעו שמן למועץ הבדיקה Addition of spice oil to the growth medium | |

טבלה 1 (המשך)
Table 1 (cont.)

| מספר ברשימת הספרות Ref. no. | הערות Comments | משך העיכור (ימים יותר מהבקורת) Inhibition length (days more than control) | הושפע על: Effect on: | הפטריית שבדוק Fungi tested | רמינון Dosage | אופן הבדיקה Assay method | החומר הנבדק Substance tested |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 26 | לרובית אספירילוס, אכרואס. משך הניסוי: 14 ימים. Except for <i>A. ochraceus</i> . Experiment duration: 14 days. | >12 | נביטת נבגים Spore germination | מיני אספירילוס <i>Aspergillus</i> spp. | 700 חמץ 700 ppm | הוספת מוצץ שמן למצע הגידול Addition of spice oil to the growth medium | תימין Thyme |
| 27 | הוחמד נקט כאיז', חשפה ל-24 שעות Applied as fungigant, 24 h exposure | רק 20% מניבים נבגים לעומת הבקורת (רק 100% נביטת) only 20% of infested grain as compared with the control (100% infestation) | | מיקרופלורה טבעית Natural microflora | | הדברת מיקרופלורה של גרעיני חיטה Control of microflora of wheat grain | |
| 18 | רק לגבי מיני מסוימים אחד For only one fungal species | 7 עיכור מוחלט Complete inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth רגבה Sporulation | מיני אספירילוס <i>Aspergillus</i> spp. | | אילוח תבלין טחון בפטריית ומבחן Inoculation of ground spice | כרפס Celery seed |
| 18 | | 2 אין עיכור No inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth רגבה Sporulation | מיני אספירילוס <i>Aspergillus</i> spp. | | אילוח תבלין טחון בפטריית ומבחן Inoculation of ground spice | שומשום Sesame seed |
| 18 | | עיכור מוחלט Complete inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth רגבה Sporulation | מיני אספירילוס <i>Aspergillus</i> spp. | | אילוח תבלין טחון בפטריית ומבחן Inoculation of ground spice | חרדל Mustard |
| 3 | תקופות עיכור שונות במקרים שונים Different inhibition periods among the fungal species tested | 7-5 | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מיני אספירילוס ו- <i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. | 2.0% | אילוח תבלין טחון למצע הגידול Addition of ground spice to the growth medium | |

טבלה 1 (המשך)
Table 1 (cont.)

| מספר ברשימת המקורות Ref. no. | הערות Comments | משך העיכוב (ימים יותר מהבקורת) (days more than control) | ההשפעה על Effect on: | הפטריות הנבדקת Fungi tested | המינון Dosage | אופן הנבדוק Assay method | החומר הנבדק Substance tested |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 14 | המדד שנבדק: Parameter tested: mycelial dry weight | עיכוב מוחלט Total inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס <i>Aspergillus</i> spp. | 10% | הוספת מינרלים ממיים או כחליים למצע הגידול Addition of aqueous or alcoholic extracts to the growth medium | קינמון Cinnamon |
| 18 | עיכוב מוחלט Complete inhibition | עיכוב מוחלט Complete inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth הגברה Sporulation | מניי אספרגילוס <i>Aspergillus</i> spp. | | אילוח תבלין טחון בפטריות ומבחן Inoculation of ground spice | |
| 3 | עיכוב מוחלט במבחן מהפסטריות Complete inhibition of several fungi | 19-5 | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס ומניי פניצילוס <i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. | 2.0% | הוספת תבלין טחון למצע הגידול Addition of ground spice to the growth medium | |
| 19 | המדד שנבדק: משיקל יבש Parameter tested: mycelial dry weight | עיכוב בולט Strong inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס פלאווס <i>Aspergillus</i> <i>flavus</i> | 0.5% | הוספת תבלין טחון למצע הגידול Addition of ground spice to the growth medium | |
| 33 | עיכוב מוחלט Complete inhibition | עיכוב מוחלט Complete inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס ריזופוס <i>Aspergillus</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp. | 1,000 חו"מ 1,000 ppm | הוספת שמן למצע הגידול Addition of essential oil to the growth medium | |
| 34 | עיכוב מוחלט Complete inhibition | עיכוב מוחלט Complete inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס פאראזיטקוס <i>Aspergillus</i> <i>parasiticus</i> | 200 חו"מ 200 ppm | הוספת שמן למצע הגידול Addition of essential oil to the growth medium | |
| 8 | עיכוב בולט Strong inhibition | עיכוב בולט Strong inhibition | צמיחה תפטיר Mycelial growth | מניי אספרגילוס פאראזיטקוס <i>Aspergillus</i> <i>parasiticus</i> | 2.0% | הוספת מינרל אלכוהולי למצע הגידול Addition of alcohol extract to the growth medium | |

(תבנית 1)
Table 1 (cont.)

| מספר המחקר Ref. no. | הערות Comments | משך הזמן (ימים יותר מהבקרה) Inhibition length (days more than control) | השפעה על: Effect on: | הפטריות שנבדקו Fungi tested | המינון Dosage | אופן הבדיקה Assay method | החומר הנבדק Substance tested |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| 8 | עירוב גולט בתנודות אחד ומחולט בשני Inhibition was strong for one strain, complete for the second | | צמיחה תפטית Mycelial growth | שני תנודות של אספרגילוס פאראזיטיקוס Two strains of <i>Aspergillus parasiticus</i> | 20.0% | הוספת תבלין טריון למעץ הנידול Addition of ground spice to the growth medium | קימון Cinnamon |
| 8 | גידול מפותח Very scant growth | | | אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus parasiticus</i> | 1% | הוספת תבלין ללחם Addition of ground spice to bread | |
| 16 | עירוב גולט Strong inhibition | | צמיחה תפטית Mycelial growth | אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus parasiticus</i> | 1.6% | הוספת למעץ הנידול Addition to the growth medium | שמן קליפת תפוזים (למון, לימון) Citrus peel oils (orange, lemon) |
| 2 | המדד שנבדק: משקל יבש, לאחר סיון והסיון Parameter tested: mycelial dry weight after juice filtering | עירוב גולט Strong inhibition | צמיחה תפטית Mycelial growth | אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus parasiticus</i> | 2,000-3,000 ח"מ 2,000-3,000 ppm | הוספת למעץ הנידול Addition to grapefruit juice | |
| 4 | עירוב גולט Strong inhibition | | צמיחה תפטית Mycelial growth | אספרגילוס פאראזיטיקוס <i>Aspergillus parasiticus</i> | 3300 ח"מ 3300 ppm | הוספת מוצץ שמן למעץ הנידול Addition of seed oil extract to the growth medium | זרע Carrot seeds |
| 18 | עירוב מחולט Complete inhibition | | צמיחה תפטית Mycelial growth הגברה Sporulation | שני אספרגילוס <i>Aspergillus spp.</i> | | אילוח תבלין טריון בפטריות והוספת Inoculation of ground spice | |
| 33 | עירוב מחולט Complete inhibition | | צמיחה תפטית Mycelial growth | שני אספרגילוס והוספת <i>Aspergillus spp.</i> <i>Rhizopus spp.</i> | 1000 ח"מ 1000 ppm | הוספת מוצץ שמן למעץ הנידול Addition of spice oil to the growth medium | ציפורן Clove |

(תשע"ד)
טבלה 1 (cont.)
Table 1 (cont.)

| מספר ברשימת הספרות Ref. no. | הערות Comments | משך העיכוב (ימים יותר מהבקורת) Inhibition length (days more than control) | הרשפעה על: Effect on: | הפטריות שבדקו Fungi tested | רמינון Dosage | אופן הבדיקה Assay method | החומר הנבדק Substance tested |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 3 | | עיכוב מוחלט Complete inhibition | צימון תפסיר Mycelial growth | מייני אספרגילוס ופניציליום <i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. | 2.0% | היספת תבלין טחון למעץ הגידול Addition of ground spice to the growth medium | ציפורן Clove |
| 19 | | עיכוב מוחלט Complete inhibition | צימון תפסיר Mycelial growth | אספרגילוס <i>Aspergillus</i> <i>flavus</i> | 0.5% | היספת תבלין טחון למעץ הגידול Addition of ground spice to the growth medium | מרווה Sage |
| 16 | | אין עיכוב No inhibition | צימון תפסיר Mycelial growth | אספרגילוס פארזיטקוס <i>Aspergillus</i> <i>parasiticus</i> | 16.0% | היספת תבלין טחון למעץ הגידול Addition of ground spice to the growth medium | מנטה Mint |
| 16 | דיווח זהה ללבי מנטה בספרות מס' 19 Similar report for mint also in ref no. 19 | אין עיכוב No inhibition | צימון תפסיר Mycelial growth | אספרגילוס פארזיטקוס <i>Aspergillus</i> <i>parasiticus</i> | 16.0% | היספת תבלין טחון למעץ הגידול Addition of ground spice to the growth medium | אניס Aniseed |
| 18 | רק לבי כמה ממיי הפטריות Only some of the Fungal species | אין עיכוב No inhibition עיכוב חלקי Partial inhibition | צימון תפסיר Mycelial growth הנבנה Sporulation | מייני אספרגילוס <i>Aspergillus</i> spp. | | אילוח תבלין טחון Inoculation of ground spice | זנגביל Ginger |
| 19 | רמוד שגבדק: משקל יבש mycelial dry weight | אין עיכוב No inhibition | צימון תפסיר Mycelial growth | אספרגילוס פלאוס <i>Aspergillus</i> <i>flavus</i> | 5.0% | היספת תבלין טחון למעץ הגידול Addition of ground spice to the growth medium | |
| 19 | רמוד שגבדק: משקל יבש mycelial dry weight | עיכוב קל Slight inhibition* | צימון תפסיר Mycelial growth | אספרגילוס פלאוס <i>Aspergillus</i> <i>flavus</i> | 0.1% | היספת תבלין טחון למעץ הגידול Addition of ground spice to the growth medium | כמון Cummin |

* Slight inhibition - Mycelial growth: 50-100% of that in the control.

* עיכוב קל - צימון תפסיר בשיעור של 50%-100% מהבקורת.

למצע - עיכבו באופן מוחלט גידול של ארבעה מיני *Aspergillus*.
 חומרים אחרים שנמצאו כמעכבי גידול של פטריות עובש (בעיקר ממיני *Aspergillus*) הם אבקות ומיצויים שהופקו משום (3, 12, 14), מאניס (34), מבצל (30), מיצוי מזרעי גזר (4), מחרדל (14) ומתימוס (16), ושמונים שהופקו מקליפות הדורים (16). כמו כן אפשר למנות עמם צמחי נוי שבחנו Bilgrami וחבריו (5) וגם Nagaraj Ghewande (10) ואלה הם: כופר לבן (*Lawsonia alba*) מסדרת ההדסניים (*Myrtales*), סוגי טבק (*Nicotinia*), אזדרכת (*Azadirachta indica*), וינקה (*Vinca rosea*), וקרוטון (*Croton*) ממשפחת החלבוביים (*Euphorbiaceae*).

2. פעילותם של שמנים אתריים כחומרים נדיפים

הוספת מיצויים צמחיים נוזליים כחומרי הגנה מפני פטריות פאתוגניות מחייב שימוש בהם בכמויות גדולות המתאימות לכמויות הגרעינים העצומות המאוחסנות במחסנים ובממגורות. טיפול בגרעינים כחומרים נוזליים הוא בעייתי גם עקב הסכנה הטמונה בהעלאת לחות הגרעינים. מאחר שרוב רכיבי המיצויים הצמחיים (שמנים אתריים) הם נדיפים, הועלתה האפשרות להשתמש בחומרי המיצוי או ברכיביהם כחומרי איוד. פסטר וחבריו מצאו (27) כי שמנים אתריים שמוצו מאורגאנו וניתנו כחומרי איוד בריכוז של 2-3 ח"מ מנעו נביטת נבגים וצימוח תפטיר של שלושה מיני *Aspergillus* (*A. ochraceus*, *A. flavus*, *A. niger*). שמנים אתריים שמוצו מתימוס וניתנו באותם ריכוזים עיכבו רק את נביטת הנבגים אך לא את צימוח התפטיר.

בניסוי (21) שבו נבדקה פעילותם, כחומרי איוד, של חמישה מרכיביהם השונים של שמנים אתריים נמצאו אחדים אשר בריכוז של 100 ח"מ עיכבו צימוח של *A. niger*, *P. digitatum*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor* spp. ו-*R. stolonifer* (באופן יחסי לביקורת). כך למשל, אלדהיד צינמי (cinnamic aldehyde) עיכב את הפטריה *R. stolonifer* בשיעור של 65% (מהביקורת) בעוד שציטראל (citral) עיכב את גידולן של כל ארבע הפטריות האחרות בשיעורים של 30%-52% (מהביקורת).

הממצאים מלמדים אפוא שאפשר להשתמש בחומרי טבע גם כחומרי איוד ובכך יתאפשר השימוש בחומרים אלה גם בגרעינים, אך יש עדיין לחקור נושא זה. נערכו מחקרים *in vivo* שבהם נחשפו גרעיני חיטה לאדי שמן שהופק מהתבלין אורגאנו, למשך 24 שעות (27). מהתוצאות עולה כי לאחר חשיפת הגרעינים לחומר בריכוז של 20 ח"מ פחת שיעור הגרעינים הנגועים בפטריות עד לכ-80% כמהביקורת. יש לציין כי ממצאי העבודה לימדו גם כי יעילות החומר כקוטל-פטריות עלתה ככל שלחות הגרעינים היתה יותר גבוהה, וכי החומר גרם גם לצמצום ניכר בכושר נביטת הגרעינים; ממצא זה מדגיש את אפשרות השימוש בחומר לשימור גרעיני מאכל אך לא לחיטוי זרעים.

ממצאי המחקרים הנ"ל מלמדים בבירור כי בצמחים רבים ישנם חומרים העשויים לשמש כקוטלי פטריות עובש או כמעכבים את התפתחותן. ואולם יש להתחשב בכך שלעיתים החומרים פעילים רק בהיתנם במנות גדולות, או נגד מספר מינים מצומצם.

מכל מקום, נראה כי עדיין חסרים ממצאים אודות פעילותם של החומרים האלה הן בהינתנם כתוספות למצע הגידול או כחומרי איוד *in vivo*. כמו כן יש לבדוק את כושרם של החומרים לחדור לעומק צובר גרעינים ואת האפשרות לשלב כמה חומרי טבע להשגת רמת פעילות גבוהה יותר, או תחום פעילות נרחב כנגד מספר גדול יותר של מיני עובש.

3. אילוח ישיר של תבלינים

Llewellyn וחבריו (18) נקטו בשיטת האילוח הישיר ובה הוסיפו לעשרה מיני תבלין תרחיפי נבגים משני תבדידים (strains) שונים של *A. flavus* ומתבדיד אחד של *A. parasiticus*. כל תבדיד נבחן בנפרד. ממצאי העבודה לימדו כי הפטריות לא גדלו כלל על קינמון וציפורן בעוד שגידול מוגבל של התבדיד *A. flavus* ATCC 15548 בלבד אובחן על חרדל. לא אובחנה יצירת נבגים על סלרי, אורגאנו, קינמון, ציפורן או חרדל. כל התבדידים שנבדקו צמחו והנביגו על שומשום, גייג'יר ורוזמרין. ממצאי עבודה זו מחזקים את התוצאות שהוצגו לעיל אודות פעילותם המעכבת של קינמון, ציפורן ואורגאנו.

Bhat ו-Madhyastha (20) אילחו פלפל שחור ופלפל לבן בפטריה *A. parasiticus*. בפרקי זמן קצובים הופרד תפטיר הפטריה ונקבעה עקומת הגידול בהתאם למשקל היבש של התפטיר. החוקרים מצאו כי שני מיני התבלין שימשו מצעים דלים לגידול הפטריה ואילו בפלפל לבן היא כמעט שלא התפתחה. ממצאים אלה אינם עולים בקנה אחד עם דיווחיהם של Azzouz ו-Bullerman (3) וסתירה זו נובעת כנראה גם כאן מהשוני בשיטות הבדיקה.

4. מחקרים לבחינת ההשפעה המשולבת של חומרי טבע ומעכבי-פטריות (פונגיסטאטים) הניתנים במנות קטנות

כדי לאמוד את עלויות הטיפולים בחומרי טבע נערכו מחקרים שבהם הושוותה פעילותם לזו של פונגיסטאטים שניתנו ברמות המקובלות בשימוש. כמו כן נערכו ניסויים לבדיקת פעילותם המשולבת של מעכבי-פטריות וחומרי טבע. Akgul ו-Kivanc (1) השוו בין פעילותם הנפרדת של אורגאנו, מלח בישול (NaCl), חומצת חומץ (acetic acid), חומצה סורבית (sorbic acid), סודיום בנזואט-הנתרן (sodium benzoate) ובין תכשיר משולב של מלח ואורגאנו. החוקרים מצאו כי יעילותו של התכשיר המשולב בעיכוב הצימוח של מיני *Aspergillus*, *Mucor* ו-*Penicillium* היתה גדולה מזו של כל אחד מרכיביו ואף מזו של חומצה סורבית (ששימשה כביקורת וניתנה ברמת הטיפול המקובלת של 0.05%).

Azzouz ו-Bulleman (3) שילבו פוטאסיום סורבאט-האשלגן (potassium sorbate) עם ציפורן ומצאו שלשילוב יש השפעה מועצמת לעומת שני החומרים בנפרד. התכשיר המשולב עיכב את צימוח התפטיר של מיני הפטריות *Aspergillus* ו-*Penicillium* למשך תקופה ארוכה מזו שאובחנה לגבי כל אחד מרכיביו.

גם Koike ו-Kurita (17) דיווחו על השפעה מועצמת (סינרגיסטית) של שילוב בין כימיקלים וחומרי טבע או רכיבים. אפשר אפוא לסכם ולומר כי לתוצאות המחקרים המצביעים על השפעה משולבת מועצמת בין חומרי טבע ובין כימיקלים המשמשים כמעכב-פטריות עשויה להיות משמעות רבה בתכנון השימוש בחומרי הדברה בעתיד. תכשירים כאלה יהיו מבוססים על שילוב בין חומרי טבע (שעלותם גבוהה) במינונים קטנים ובין מנות מופחתות של כימיקלים העומדים להידחק מפאת רעילותם. בשימוש משולב כזה תהיה תרומה משמעותית הן מהמבט הכלכלי והן מבחינת בריאות הציבור.

פרק ג': פעילות רכיבים של חומרי טבע כמעכבי פטריות עובש ומנגנוני פעולתם האפשריים

הועלו כמה הצעות לגבי מנגנון הפעולה האחראי לפעילותם האנטיפטריתית של חומרי טבע. בעבודות רבות נחקרה השפעתם של הרכיבים העיקריים של חומרים אלה נגד הפטריות במטרה לאתר את הרכיב/ים המשפיע/ים (טבלה 2).

Moleyar ו-Narasimham (23) התמקדו בפעילותם של ציטראל (citral) וקאמפור (camphor) בעיכוב הצימוח של הפטריה *A. niger*, ומצאו כי חומרים אלה עיכבו את קליטת חומרי המזון ממצע-הגידול על-ידי קורי התפטיר, וגם את סינתזת ה-RNA וה-DNA. החוקרים הציעו שאתר פעילותם העיקרי של החומרים האלה הוא קרום התא (cell membrane), שם נקשרים החומרים (שהם ליפופילים) למקטע השומני ובכך פוגעים בחדירותו של אותו קרום.

בעבודה אחרת של אותם חוקרים (21) נמצאו הבדלים בין רכיבים שונים של חומרי טבע, ואלה סווגו לקבוצות בהתאם למבנם הכימי, כלהלן: אלדהידים לא-רוויים (ציטראל, אלדהיד-צינמי וציטרונלאל) היו בעלי פעילות מעכבת חזקה יותר מזו של כוהלים לא-רוויים כגון גראניול (geraniol), בעוד שפחממנים כמו קאמפן [(+)-camphene], לימוןן [(+)-limonene] ו- α -טרפינן (α -terpinene) היו בעלי פעילות מוגבלת בלבד. החומרים נבדלו אמנם זה מזה בפעילותם נגד פטריות המבחן, והשוני נעוץ כנראה באופן הבדיקה. למרות השוני, נראה שאת הפעילות נגד הפטריות אפשר לייחס לקבוצה אלדהידית המצומדת לפחמנים הקשורים בקשר כפול ($C=C$). מולקולות המכילות צימוד זה טעונות מטען שלילי (negative electron) ולכן הן עשויות להפריע בתהליכים ביולוגיים ולעכב גידולם של מיקרואורגניזמים.

טבלה 2: רשימת רכיבים של חומרי טבע שנמצאו יעילים בעיכוב פטריות עובש*
Table 2: Natural product components found to be fungitoxic to molds*

| מס' ברשימת הספרות References | החומר Compound | מס' ברשימת הספרות References | החומר Compound | מס' ברשימת הספרות References | החומר Compound |
|------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|---------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| 21, 17 | ציטרונלאל Citronellal | 4 | α-טרפינאול α-Terpineol | 32, 28, 21, 9 | אאוגנול Eugenol |
| 24, 21, 4 | ציטראל Citral | 17, 2 | D-לימוןן D-Limonene | 11 | אולאורופאין Oleuropein |
| 17 | p-צימן p-Cymene | 17 | לינלול Linalol | 32, 28, 25, 9 | אלדהיד צינמי Cinnamic aldehyde |
| 23 | קאמפור Camphor | 24, 21, 17 | מנטול Menthol | 21, 4 | גראניול Geraniol |
| 21, 17 | קארון (+)-Carvone | 32, 28 | סאפרול Safrol | 31, 6 | חומצה פרולית Ferulic acid |
| 32, 28, 27, 1 | קארוואקרול Carvacrol | 20 | פיפרין Piperine | 28, 27, 7, 1 | תימול Thymol |

* שיעור העיכוב שונה במיני הפטריות, בהתאם לשיטות הבדיקה השונות.

* The fungitoxic activity varies among the fungal species according to the assay used.

Pauli ו-Knobloch (28) השוו גם הם חומרים בעלי מבנה כימי שונה. איזואאוגנול (isoeugenol) וקארוואקרול (carvacrol) היו בעלי השפעה פונגיצידית חזקה מאוד, בעוד שאאוגנול ותימול היו יעילים פחות בעיכוב פטריות המבחן (מהמינים *Aspergillus*, *Penicillium* ו-*Fusarium*). המשותף בין החומרים הפעילים שנבחנו היה שכולם מכילים קבוצה פנולית חופשית ומתמיר אלקילי (alkyl substituent). מתוך פעילותם של קארוואקרול ותימול (thymol) אפשר ללמוד שגם קבוצת ס-אלקיל (o-alkyl), כגון מתיל ו/או איזופרופאנול (isopropanol) מעורבת במנגנון העיכוב. מנגנון זה, האחראי לפעילות של תרכובות פנוליות בעלות קבוצות אלקיל או מתוקסי, קשור כנראה ביכולתם של חומרים אלה להתמוסס במקטעים שומניים שבממברנות התאים ולעכב את תהליכי הנשימה והפוספורילציה, כדוגמת מנגנון פעילותם של טרפנואידים (terpenoids).

במחקרים רבים מיוחסת פעילותו המעכבת של חומר בעיקר לנוכחות של אחד

מרכיביו העיקריים [אאוגנול במקרה של ציפורן (13); פיפרין (piperine) במקרה של פלפל שחור (20)]. ואולם חשוב לציין שבכמה מקרים נמצא כי פעילותם של רכיבים בודדים היתה מצומצמת מזו של החומר כולו (2, 27, 30). מכאן עולה האפשרות שקיימת השפעה משולבת בין הרכיבים השונים (הן לגבי עיכוב של צימוח התפטיר והן לגבי יצירת הטוקסינים) וכי היא מתבטאת בפעילות מעוצמת (סינרגיסטית) של תערובת החומרים. אפשר אפוא לסכם ולומר שמכמה מחקרים עולה שאתר הפעילות של רכיבי חומרי הטבע הוא קרומי התא, וההסבר לפעילותם של רכיבים אלה הסתמך בעיקר על המבנה הכימי של החומרים הפעילים. קשה להצביע בוודאות על מנגנון פעילות אחד המדכא את צימוח הפטריות, ובהחלט יתכן שפעולת החומרים נובעת מכמה מנגנונים הפועלים יחד, או תלויים זה בזה.

חשוב לציין שבכמה מחקרים נמצא כי פעילות העיכוב של חומרי הטבע מוגבלת למינים מסוימים בלבד, עובדה המקשה על איתור ודאי של המנגנון(ים) המעורב(ים) בפעילות זו. יש צורך אפוא במחקרים נוספים שיבהירו בוודאות את מנגנוני העיכוב של החומרים האלה ושל רכיביהם, ויסייעו בכך באיתור חומרים בעלי רמת פעילות גבוהה.

רשימת הספרות

1. Akgul, A. and Kivanc, M. (1988) Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. *Int. J. Food Microbiol.* 6:263-268.
2. 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.
3. Azzouz, M.A. and Bullerman, L.B. (1982) Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, plant components and commercial antifungal agents. *J. Food Prot.* 45: 1298-1301.
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. 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.
6. 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.

7. Buchanan, R.L. and Shepherd, A.J. (1981) Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by thymol. *J. Food Sci.* 46: 976-977.
8. Bullerman, L.B. (1974) Inhibition of aflatoxin production by cinnamon. *J. Food Sci.* 39: 1163-1165.
9. 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.
10. Ghewande, M.P. and Nagaraj, G. (1987) Prevention of aflatoxin contamination through some commercial chemical products and plant extracts in groundnuts. *Mycotoxin Res.* 3: 19-24.
11. Gourama, H. and Bullerman, L.B. (1987) Effects of oleuropein on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Lebensm. Wiss. Technol.* 20: 226-228.
12. 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.
13. Hitokoto, H., Morozumi, S., Wauke, T., Sakai, S. and Kurata, H. (1980) Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. *App. Environ. Microbiol.* 39: 818-822.
14. 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.
15. Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C. and Svendsen, B. (1987) Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta Med.* 53: 395-398.
16. Karapiner, M. (1985) The effect of citrus oils and some spices on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2949. *Int. J. Food Microbiol.* 2: 239-245.
17. Kurita, N. and Koike, S. (1982) Synergistic antimicrobial effect of acetic acid, sodium chloride and essential oil components. *Agric. Biol. Chem.* 46: 1655-1660.
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. Moleyar, V. and Narasimham, P. (1986) Antifungal activity of some essential oil components. *Food Microbiol.* 3: 331-336.
22. Moleyar, V. and Narasimham, P. (1987) Detoxification of essential oil components (citral and menthol) by *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer*. *J. Sci. Food Agric.* 39: 239-246.
23. Moleyar, V. and Narasimham, P. (1987) Mode of antifungal action of essential oil components citral and camphor. *Indian J. Exp. Biol.* 25: 781-784.
24. Moleyar, V. and Narasimham, P. (1987) Effect of agar on the inhibitory activity of antifungal compounds citral and menthol. *Indian J. Exp. Biol.* 25: 874-975.
25. Morozumi, S. (1978) Isolation, purification, and antibiotic activity of o-methoxycinnamaldehyde from cinnamon. *Appl. Environ. Microbiol.* 36: 557-583.
26. Paster, N., Juven, B.J., Shaaya, E., Menasherov, M., Nitzan, R., Weisslowicz, H. and Ravid, U. (1990) Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 11: 33-37.
27. Paster, N., Menasherov, M. and Ravid, U. (1993) Fungitoxic activity of essential oils applied as fumigants against mycotoxigenic moulds attacking stored grain. *Phytoparasitica* 21: 165 (abstr.).
28. Pauli, A. and Knobloch, K. (1987) Inhibitory effects of essential oil components on growth of food contaminating fungi. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 185: 10-13.
29. Rusul, G. and Marth, E.H. (1988) Food additives and plant components control growth and aflatoxin production by toxigenic aspergilli: A review. *Mycopathologia* 101: 13-23.
30. Sharma, A., Tewari, G.M., Shrikhande, A.J., Padwal-Desai, S.R. and Bandyopadhyay, C. (1979) Inhibition of aflatoxin-producing fungi by onion extracts. *J. Food Sci.* 44: 1545-1547.
31. Sinah, K.K. and Singh, P. (1981) Effect of some phenolics on aflatoxin production and growth of *Aspergillus parasiticus*. *Indian Phytopathol.* 34: 530-531.
32. Thompson, D.P. (1989) Fungitoxic activity of essential oil components on food storage fungi. *Mycologia* 81: 151-153.

33. Thompson, D.P. and Cannon, C. (1986) Toxicity of essential oils on toxigenic and nontoxigenic fungi. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 36: 527-532.
34. Tiwari, R., Dikshit R.P., Chandan, N.C., Saxena, A., Gupta, K.G. and Vadehra, D.E. (1983) Inhibition of growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus parasiticus* by spice oils. *J. Food Sci. Technol.* 20: 131-132.