J. Fd Hyg. Safety 15(2), 122–127 (2000)

*Bacillus subtilis*가 생산하는 길항물질에 의한 아플라톡신 생성균의 억제

강길진† · 정지현 · 조정일*
*식품의약품안전청 광주지방청 · *조선이공대학 식품공업과*

Inhibition of Aflatoxin-producing Fungi with Antifungal Compound Produced by *Bacillus subtilis*

Kil-Jin Kang†, Ji-Hyun Jeoung and Jung-Il Cho*
Korea Food & Drug Administration, Woosan-dong 1582-2, Kwangsan-ku, Kwangju, 506-050
**Dept. of Food Technology, Chosun College of Science and Technology, Kwangju, 501-759 Korea*

ABSTRACT – An antifungal bacterium was isolated to inhibit of the growth of *Asp. flavus* and *Asp. parasiticus*, and its antifungal compounds were purified from lyophilized culture broth using chromatographic methods. Antifungal bacterium #19 which was shown a higher inhibitory activity on the growth of aflatoxin producing fungi was identified as *Bacillus subtilis*. The purified antifungal compound(1 mg) was demonstrated strong antifungal activity against the aflatoxin producing fungi.

Key words □ Aflatoxin, *Bacillus subtilis*, Aflatoxin producing fungi, Antifungal compounds.

아플라톡신은 *Asp. flavus*나 *Asp. parasiticus*등의 대사산물로서 동물에 대하여 발암성, 돌연 변이성, 기형발현성 등을 나타내는 독성물질이다.[1-3] 이러한 아플라톡신을 생산하는 곰팡이는 자연계에 널리 분포되어 있으며 다양한 환경조건에서도 자랄 수 있다.[4-7]

아플라톡신은 밀, 귀리, oil seed와 같은 곡류, 곡류로 만든 발효음료 및 식품, 우유, 치즈, 땅콩가공품, 과일주스 그리고 다른 많은 농산물에서 검출되므로서[8-10] 경제적 손실뿐만 아니라 가축과 인간에게 아주 치명적인 해를 끼칠 수 있다.

특히 예로부터 우리 식탁의 중요한 위치를 차지하는 대두발효식품인 재래식 된장과 간장 또한 아플라톡신의 위험에 노출되어 있다. 식품 중에 아플라톡신 등의 독소를 생산하는 곰팡이의 존재는 사람의 건강에 잠재적인 위험을 언제나 내포하고 있다.

오늘날 식품 산업에 있어서 미생물에 의한 독소 생성의 방지와 조절은 관심 분야로 대두되고 있으며, 또한 인간과 가축에 대한 위해성 때문에 합성 첨가제 보다는 천연 비독성 물질에 대한 관심이 높아지고 있다.

많은 학자들은 *Asp. flavus*나 *Asp. parasiticus*에 의한 아플라톡신의 생성 및 그의 생육을 효과적으로 저지하기 위하여 식물의 추출물을 이용했을 뿐만 아니라[11-14] *Streptococcus*, *Lactobacillus*와 같은 미생물도 이용하였다.[15-18]

이러한 아플라톡신이 자연계로의 오염방지를 위해서는 먼저 아플라톡신 생성균을 제거해야 하는데, 그 방법으로서 환경조절이나 화학 첨가제 등의 처리를 들 수 있으며 최근에는 자연적 저항인자를 이용하려는 경향이 높아지고 있다.

따라서 본 연구에서는 여러 곡류에서 분리한 아플라톡신 생성균에 대하여 가장 강력한 길항효과를 갖는 균주를 선택하고 분리균의 배양학적, 형태학적, 생리적 특성으로 부터 균의 동정과 길항물질을 분리하였다.

재료 및 방법

아플라톡신 생성균에 대한 길항균의 분리

각종 곡류로 부터 희석평판법을 이용하여 단일 균주를 분리하였다. 길항균의 분리는 채취한 시료를 tris-HCl buffer solution(pH 7.5) 100 mL에 넣고 10분간 진탕 한 후 영양한천배지(nutrient agar)에 농도별로 희석하여 도말하고 30°C에서 24~36시간 배양한 후 균주를 분리하였다.

길항 미생물의 선발은 potato dextrose agar(PDA) 평판배지 중앙에 아플라톡신 생성균을 접종하고 28°C 배양기에

†Author to whom correspondence should be addressed.

서 24시간 배양한 후 그 주변에 분리한 균주를 양쪽에 접종하여 28℃에서 7일간 배양하면서 저지대(inhibition zone)의 크기를 측정하고, 가장 큰 저지대를 형성하는 균주를 아플라톡신 생성균에 대한 길항력이 우수한 길항미생물로 선발하였다.

아플라톡신 생성균으로는 한국종균협회로부터 분양받은 *Aspergillus flavus* (KCCM 35078)과 *Aspergillus parasiticus* (KCCM 35075)를 사용하였다.

길항균의 동정

분리된 길항균의 동정은 Bergey's manual of systematic bacteriology,[19] Microbiological method,[20] The procaryotes[21] 등의 방법에 의한 미생물의 형태적 성질 및 생리 생화학적 성질과 미생물 자동동정 시스템인 Biolog system(Biolog사, Hayward, U.S.A)에 의한 결과를 병행하였다.

형태적 특성으로는 Doetch법[21]에 의해서 Gram 염색 및 형태를 관찰하였고, 미생물의 편모염색 및 운동성은 Gray법과 현적슬라이드법으로 하였다. 미생물의 포자는 malachite green으로 염색하여 내생포자형성 유무와 포자위치를 현미경을 이용하여 관찰하였다.

생리적 특성으로 gelatin 가수분해, starch hydrolysis, arginin dihydrolase, 탄소원 자화성 등을 조사하였다.

한편, 분리된 길항미생물의 자동 동정은 Biolog system (Biolog사, Hayward, U.S.A)를 이용하였다.[22-24] 분리된 길항균은 thioglycolate 액을 도말한 Biolog Universal Growth Medium(0.25% maltose 포함)으로 30℃에서 20시간 배양한 후 inoculating fluid(4 g sodium chloride+0.3 g pluronic F-68+0.1 g gellan gum/L)에 균을 풀어 탁도(turbidity) 28%로 조정한 다음 GP2 plate(Biolog사, U.S.A)에 150 μL씩 접종하였다. 이를 30℃ 배양기에서 4-6, 16-24시간 동안 배양한 후 computer controlled microplate reader를 이용하여 95개 탄소원의 이용성을 조사하고 Biolog사의 데이터베이스(Biolog Microlog3, 4.01 version)을 사용하여 균을 동정하였다.

길항물질 분리

길항물질은 길항균인 *Bacillus subtilis*를 Luria-Bertani (LB)배지에서 30℃에서 3일간 진탕 배양한 후 생산하고 배양액을 원심분리하여 그 상징액을 동결 건조하여 얻었다.

용매추출 - 동결 건조한 균체 배양물을 다음 ethyl acetate(EtOAC), acetone, ethyl alcohol(EtOH), methyl alcohol(MeOH)로 추출하여 아플라톡신 생성균에 대한 길항활성을 시험하였다.

실리카겔 흡착 크로마토그래피에 의한 분리 – 활성물질의 약 10배 량에 상당하는 silica gel(80 g, 70-230 mesh, Merck사)을 ethyl acetate로 slurry를 만들어 칼럼(1.8×48 cm)에 충진시킨 후, EtOAC-MeOH 용매계로 MeOH 농도를 50, 60, 70, 80, 90, 100% 까지 증가시키면서 step-wise 용출 방법으로 분획하여 길항 활성을 시험하였다.

Sephadex LH-20 크로마토그래피에 의한 분리 – Sephadex LH-20 (25-100 mesh, Phamacia Co.)을 MeOH-$CHCl_3$ (4:1, V/V) 용매계로 12-16시간 동안 팽윤시켜 column(4×100 cm)에 충진한 후 같은 용매계로 실리카겔 흡착 크로마토그래피로 분리한 활성부분에 대하여 용출분획하여 길항활성을 시험하였다.

길항물질의 활성 시험

아플라톡신 생성균(*Asp. flavus*, *Asp. parasiticus*)을 미리 도말하여 배양한 PDA plate(두께 4 mm)상에, inhibition zone 형성 방법의 일환으로 멸균된 cork borer(직경 9 mm)를 사용하여, 원형의 agar hole를 만든 후 길항물질 1 mg을 넣어 28℃에서 3일간 배양시킨 후 그 저지대의 크기를 비교하여 길항 활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

길항미생물 분리 및 동정

아플라톡신 생성 균에 대한 길항 미생물을 찾기 위하여 대두, 벼, 보리 등 각종 곡류에서 500여종의 단일 균주를 분리하고 길항력 시험결과 가장 저해효과가 큰 균주 antifungal bacterium #19를 선발하였다. 선발된 antifungal bacterium #19 균주는 전남 함평 지역에서 생산된 대두에서 분리하였다. antifungal bacterium #19 균주의 아플라톡신 생성균에 대한 길항력을 검토한 결과는 Fig. 1과 같다.

PDA 배지에 *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus*를 28℃에서 24시간 배양한 후 그 주변에 분리균주를 접종하여 28℃에

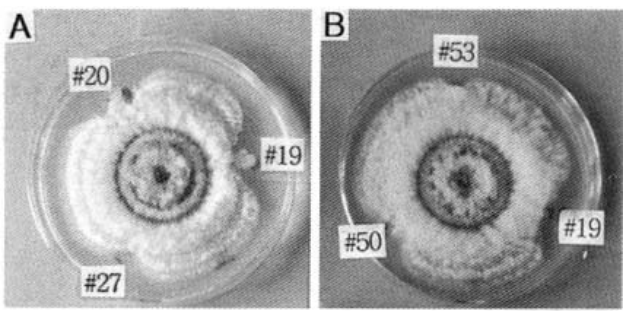

Fig. 1. Inhibitory effect of antifungal bacteria against *Asp. flavus*(A) and *Asp. parasiticus*(B) on PDA plate for 7days at 28℃.

Table 1. Characteristics of antifungal bacterium #19 (*Bacillus subtilis*)

Characteristic	Antifungal bacterium #19
Cell diameter 〉 1.0 μm	-
Spores round	-
Endospore	+
Gram stain	+
Form	rod
Sporangium swollen	-
Parasporal crystals	-
Catalase	+
Anaerobic growth	-
Voges-Proskauer test	+
pH in V-P broth	
<6	d(+/-)
>7	-
Acids from	
D-Glucose	+
L-Arabinose	+
D-Xylose	+
D-Mannitol	+
Gas from glucose	-
Hydrolysis of	
Casein	+
Gelatin	+
Starch	+

Symbols -: 90% or more are negative, +: 90% or more are positive

서 7일간 배양한 결과, 다른 분리균주 보다 #19 균주가 *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus*에 대하여 저해효과가 가장 컸다.

따라서 antifungal bacterium #19을 동정하기 위하여 미생물의 형태적, 생리화학적 성질을 검토하였으며, 그 결과는 Table 1과 같다.

antifungal bacterium #19는 약간의 운동성이 있으며, 통성혐기성의 포자를 형성하는 그람 양성 단간균으로서 젤라틴 액화능과 전분분해능이 있었다. Methyl red 반응은 음성, VP반응은 양성으로 약하게 나타났으며 H_2S 생성은 양성이었고 당분해능은 glucose, xylose, mannitol, arabinose가 양성으로 나타났다. 이러한 결과를 토대로 Bergey's manual of systematic bacteriology에 기술된 분류기준에 따라 antifungal bacteria #19를 분류한 결과는 *Bacillus subtilis* 또는 그 유연균으로 추정되었다.

좀 더 확실한 동정결과를 위하여 미생물 자동 동정기(Biolog system, Biolog사, U.S.A)를 이용한 antifungal bacterium #19의 탄소원 이용 패턴은 Table 2와 같으며 데이터 베이스(Biolog Microlog3, 4.01 version)를 사용한 동정된 결과는 Fig. 2와 같다.

95개 탄소원의 이용 패턴에 따른 antifungal bacterium #19는 *Bacillus subtilis*로 동정되었다. antifungal bacterium #19는 dextrin, arabutin, D-fructose, gentiobiose, maltose,

Table 2. The reaction of antifungal bacterium #19(*Bacillus subtilis*) to 95 carbon sources of the 96-well microplate(BIOLOG GP2 Microplate™)

Well code	Carbon sources	Reactions	Well code	Carbon sources	Reactions
			E1	D-tagatose	-
A2	α-cyclodextrin	±	2	D-trehalose	+
A3	β-cyclodextrin	±	E3	turanose	+
A4	dextrin	+	E4	xylitol	-
A5	glycogen	±	E5	xylose	-
A6	inulin	-	E6	acetic acid	-
A7	mannan	-	E7	α-hydroxybutyric acid	-
A8	tween40	-	E8	β-hydroxybutyric acid	-
A9	tween80	-	E9	γ-hydroxybutyric acid	-
A10	N-acetyl-D-glucosamine	±	E10	p-hydroxyphenyl acetic acid	-
A11	N-acetyl-D-mannosmine	-	E11	α-keto glutaric acid	-
A12	amygdalin	-	E12	α-keto valeric acid	-
B1	L-arabinose	-	F1	lactamide	-
B2	D-arabitol	-	F2	D-lactic acid methylester	-
B3	arabutin	+	F3	L-lactic acid	-
B4	cellobiose	±	F4	D-malic acid	-
B5	D-fructose	+	F5	L-malic acid	±
B6	L-fructose	-	F6	methyl pyruvate	+
B7	D-galactose	±	F7	mono-methyl succinate	±
B8	D-galacturonic acid	-	F8	propionic acid	-
B9	gentiobiose	+	F9	pyruvic acid	+

Table 2. Continued

Well code	Carbon sources	Reactions	Well code	Carbon sources	Reactions
B10	D-gluconic acid	-	F10	succinamic acid	-
B11	α-D-glucose	+	F11	succinic acid	-
B12	m-inositol	-	F12	N-acetyl L-glutamic acid	-
C1	α-D-lactose	-	G1	alaninamide	-
C2	lactulose	-	G2	alanine	-
C3	maltose	+	G3	L-alanine	±
C4	maltotriose	+	G4	L-alanyl-glycine	-
C5	D-mannitol	±	G5	L-asparagine	±
C6	D-mannose	+	G6	L-glutamic acid	-
C7	D-melezitose	-	G7	glycyl-L-glutamic acid	-
C8	D-melibiose	-	G8	L-pyroglutamic acid	-
C9	α-methyl D-galactoside	-	G9	L-serine	±
C10	β-methyl D-galactoside	-	G10	putrescine	-
C11	3-methyl glucose	+	G11	2,3-butanediol	±
C12	α-methyl D-glucoside	+	G12	glycerol	+
D1	β-methyl D-glucoside	+	H1	adenosine	±
D2	α-methyl D-mannoside	-	H2	2-deoxy adenosine	-
D3	palatinose	+	H3	inosine	±
D4	D-psicose	+	H4	thymidine	±
D5	raffinose	-	H5	uridine	±
D6	rhamnose	-	H6	adenosine-5'-monophosphate	-
D7	D-ribose	±	H7	thymidine-5'-monophosphate	-
D8	salicin	+	H8	uridine-5'-monophosphate	-
D9	sedoheptulosan	-	H9	fructose-6-phosphate	-
D10	D-sorbitol	+	H10	glucose-1-phosphate	-
D11	stachyose	-	H11	glucose-6-phosphate	-
D12	sucrose	+	H12	D-L-α-glycerol phosphate	±

+: positive reaction, - : negative reaction, ± : variable

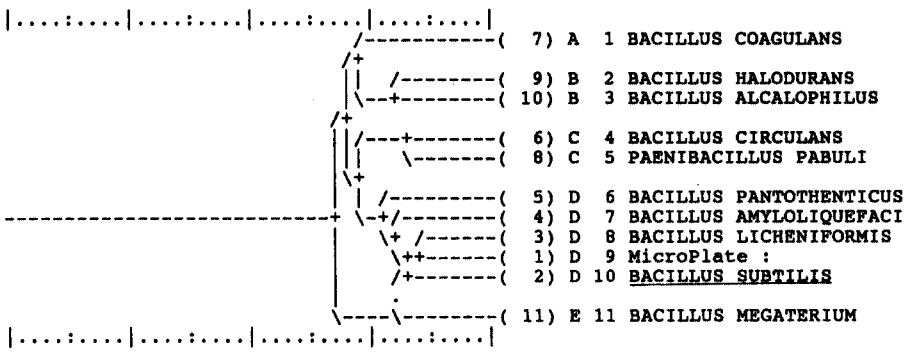

Fig. 2. Phenogram of strain of *Bacillus subtilus* identified by Biolog microlog3(V. 4.01) database with Biolog system

D-glucose, maltoeriose, mannose, 3-methyl glucose, glucoside, palatinose, psicose, salicin, sorbitol, sucrose, trehalose, turanose, pyruvate등은 양성반응을 보였으며, inulin, D-lactose, rhamnose, xylose, L-lactic acid 등은 음성 반응을 보였다.

따라서 Bergey's manual of systematic bacteriology 분류 기준 및 탄소원의 이용패턴을 이용한 동정결과로 볼 때 antifungal bacterium #19는 *Bacillus subtilis*로 동정되었다.

Gourama 등[16,25]은 사일로(silage)에서 분리한 *Lactobacillus* spp.가 아플라톡신 생성균인 *Asp. flavus* 의 생육은 물론 아플라톡신의 생성도 저지시킨다고 하였다.

Table 3. Antifungal activity of compouds extracted for *Bacillus subtilis* culture against *Asp. flavus* and *Asp. parasiticus*.

Microorganism	Inhibition(clear zone, mm)			
	MeOH extracts*	EOH extracts*	EtOAC extracts*	Acetone*
Asp. flavus	21	9	-	-
Asp. parasiticus	19	8	-	-

* 0.5 g eq. extract of *Bacillus subtilis* culture, 9 mm hole

길항물질의 분리

길항균(*Bacillus subtilis*)을 2 L LB에서 배양하고 배양액을 원심분리하여 그 상징액을 진공동결 건조하였다. 진공동결 건조한 길항균 대사산물을 MeOH(12.74 g), EtOH(7.23 g), EtOAC(1.34 g), acetone(0.75 g)로 추출 농축하여 아플라톡신 생성균의 *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus*에 대한 길항활성을 측정한 결과는 Table 3과 같다. MeOH 추출물에서 *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus* 모두에 대하여 가장 강한 길항 활성을 보였으며 EtOH 추출물은 그 절반 수준이었다. EtOAC, Acetone에는 거의 녹지 않았으며 길항활성 또한 전혀 없었다.

활성을 나타낸 MeOH 추출물(12.74 g)을 EtOAC-MeOH 용매계의 실리카겔 흡착 크로마토그래피로 분획한 후 아플라톡신 생성균에 대하여 길항활성을 측정한 결과, 길항활성 부분은 EtOAC-MeOH 40 : 60(V/V)의 용출획분(3.21 g) 이었다. 이 활성획분(3.21 g)을 앞서 행한 실리카겔 흡착 크로마토그래피보다 용출용매의 극성을 낮추어 $CHCl_3$-EtOAC 용매계로 분획한 결과, $CHCl_3$-EtOAC 80 : 20-70 : 30(V/V)의 용출획분(800.5 mg)에서 활성을 나타냈다.

실리카겔 흡착에 의해 정제된 활성획분(800.5 mg)을 MeOH-$CHCl_3$(4 : 1, V/V) 용매계로 Sephadex LH-20 크로마토그래피에 의해 분획하고 길항활성을 측정한 결과, total volumn에 대한 elution volumn의 비(Ve/Vt) 0.42-0.60(312.5 mg)에서 길항활성을 보였다.

지금까지 분리정제된 길항물질 312.5 mg 중 1 mg에 대한 *Asp. flavus* 생육저해(길항력) 효과를 agar well method

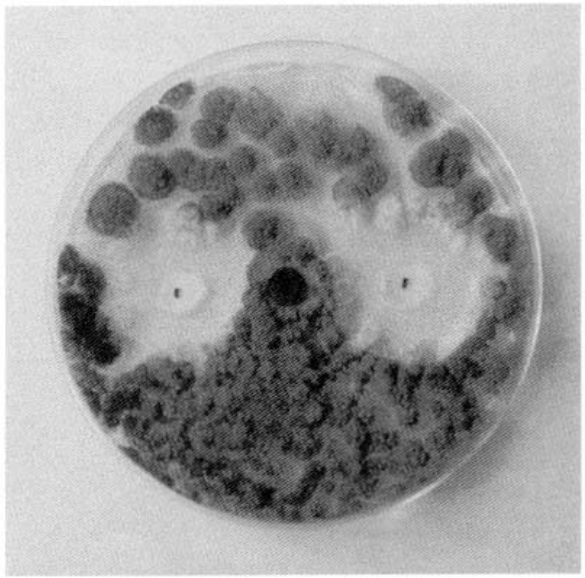

Fig. 3. Antifungal activation of isolated compound from *Bacillus subtilis* culture broth.

로 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. PDA 배지상에서 28℃로 20일간 배양한 결과, *Asp. flavus*는 길항물질 1 mg으로 20일 동안 배양하여도 생육이 저지되었으며, *Asp. parasiticus* 도 같은 결과를 나타내었다(data not shown). 즉, 아플라톡신 생성균의 생육은 *Bacillus subtilis*가 생산하는 길항물질에 의해 강하게 저지되었으며, 이는 아플라톡신 오염 방지를 위한 효과적인 생물학적 방법으로 기대되었다.

따라서 분리된 *Bacillus subtilis*는 아플라톡신 생성균의 생육을 저해하는 길항물질을 생산하였으며 길항물질에 대한 구조적 특성은 계속 연구 중에 있다.

감사의 말씀

이 논문은 1998년 한국학술진흥재단의 학술연구비(1998-024-G00098)에 의하여 수행된 연구 결과의 일부이며, 지원에 감사 드립니다.

국문요약

아플라톡신 생성균의 생육을 억제할 수 있는 미생물을 분리동정하고 진공동결 건조한 대사산물로부터 길항물질을 분리하였다. 대두로부터 아플라톡신 생육을 저해하는 길항균을 분리하였으며, 그 균은 *Bacillus subtilis*로 동정되었다. *Bacillus subtilis*는 아플라톡신 생성균에 대한 길항물질을 생산하였으며 MeOH추출, 실리카겔 흡착 크로마토그래피법, Sephadex LH-20 크로마토그래피법으로 길항물질을 분리하였다. 아플라톡신 생성균인 *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus*의 생육은 길항미생물인 *Bacillus subtilis*가 생산하는 길항물질에 의해 강하게 저해되었으며 이는 아플라

독신 오염방지를 위하여 효과적인 생물학적 방법일 것이라 기대된다.

참고문헌

1. Campell. T.C., and L. Stoloff.: Implication of mycotoxins for human health. *J. Agric. Food Chem.*, **22**, 1006-1015 (1974)
2. Chu. F.S.: Mode of action of mycotoxins and related compounds. *Adv. Appl. Microbiol.*, **40**, 352-357 (1977)
3. Wogan. G.N., S. Paglialunga. and P.N. Newberne.: Carcinogenic effects of low dietary levels of aflatoxin B1 in rats. *Food Cosmet. Toxicol.*, **12**, 681-685 (1974)
4. Epstein. E., M.P. Steinberg, A.I. Nelson, and L.S. Wei.: Aflatoxin production as affected by environmental conditions. *J. Food Sci.*, **35**, 389-391 (1970)
5. Holmquist. G.U., H.W. Walker, and H.M. Stahr.: Influence of temperature, pH, water activity and antifungal agents on growth of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. *J. Food Sci.*, **48**, 778-782 (1983)
6. Northolt. M.D., and L.B. Bullerman.: Prevention of mold growth and toxin production through control of environmental condition. *J. Food Prot.*, **45**, 519-526 (1982)
7. Scott, de B.: Toxigenic fungi isolated from cereal and legume products.
8. Bullerman. L.B.: Mycotoxins and food safety. *Food Technol.*, **40**, 59-66 (1986)
9. Marth, E.H.: Aflatoxin and other mycotoxins in agricultural products. *J. Milk Food Technol.*, **30**, 192-198 (1967)
10. Stoloff, L.: Aflatoxin M1 in perspective. *J. Food Prot.*, **43**, 226-230 (1980)
11. Appleton. J.A., and M.R. Tansey.: Inhibition of growth of zoophthogenic fungi by garlic extract. *Mycologia.*, **67**, 882-885 (1975)
12. Bullerman. L.B., F.Y. Lieu and S.A. Seier.: Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. *J. Food Sci.*, **42**, 1107-1109 (1977)
13. Sharma, A., G.M. Tewari. A.J. Shrikhande, S.R. Padwal-Desai. and C. Bandyopadhyay: Inhibition of aflatoxin-producing fungi by onion extracts. *J. Food Sci.*, **44**, 1545-1547 (1979)
14. Yoshida, S., S. Kasuga. N. Hayashi. T. Ushiroguchi. H. Matsuura. and S. Nakagawa: Antifungal activity of ajoene derived from garlic. *Appl. Entiron. Microbiol.*, **53**, 615-617 (1987)
15. Hurst, A.: Biosynthesis of the antibiotic nisin by whole *Streptococcus lactis* organisms. *J. Gen. Microbial.*, **44**, 209-220 (1966)
16. Karunataten, A., Wenzenberg, E. and Bullerman, L.B.: Inhibition of mold growth and aflatoxin production by *Lactobacillus* spp. *J. Food Prot.*, **53**, 230-236 (1990)
17. Wiseman, D.W. and Marth, E.H.: Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* when in the presence of *Streptococcus lactis*. *Mycopathologia*, **73**, 49-56 (1981)
18. Kim, J.G. and Roh, W.S.: Changes of aflatoxins during the ripening of korean soy paste and soy sauce and the characteristics of the changes - part 1. effect of *Bacillus subtilis* on the growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*. *J. Fd. Hyg. Safety*, **13**, 313-317 (1998)
19. Park, J.S., Lee, M.Y., Kim, J.S., and Lee, T.S.: Composition of nitrogen compound and amino acid in soy bean paste (Doenjang) prepared with different microbial sources. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 609-615 (1994)
20. Lee, S.H. and Choi, H.S.: Change in lipid during aging of soybean paste. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **14**, 67-72 (1985)
21. Park, J.S., Lee, M.Y. and Lee, T.S.: Compositions of sugars and fatty acid in soybean paste(Doenjang) prepared with different microbial sources. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24**, 917-924 (1995)
22. Bochner, B.R.: Sleuthing out bacterial identies. *Nature*, **339**, 157-158, (1989)
23. Garland, J.L. and A.L. Mills.: Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level-sole-carbon source utilization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 2351-2359 (1991)
24. Groves, S.K. Mishra, and D.L. Pierson: Evaluation of the Biolog automated microbial identification system. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 2089-2092 (1992)
25. Gourama, H. and Bullerman, L.B.: Inhibition of growth and aflatoxin production of *aspergillus flavus* by *Lactobacillus* species. *J. Food Prot.*, **58**, 1249-1256 (1995)