

Aspergillus flavus, *Aspergillus niger* 및 *Penicillium griseofulvum*의 혼합배양이 aflatoxin 및 patulin 생성에 미치는 영향

강성조[†] · 강진순* · 정덕화

경상대학교 식품공학과, *진주전문대학 가정과

The Effects of Mixed Culture with *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Penicillium griseofulvum* on Aflatoxin and Patulin Production

Sung-Jo Kang[†], Jin-Soon Kang* and Duk-Hwa Chung

[†]Development of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-701, Korea

*Department of Home Economic, Chinju Technical College, Gyeongnam 660-759, Korea

ABSTRACT – This experiment was conducted to investigate the effects of mixed culture with mycotoxigenic and non-mycotoxigenic fungi on mycotoxin production. For this work, *Aspergillus flavus* (aflatoxin producing strain), *Aspergillus niger* (non-mycotoxigenic strain) and *Penicillium griseofulvum* (patulin producing strain) were cultured in 5 ml SLS medium for 15 days under single or mixed culture. Aflatoxin was determined by direct competitive ELISA, whereas, patulin was measured by HPLC. The mycelial growth, pH and total acidity were also observed by general methods. The mycelial growth was slightly decreased in the mixed culture, meanwhile total acidity was increased and pH was shown lower than that in single culture. *Aspergillus flavus* produced 145 µg/ml of aflatoxin for 12 days single culture, but in mixed culture, aflatoxin was decreased to 93%, and was shown as 10.16 µg/ml level. Patulin production in mixed culture was also decreased to 69.3% and was shown only 23.72 µg/ml level as compared with in single culture.

Key words □ Mixed culture, aflatoxin, patulin

*Aspergillus*속 곰팡이가 생성하는 곰팡이독소(mycotoxin)은 독성이 강할 뿐만 아니라 aflatoxin, ochratoxin 및 sterigmatocystin 등 종류가 다양하여 발표된 연구 논문도 많다.^{1,2)} 특히 aflatoxin은 종에 따라 감수성에 차이가 있지만 사람, 쥐, 무지개 송어, 기니아피그, 원숭이 등에서 원발성 간암을 유발하는 발암 인자로 알려져 있으며,^{3,4)} 인체에 미치는 aflatoxin의 영향은 발암성, 돌연변이성 및 기형발생성 등이 있다.^{5,6)} 그리고 aflatoxin은 드물게 급성중독을 일으키는 것으로 보고되는데, 인도 서부 지역에서 수주 동안 하루에 2-6 mg의 aflatoxin을 섭취한 사람에게서 급성 간질환을 관찰할 수 있었다는 보고가 있다.⁷⁾ Aflatoxin의 생성 균주로서는 *A. flavus*와 *A. parasiticus*가 알려져 왔으며 최근에는 *A. nomius*와 *A. tamarii*도 함께 제시되고 있다.⁸⁻¹⁰⁾

이러한 aflatoxin은 식품과 곡류 등에서 광범위하게 발견되고 있다. Mori 등¹¹⁾은 시판되고 있는 분말상 식품의 유해 미생물 오염 정도를 조사한 바, 오염된 23주의 *Aspergillus*속

균주 중 10주가 *Aspergillus flavus*였음을 밝혔고, Ichinoe 등¹²⁾도 맥류로부터 유래된 사상균의 곰팡이독소 생성능을 조사한 결과, 분리된 *Aspergillus flavus* 58주중 15.5%에 해당되는 9주에서 aflatoxin이 검출되었다고 발표함으로써 맥류의 저장, 유통, 관리상에 문제점이 있음을 지적하였다.

한편 *Penicillium*속 곰팡이가 생성하는 patulin은 1942년 Chain 등¹³⁾에 의해서 *P. claviform*으로부터 최초로 분리되었으며, clavacin, expansine, mycoicin C₃, penicidin, leucopin, tercicin이라고도 명명되며, 항균력 있는 것으로 알려져 있다. Patulin을 생성하는 균주로는 *P. patulum*, *P. expansum*, *P. griseofulvum* 및 *P. urticae*등이 현재 알려져 있다.¹⁴⁻¹⁷⁾ Patulin은 식품이나 사료에 있어 독성물질로 문제시되고 있으며, 실제 일본에서 발생한 젓소의 집단중독사건의 원인은 사료원료인 건조 맥아에서 분리된 *P. urticae*에 의한 것이었다고 보고하였다.¹⁸⁾ 또한 patulin은 효모에 돌연변이를 유발시키고, 사람에게 있어서는 경구투여 시 메스꺼움과 위경련을 일으키며, 1%의 patulin이 함유된 연고를 피부에 발랐을

[†] Author to whom correspondence should be addressed.

때 부종이 발생한다.¹⁹⁾

곰팡이독소 생성능을 갖는 곰팡이들은 식품과 환경중에서 대개 다른 미생물들과 공존하고 있으며 함께 생육하는 미생물간의 상호작용은 영양물질의 이용 정도에 의해서 변화되고, 또 곰팡이의 성장과 곰팡이독소 생성 및 축적을 촉진 또는 저해할 수 있는 산물을 생성하게 된다. 이러한 미생물 중 일부 세균들은 곰팡이의 성장과 포자 형성에 영향을 미치는 휘발성 대사산물을 생성하는 것으로 알려져 있다.^{20,21)}

이와 같이 식품과 환경 중에서 곰팡이의 성장과 곰팡이독소 생성이 종종 경쟁적 상태에서 일어나게 되나 이러한 경쟁적 생장이 곰팡이독소 생성에 미치는 영향을 다룬 연구는 적은 편이다.

본 연구에서는 aflatoxin 생성균주인 *A. flavus* 15517, patulin 생성균주인 *P. griseofulvum* 및 곰팡이독소를 생성하지 않는 *A. niger*을 혼합배양하여 aflatoxin 및 patulin 생성능을 조사하여 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

균주

본 실험에 사용한 곰팡이독소 생성 균주는 분양 받아 보관 중인 aflatoxin 생성균주인 *A. flavus* 15517과 patulin 생성균주인 *P. griseofulvum*이었고, 곰팡이독소를 생성하지 않는 균주로는 본 실험실에서 분리하여 보관중인 *A. niger*를 사용하였다.

포자현탁액 조제

공시균주를 PDA plate상에서 활성화시킨 다음 0.1% Tween 80 용액 1ml와 멸균수 5ml를 가해 포자를 씻어 내는 조작을 3회 반복하여 얻은 포자현탁액을 완전히 멸균된 4겹의 cheese cloth에 여과하고 적당한 양의 멸균수로 희석하면서 현미경으로 $10^6 \sim 10^7$ conidia/ml로 조절하여 500 μ l micro tube에 분주한 후 -70°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

배양방법

시험관 (12 × 150 mm)에 SLS배지[Sucrose, 8.5%(w/v); L-asparagine, 1%(w/v); (NH₄)₂SO₄, 0.2%(w/v); KH₂PO₄, 0.2%(w/v); MgSO₄ · 6H₂O, 0.1%(w/v); CaCl₂ · 2H₂O, 0.0075%(w/v); Na₂B₄O₇, 0.0002%(w/v); FeSO₄ · 6H₂O, 0.0002%(w/v); MnCl₂ · 4H₂O, 0.0005%(w/v); Ammonium molybdate, 0.0002%(w/v); pH 5.6] 5ml씩을 첨가하고 고압증기멸균한 다음 포자현탁액을 단독 또는 혼합접종하여 28°C에서 0, 3, 6, 9, 12, 15일간 정치배양하였다.

균의 생육도 측정

균의 생육도는 배양한 배양물을 멸균한 후 균체(mycelium)를 취하여 증류수로 세척하고 Whatman No. 4 filter paper로 여과한 다음 60°C의 dry oven에서 24시간 건조시켜 방냉한 후 항량이 된 무게에서 filter paper의 무게를 제외한 무게를 측정하여 생육도를 조사하였다.

배양액의 pH 및 산 생성량 측정

pH는 pH meter(Orion model 520A, U. S. A.)로써 측정하였으며, 산생성량은 배양액 1ml를 취하여 3차 증류수 20ml를 가한 다음 지시약 2~3방울을 떨어뜨리고, 0.1 N NaOH로써 적정한 후 citric acid 양으로 표시하였다.

Aflatoxin B₁ 분석

배양물의 aflatoxin B₁ 분석은 본 실험실에서 확립한 direct competitive enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)법을 사용하였다. ELISA용 plate준비는 본 실험실에서 생산하여 보관하고 있는 항체를 phosphate buffer solution(PBS 0.05 M, pH 7.2)으로 500배 희석하여 microtiter plate에 125 μ l씩 주입하고 40°C의 항온기에서 하룻밤 방치하여 coating하고 실험 전 0.05 M PBS에 0.05%의 Tween 20을 첨가한 혼합액인 세척용 완충액(washing buffer)으로 세척하였다. 시료용액 조제는 시료에 methanol:water(70:30, v/v) 혼합액을 5배 첨가하여 5분 동안 혼합한 다음 Whatman No.4 여과지로 여과하여 여액을 ELISA에 의한 분석용 시료로 하였다. 이 시료용액과 aflatoxin B₁-oxime-horse radish peroxidase(HRP) 희석액(300배)을 동일량 혼합하여 100 μ l씩 well에 주입한 후 37°C에서 30분 동안 배양하였다. 배양 후 세척용 완충액으로 다시 씻은 plate는 일정량의 기질용액[ABTS; 2, 2'-azino-bis(3-ethyl benzthiazoline-6-sulfonic acid)]을 첨가하여 결합된 aflatoxin B₁-oxime-HRP를 발색시키고 10분 후 반응정지액 100 μ l씩을 가하여 반응을 정지시킨 다음 ELISA reader(Dynatech Lab. MR 600, U.S.A.)로 흡광도를 측정하여 표준곡선과 비교하여 그 함량을 계산하였다. 이때 작성된 표준곡선은 Fig. 1과 같았다.

Patulin 분석

배양물의 patulin 분석은 AOAC(Association of Official Analytical Chemists)법²²⁾을 참고로 하여 배양물에 ethyl acetate를 5ml 첨가하여 추출한 후 speed vacuum concentrator로 농축하여 농축된 시료를 ethanol에 용해시켜 Peter 등²³⁾의 방법을 참고하여 TLC를 행하였다. TLC plate를 100~110°C 건조기에서 2시간 동안 활성화시킨 후 농축액을 spotting하여 전개용매(toluene:ethyl acetate:formic acid=5:4:1, v/v)가 포함된 전개조에서 전개시킨 다음 표준 patulin과

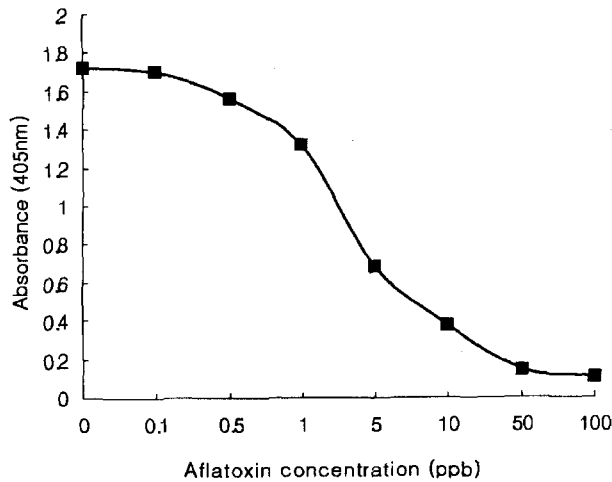


Fig. 1. ELISA standard curve for aflatoxin B₁.

같은 Rf치의 band만을 잘라 ethanol에 용해시킨 후 직경 2 μ m membrane filter(millipore filter)로 여과하여 여액을 HPLC용 시료로 하여 분석하였으며 HPLC 분석조건은 Table 1과 같다.

결과 및 고찰

생육도에 미치는 영향

Aflatoxin 생성균주인 *A. flavus* 15517과 patulin 생성균주인 *P. griseofulvum* 및 곰팡이독소를 생성하지 않는 *A. niger*를 혼합배양하여 aflatoxin 및 patulin 생성능에 어떻게 영향을 미치는지를 조사하기 위하여 균주를 단독 또는 혼합배양하면서 균의 생육도를 조사한 결과, Fig. 2에서와 같이 균 생육의 경우 일반적으로 생육이 늦은 *P. griseofulvum*을 제외하고 대체로 비슷한 균의 생육 정도를 보였지만 *A. niger*와 *P. griseofulvum* 혼합배양의 경우 균의 생육이 다른 구간보다 오히려 크게 나타나 12일째에 211 mg/tube의 균체량을 보여, 혼합배양이 균생육에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

배양액의 pH 및 산생성에 미치는 영향

또한 배양액의 pH 변화 및 산생성량을 조사한 결과 Fig.

Table 1. HPLC analytical conditions for the patulin detection

HPLC Type	Waters Model 590
Detector	UV 276 nm
Column	μ Bondapak C ₁₈ (3.9 mm \times 300 mm steel column)
Flow rate	1.3 ml/min.
Mobile phase	Distilled water

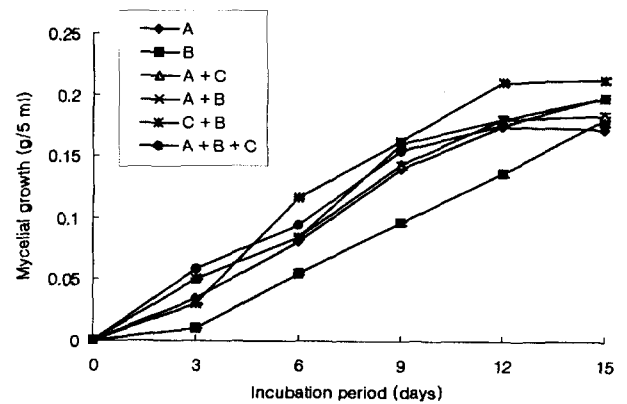


Fig. 2. Changes of the mycelial growth in each culture during incubation at 28°C for 15 days. A; *Aspergillus flavus*, B; *Penicillium griseofulvum*, C; *Aspergillus niger*.

3과 Fig. 4에 나타난 바와 같이 pH는 *A. niger*와 같이 혼합배양한 균에서 pH가 대체로 낮고, 산생성량은 높게 나타나는 경향을 보였다. 그렇지만 *A. flavus*, *A. niger* 및 *P. griseofulvum*을 혼합배양한 시험군에서는 pH변화가 크지 않았으며 산생성량도 많지 않았다.

Aflatoxin B₁ 생성에 미치는 영향

배양액의 aflatoxin B₁은 앞에서 설명한 방법과 같이 본 실험실에서 확립한 direct competitive ELISA법을 사용하여 조사하였다. 이때 항체는 aflatoxin G group과는 교차반응이 낮았지만 aflatoxin B group과는 100~118%의 높은 교차반응을 나타내는 특이성을 가지고 있으며(Table 2), 표준 aflatoxin B₁의 농도에 따라 예민하게 반응하였다.

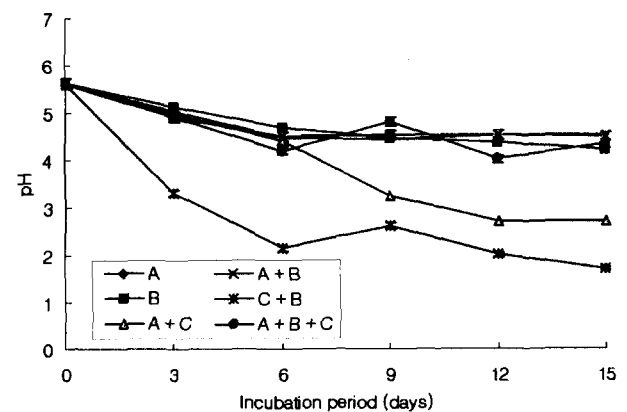


Fig. 3. Changes of pH in each culture media during incubation at 28°C for 15 days. A; *Aspergillus flavus*, B; *Penicillium griseofulvum*, C; *Aspergillus niger*.

Table 2. Cross-reactivity of aflatoxin B₁ analogues by direct competitive ELISA

Analogues	Cross-reactivity (%)
Aflatoxin B ₁	100
Aflatoxin B ₂	118
Aflatoxin G ₁	28
Aflatoxin G ₂	36
Aflatoxin M ₁	1

Table 3. Changes of aflatoxin B₁ productivity in each culture media during incubation at 28°C for 15 days

Strains	Incubation period (days; µg/ml medium) (Inhibition % ^a)					
	0	3	6	9	12	15
<i>A. flavus</i>	-	68.24 (0)	180.35 (0)	192.14 (0)	145.08 (0)	137.13 (0)
<i>P. gris</i>	-	-	-	-	-	-
<i>A. fla+A. nig</i>	-	18.84 (72.4)	38.71 (78.5)	38.23 (80.1)	10.21 (93.0)	8.06 (94.1)
<i>A. fla+P. gris</i>	-	12.21 (82.3)	20.02 (88.9)	28.33 (85.2)	22.89 (84.2)	18.24 (86.7)
<i>A. nig+P. gris</i>	-	-	-	-	-	-
<i>A. fla+P. gris</i> <i>+A. nig</i>	-	10.33 (84.9)	12.56 (93.0)	13.44 (93.0)	10.16 (93.0)	9.77 (92.9)

^a; 100 - (The concentration of aflatoxin B₁ in mixed culture / The concentration of aflatoxin B₁ in *A. flavus* single culture × 100)

공시균을 혼합배양하여 ELISA법으로 *A. flavus*의 aflatoxin B₁ 생성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 3과 같이 *A. flavus* 단독으로 배양시 시간이 경과할수록 많은 aflatoxin B₁의 생성을 확인할 수 있었으며 배양 15일째에는 137.13 µg/ml의 aflatoxin B₁ 생성이 확인되었으나 *A. niger*와의 혼합배양으로 그 함량이 크게 줄어들었으며 *P. griseofulvum*의 혼합배양에서도 aflatoxin B₁ 생성이 줄어드는 결과를 볼 수 있었다. 또한 *A. flavus*, *A. niger* 및 *P. griseofulvum*을 혼합 배양 시 12일째에는 93%가 감소하여 10.16 µg/ml의 aflatoxin B₁ 생성을 보였다.

Patulin 생성에 미치는 영향

Patulin의 경우도 혼합배양으로 크게 감소하여 Table 4에서 보는바와 같이 *P. griseofulvum* 단독배양의 경우 12일째 77.82 µg/ml를 나타내었으며 *A. flavus* 또는 *A. niger*와의 혼합배양시 patulin 생성의 감소를 보였으며 특히, *A. flavus*, *A. niger* 및 *P. griseofulvum* 3균주의 혼합배양으로 patulin

Table 4. Changes of patulin productivity in each culture media during incubation at 28°C for 15 days

Strains	Incubation period (days; µg/ml medium) (Inhibition % ^a)					
	0	3	6	9	12	15
<i>A. flavus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P. gris</i>	-	2.83 (0)	13.16 (0)	40.43 (0)	77.82 (0)	83.73 (0)
<i>A. fla+A. nig</i>	-	-	-	-	-	-
<i>A. fla+P. gris</i>	-	1.76 (37.8)	8.52 (35.3)	28.87 (28.6)	43.35 (44.3)	51.38 (38.6)
<i>A. nig+P. gris</i>	-	1.13 (60.1)	7.36 (44.1)	19.82 (51.0)	34.25 (56.0)	52.16 (37.7)
<i>A. fla+P. gris</i> <i>+A. nig</i>	-	0.98 (65.4)	8.31 (36.9)	18.57 (54.1)	23.72 (69.5)	26.24 (68.7)

^a; 100 - (The concentration of patulin in mixed culture/The concentration of patulin in *P. griseofulvum* single culture × 100)

생성이 69.5% 감소되어 23.72 µg/ml의 생성을 보였다.

곰팡이독소를 생성하는 곰팡이는 환경 중에서 대개 이들의 성장과 곰팡이독소 생성에 영향을 미칠 수 있는 다른 미생물과 공존하며 상호작용을 갖는다. 이러한 상호작용은 영양분의 가용성을 변화시키기도 하며, 또 곰팡이의 성장과 곰팡이독소 생성에 미칠 수 있는 부산물의 생산을 변화시키게 된다. 일부 연구자들은 세균이나 곰팡이 등의 미생물이 aflatoxin 생성 곰팡이의 성장과 aflatoxin을 비롯한 곰팡이독소의 생성을 억제시켰다고 보고하였다.²⁴⁻²⁶ 본 연구에서도 경쟁미생물에 의하여 곰팡이독소 생성이 억제될 수 있다는 바를 다시 한번 확인하게 하였다.

신 등²⁷⁾은 *L. casei*와 *L. bulgaricus*가 곰팡이(*P. citrinum*)의 성장을 억제시켰다고 보고하였고, Batish 등²⁸⁾은 *Lactococcus lactis* subsp *diacetylactis*와 *Streptococcus thermophilus*가 곰팡이(*A. parasiticus* 및 *A. fumigatus*)에 억제 효과를 가짐을 보고하였다. 본 연구의 결과에서도 서로 다른 곰팡이의 혼합배양으로 단독배양에서와는 달리 혼합배양 시 균 상호간의 경쟁작용과 다양한 대사산물의 생성으로 특정 곰팡이의 대사에 방해가 받으며 특히 곰팡이독소의 경우 생성이 현저히 감소하는 것으로 나타났다. 또한 본 연구에서도 배양 중 산의 생성뿐만 아니라 다양한 성분이 있는 바, 곰팡이독소 생성을 억제할 수 있는 다른 요인들의 작용 가능성도 배제할 수 없다. 따라서 앞으로 이를 위한 연구가 더 필요할 것으로 본다.

국문요약

곰팡이독소 생성균과 비생성균의 혼합배양이 곰팡이독소 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 *Aspergillus flavus*(aflatoxin 생성균), *Aspergillus niger*(비생성균) 그리고 *Penicillium griseofulvum*(patulin 생성균)을 5 ml의 SLS 배지에서 15일동안 단독 혹은 혼합배양하였다. Aflatoxin의 생성능의 측정은 직접경쟁 ELISA법으로, patulin은 HPLC 법으로 생성능을 측정하였으며, 균의 생육도, pH 그리고 산생성량을 상법에 따라 측정하였다. 그 결과 혼합배양은 전체적으로 균의 생육도를 크게 저하시키지 않은 반면, 산의 생성증가로 pH의 감소를 보였다. Aflatoxin은 12일간의 단독배양시 145 µg/ml이 생성되었으나 혼합배양으로 93%이상이 감소되어 10.26 µg/ml을 생성하였다. Patulin의 경우 도 혼합배양으로 단독배양시의 77.82 µg/ml에 비하여 69.5%가 감소된 23.72 µg/ml 수준을 나타내었다.

참고문헌

- Bullerman, L. B.: Significance of mycotoxins to food safety and human health, *J. Food Prot.*, **42**, 65-86 (1979).
- Davis, N. D.: Sterigmatocystin and other mycotoxins produced by *Aspergillus parasiticus*. *J. Food Prot.*, **44**, 711-714 (1981).
- Barnes, J. M.: Aflatoxin as a health hazard. *J. Appl. Bacteriol.* **33**, 285-298 (1970).
- Patterson, D. S. P.: Metabolism as a factor in determining toxic action of aflatoxins in different animal species. *Food Cosmet. Toxicol.* **11**, 287-294 (1973).
- Busdy, W. F., and Wogan, G. N.: Aflatoxins, In C. E. Searle (ed.), Chemical carcinogen, 2nd ed., vol. 2. American Chemical Society, Washington, D. C. pp. 945-1136 (1991).
- Bennett, J. W., and Christensen, S. B.: New perspectives on aflatoxin biosynthesis. *Adv. Microbiol.* **29**, 53-92 (1983).
- Krishnamachari, K. A. V. R., Bhat, R. V., Nagajaran, V. and Tilak, T. B. G.: Hepatitis due to aflatoxicosis. *Lancett.* 1061-1063 (1975).
- Wilson, D. M. and King, J. K.: Production of aflatoxins B₁, B₂, G₁, and G₂ in pure and mixed cultures of *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*, *Food Addit. Contam.*, **12**, 521-525 (1995).
- Kurtzman, C. D., Horn, B. W. and Hesseltine, C. W.: *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamari*, *J. of Microbiol.* **53**, 147-158 (1987).
- Goto, T., Wicklow, D. T. and Ito, Y.: Aflatoxin and cyclopi-azonic acid production by a sclerotium-producing *Aspergillus tamarii* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 4036-4038 (1996).
- 森實, 高橋孝則, 尾上洋一, 高橋武夫, 栗飯原景昭.: 穀類ならびにその加工食品の糸状菌汚染と分離糸状菌のアフラトキシン生産能について, *日本食品衛生學會誌*, **15**(2), 94-99 (1974).
- 一戸正勝, 高鳥浩介, 田中しず子, 銘木敏正, 倉田浩.: ムギ類由来糸状菌のアフラトキシン産生成, *日本食品衛生學會誌*, **16**(6), 381-388 (1975).
- Chain, E., Florey, H. W. and Jennings, M. A.: An antibacterial substance produced by *Penicillium claviform*. *Br. J. Exp. Pathol.* **29**, 202-205 (1942).
- Priest, J. W. and Light, R. J.: Applications of high-performance liquid chromatography to quantitation of metabolites and enzymes of the patulin pathway from *Penicillium patulum*. *J. Chromatogr.* **513**, 237-246 (1990).
- Podgorska E.: Effect of *Penicillium expansum* culture conditions on patulin production. *Acta Microbiol. Pol.* **41**(1-2), 89-95 (1992).
- Torres, M., Canela, R., Riba, M. and Sanchis, V.: Production of patulin and griseofulvum by a strain of *Penicillium griseofulvum* in three different media. *Mycopathologia.* **99**, 85-89 (1987).
- Neway, J. and Gaucher, G. M.: Intrinsic limitations on the continued production of the antibiotic patulin by *Penicillium urticae*. *Can J Microbiol.* **27**(2), 206-215 (1981).
- Ukai, T., Yamamoto, Y. and Yamamoto, T.: Studies on the poisonous substance from a strain of *Penicillium* II. Culture method of Hori Yamamoto strain and chemical structure of its poisonous substance. *J. Pharm. Soc. Japan.* **74**, 450-454 (1954).
- Sweeney, M. J. and Dobson, A. D.: Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Int J Food Microbiol.* **43**(3), 141-158 (1998).
- Wisemam, 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).
- Bullerman, L.B.: Examination of Swiss cheese for incidence of mycotoxin producing molds. *J. Food Sci.*, **41**, 26-28 (1976).
- Association of Official Analytical Chemists : Official methods of analysis, 15th ed., AOAC, pp. 1185-1205 (1990).
- Peter, M. S.: Collaborate study of a chromatographic method for determination of patulin in apple juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **57** (3), 621-625 (1974).
- Luchese, R.H. and Harrigan, W.F.: Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* when in the presence of either *Lactococcus lactis* or lactic acid and at different initial pH values. *J Appl Bacteriol.* **69**(4), 512-519 (1990).

25. Karunaratn, A., Wezenberg, E. and Bullerman, L. B.: Inhibition of mold growth and aflatoxin production by *Lactobacillus* spp., *J. Food Prot.*, 53, 230-236 (1990).
26. 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).
27. 신동균, 이용욱, 김종규, 정덕화: *Penicillium citrinum*의 생장과 citrinin 생성에 미치는 젖산균의 영향에 관한 연구, 한국식품위생학회지. 4(3,4), 119-126 (1991).
28. Batish, V. K., Grover, S. and Ram, L.: Screening lactic acid starter cultures for antifungal activity, *Cult. Dairy Products J.*, May, 21-25 (1989).