Kor. J. Food Hygiene 6 (3, 4), 119-126(1991)

*Penicillium citrinum*의 생육과 citrinin 생성에 미치는 젖산균의 영향에 관한 연구

신동균 · 이용욱 · 김종규 · 정덕화*

서울대학교 보건대학원 식품위생학교실

*경상대학교 식품공학과

A Study on the Effect of *Lactobacillus* spp. on the Growth and Citrinin Production by *Penicillium citrinum*

Dong-Kyun Shin, Yong-Wook Lee, Jong-Gyu Kim and Duck-Hwa Chung*

Graduate School of Public Health, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

**Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea*

ABSTRACT—**This study was performed to investigate the possible effect of *Lactobacillus* spp. on the growth and citrinin production by *Penicillium citrinum*. *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus casei* were grown with *Pen. citrinum* in modified APT broth containing 7% of glucose and incubated at 30°C for 15 days. Four inoculation procedures were used; (a) *Lactobacillus* spp. and *Pen. citrinum* were grown alone(Pc, Lb, and Lc), (b) both organisms were added simultaneously(ST; Pc+Lb and Pc+Lc), (c) *Lactobacillus* spp. was grown 3 days, then conidia of *Pen. citrinum* were added(LbPc and LcPc), and (d) *Pen. citrinum* was grown 3 days, then *Lactbacillus* spp. was added (PcLb and PcLc). At 0, 3, 6, 9, 12, 15 days of incubation, the growth of each organism, pH and total acidity of broth, and content of citrinin were determined. *Lactobacillus* spp. and *Pen. citrinum*, when grown associatively, influenced the growth of each other. It was observed that slower growth of *Pen. citrinum* when in the presence of *Lactobacillus* spp. than when the mold grew alone. Production of citrinin by *Pen. citrinum* was markedly less in the mixed culture. No apparent growth and toxin production was observed when the *Lactobacillus* spp. was grown 3 days, then conidia of *Pen. citrinum* were added(LbPc and LcPc). The above results indicate that another microorganism or competing microflora in the culture can affect the behavior of *Pen. citrinum*.**

Keywords□***Lactobacillus* spp.** ***Penicillium citrinum*, modified APT broth, growth and citrinin production**

Citrinin은 곰팡이가 生成하는 有毒性 代謝産物로 1931년 *Penicillium citrinum*의 배양물에서 최초로 분리되었다.[1,2] 이는 1941년 강력한 抗生物質로서 알려졌으나[1,2] 그후 歷史的인 3가지 黃變米 事件의 原因物質中의 하나로 1951년 角田에 의하여 태국産 쌀에서 분리되었고,[3,4] *Pen. citrinum*뿐만 아니라 *Pen. fellutanum*, *Pen. lividum*, *Pen. implicatum* 等 其他 *Penicillium* spp.에 의해서도 生成되는 것이 밝혀졌다.[1]

Citrinin의 分子 構造는 (3R-trans)-4, 6-dihydro-8-hydroxy-3, 4, 5-trimethyl-6-oxo-3H-2-benzopyran-7-carboxylic acid로서 腎臟에 致命的인 毒性을 유발하고 急性 또는 慢性의 腎臟 증세를 일으키는 것으로 되어 있으며, 動物實驗 結果 토끼에 대해서 半致死量(LD_{50})이 19 mg/kg(정맥주사), 생쥐에 대

Received for publication 16 October 1991
Reprint request: Dr. Y.W. Lee at the above address

해서 35 mg/kg(피하 또는 복강주사), 흰쥐에 대해서 67 mg/kg(피하 또는 복강주사)으로 알려져 있다.[1,4,5]

근래에 citrinin은 全世界的으로 밀, 귀리, 호밀, 보리, 쌀, 옥수수 等을 비롯한 農産物에서 검출되고 있는[2,6,7] 주요한 mycotoxin으로서 그 인식이 증가되고 있으며 한편으로는 食品에 오염된 곰팡이의 citrinin 生成에 대한 硏究들[8-13]과 그 分析方法들[2,14-18]이 보고되어 있다.

한편 citrinin 等의 mycotoxin을 生成하는 곰팡이의 生長과 mycotoxin 生成 程度는 物理的, 化學的 또는 生物學的 要因들에 의해 影響을 받게 되며, 특히 중요한 要因들로는 菌株의 種類, 溫度, 水分, pH, 營養成分, 그리고 다른 微生物과의 競爭 等이 포함된다.[19-21] Mycotoxin 生成能을 갖는 곰팡이들은 食品과 環境中에서 대개 다른 微生物들과 공존하고 있으며 함께 생육하는 微生物間의 相互作用은 營養物質의 利用 程度에 의해서 변화되고, 또 곰팡이의 生長과 mycotoxin 生成 및 蓄積을 촉진 또는 저해할 수 있는 産物을 生成하게 된다. 이러한 微生物中 일부 細菌들은 곰팡이의 成長과 胞子 形成에 影響을 미치는 휘발성 代謝物質을 生成하는 것으로 알려져 있다.[19,22,23]

이와 같이 食品과 環境中에서 곰팡이의 成長과 mycotoxin 生成이 종종 競爭的 狀況에서 일어나게 되나 이러한 競爭的 生長이 mycotoxin 生成에 미치는 影響을 다룬 硏究는 적은 편이다.

Citrinin을 비롯한 mycotoxin 生成能을 가진 곰팡이들은 穀類 뿐만 아니라 치이즈에서도 분리되어 왔으며,[24,25] 條件이 좋으면 치이즈에서 생장하여 mycotoxin을 생산하게 된다.[23] 일반적으로 치이즈의 제조에는 젖산균이 이용되고 또 一部 치이즈에서는 熟成의 初期 段階에서 젖산균이 생존하고 있기 때문에 mycotoxin 生成 곰팡이와 접할 수 있게 된다.

本 硏究에서는 치이즈 熟成에 있어서 중요한 細菌인 젖산균이 *Penicillium citrinum*의 生育과 citrinin 生成에 어떻게 影響을 미치는 가를 조사하였으며 食品과 飼料 等에 있어서 mycotoxin 汚染 豫防 및 管理를 위한 基礎資料를 제공하고자 한다.

材料 및 方法

使用 菌株－本 實驗에 사용된 菌株로는 citrinin의 生成菌株로서 *Penicillium citrinum*을, 젖산균으로서 *Lactobacillus bulgaricus*와 *Lactobacillus casei*를 각각 American Type Culture Collection(ATCC)과 國立保健院으로부터 분양받아서 사용하였다.

培地 및 試藥－培地는 菌의 培養을 위해서 APT broth(Difco Lab., Detroit, MI, U.S.A)에 glucose를 7% 첨가하여 액체 培地로 사용하였으며 胞子 현탁액의 調製를 위해서 potato dextrose agar(PDA) 培地(Difco Lab.)를 사용하였다. 각 培地의 組成은 Table 1, 2와 같다.

實驗에 사용된 citrinin 標準物質은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO., U.S.A.) 제품이었고 其他 試藥은 分析用 특급 이상을 사용하였다.

培養物 및 胞子 현탁액의 調製－供試菌株인 *Pen. citrinum*을 PDA 斜面 培地에서 28℃로 10일동안 培養하여 활성화시킨 다음, 0.1%의 tween 80 10 ml와 멸균증류수 5 ml를 가하여 시험관 교반기로 강하게 교반하여 胞子를 씻어주는 조작을 3회 반복하였다. 胞子 현탁액을 모아서 멸균된 4겹의 cheese cloth로 여과하고 적당한 量의 멸균증류수로 희석하면서 현미경(Nikon, HFX-II, Japan)으로 검경하여 胞子數를 10^7～10^8 conidia/ml로 조절한 것을 實驗에 사용하였다. *Lac. bulgaricus*와 *Lac. casei*는 APT broth에서 28℃로 24시간 동안 배양하였으며 3회 繼代 배양한 후 다시 6시간 배양하여 얻은 菌液을 實驗에 사용하였다.

培養方法－소형시험관(12×150 mm)에 培地를 5 ml씩 가하여 121℃, 1 kg/cm²하에서 15분동안 고압증기멸균하고 *Pen. citrinum* 胞子 현탁액과 젖산균

Table 1. The composition of modified PDA medium*

Potatoes	200g
Bacto-dextrose	20g
Bacto-agar	15g
Yeast-extract	50g
Distilled water	1l

* Initial pH of the medium was 5.5.

Table 2. The composition of modified APT medium*

APT broth	93g
Glucose	7g
Distilled water	1l

* Initial pH of the medium was 5.5

菌液을 각각 100 μl씩 15일간 30℃에서 定置 培養하였다.

培養 順序는 다음의 4가지 형태로 행하였다. 즉 젖산균, *Lac. bulgaricus*와 *Lac. casei* 菌液을 接種하고 培養 3일후에 곰팡이, *Pen. citrinum* 胞子 현탁액을 접종하여 배양한 群(LbPc 및 LcPc), 젖산균과 곰팡이를 동시에 接種, 배양한 群(ST ; Pc+Lb 및 Pc+Lc), 곰팡이를 접종하고 培養 3일후에 젖산균을 접종하여 배양한 群(PcLb 및 PcLc), 그리고 젖산균과 곰팡이를 각각 단독 배양한 對照群(Lb, Lc 및 Pc)으로 구분하여 배양하였다. 각각의 培養物을 0, 3, 6, 9, 12, 15일동안 경시적으로 관찰하면서 菌의 生育, 培養液의 pH와 酸度 및 citrinin 含量 等을 분석하였다.

生育度 測定－젖산균의 경우 각 培養物 1 ml를 eppendorf tube에 분주하여 15,000 rpm에서 3분간 원심분리하면서 상등액의 色素가 완전히 제거될 때까지 반복한 후 분광광도계(Shimazu, UV 160, Japan)로써 660 nm에서 흡광도를 측정하여 菌의 生育을 조사하였다. 곰팡이에 대해서는 培養物을 살균한 후 菌體(mycelium)를 취하여 증류수로 세척하고 건조기(Advantec, FS-620, Japan)에서 60℃로 24시간동안 건조시킨 다음 무게를 측정하여 生育度를 조사하였다.

培養液의 pH 및 酸度 測定－培養液의 pH는 pH meter(Orion, U.S.A.)로써 測定하였고 酸度는 中和滴定法에 의하여 측정하였다. 즉 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 젖산으로 환산하였다.

Citrinin 抽出 및 含量 測定－前報[13]의 方法을 참조하여 培養液을 살균하고 同量의 chloroform을 가하여 강하게 섞은 후 24시간동안 방치하여 citrinin을 추출하였다. Chloroform層 1 ml를 eppendorf tube에 옮기고 micropipette(Gilson Medical Electronics, France)으로 10 μl 취하여 미리 10% 옥살산(oxalic acid)으로 포화시킨 박층크로마토그래피(thin layer chromatography ; TLC)用 plate에 標準 citrinin과 함께 spotting하고 展開溶媒(ether : hexane : aceton : 90% formic acid=70 : 90 : 40 : 2, v/v)로써 전개시켰다. 전개된 plate를 장파장(365 nm)의 자외선하에서 목측법으로 標準 citrinin과 비교, 정량하였다.

結果 및 考察

젖산균의 生育－젖산균을 단독 및 *Pen. citrinum*과 혼합 배양하며 경시적으로 菌의 生育度를 측정한 結果는 Table 3과 같다. 젖산균의 生育은 對照群인 單獨培養의 경우(Lb 및 Lc) 培養 9일째까지 증가하다가 이후 감소하는 傾向을 보였으며 젖산균과 곰팡이를 동시에 접종한 경우(ST ; Pc+Lb 및 Pc+Lc)에는 젖산균의 成長이 對照群과 비슷하였다. 젖산균이 *Pen. citrinum*보다 먼저 접종되었을 경우(LbPc 및 LcPc)에는 培養 6일째까지 증가하다가 감소하는 경향을 보였으며 培養 末期에는 生存數가

Table 3. Growth of lactic acid bacteria during incubation at 30°C for 15 days (unit: O.D.)

Inoculation procedure	Incubation time (days)					
	0	3	6	9	12	15
Pc+Lb	−	1.534	1.682	1.720	1.665	1.664
Pc+Lc	−	1.545	1.694	1.743	1.672	1.698
PcLb	−	1.346	1.572	1.479	1.606	1.596
PcLc	−	1.329	1.505	1.531	1.613	1.606
LbPc	1.534	1.616	1.742	1.681	1.593	1.583
LcPc	1.521	1.627	1.641	1.620	1.607	1.493
Lb	−	1.536	1.650	1.652	1.624	1.603
Lc	−	1.525	1.701	1.720	1.675	1.655

Pc+Lb(Pc+Lc): *Pen. citrinum* and *Lac. bulgaricus*(*Lac. casei*) were inoculated simultaneously.
PcLb(PcLc) : *Pen. citrinum* was inoculated, and after 3 days *Lac. bulgaricus*(*Lac. casei*) was inoculated.
LbPc(LcPc) : *Lac. bulgaricus*(*Lac. casei*) was inoculated, and after 3 days *Pen. citrinum* was inoculated.
Lb(Lc) : *Lac. bulgaricus*(*Lac. casei*) was inoculated alone.

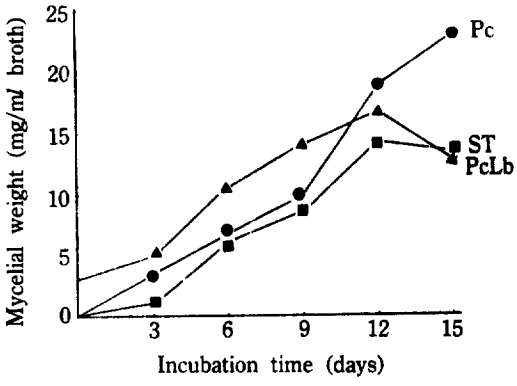


Fig. 1. Mycelial growth of *Pen. citrinum* with and without lactic acid bacteria.
Pc: *Pen. citrinum* was inoculated alone, ST (Pc+Lb): both organisms inoculated simultaneously, and PcLb: *Pen. citrinum* was inoculated and after 3 days lactic acid bacteria was inoculated.

初期 生育數 수준으로 되었다. 곰팡이가 먼저 접종되었을 경우(PcLb 및 PcLc)에는 3일째에는 젖산균의 증식이 저해되었으나 6일째부터는 회복되는 傾向을 나타내었다.

이와같은 젖산균의 成長 樣相은 아마도 혼합하여 배양하는 過程中에 곰팡이가 酸을 생성하였음과 培養液 內의 pH가 낮게 유지되었음[22]에 기인하는 것으로 생각된다. 이와 관련하여 mycotoxin중에서 aflatoxin은 세포의 기본적 活動을 저해하며 *Streptococcus lactis*가 10 μg aflatoxin B_1/ml의 농도에서 저해된다는 報告[23]가 있다.

***Pen. citrinum*의 生育**－*Pen. citrinum*을 단독 및 젖산균과 혼합배양하며 培養 0, 3, 6, 9, 12, 15일에 菌의 生育度를 경시적으로 측정한 結果는 Fig. 1와 같다.

젖산균은 *Pen. citrinum*의 생육에 影響을 미쳤으며 이는 젖산균이 먼저 접종, 배양되었을 때 더 강하게 나타났다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 對照群인 *Pen. citrium* 單獨培養의 경우(Pc)와 젖산균을 동시에 접종, 배양한 경우(ST ; Pc+Lb 및 Pc+Lc), 培養 9일째까지는 菌體의 成長이 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나 培養 12일째부터는 菌體의 成長에 있어서 두가지 樣相이 나타났다. 즉 Pc群에서는 菌體의 生育이 계속 증가되었으나 ST群에서는 菌體의 成長이 저해되는 것으로 나타났다.

또한 Fig. 1에서는 나타나지 않았지만 젖산균을 먼저 접종하고 3일후에 곰팡이를 접종, 배양한 경우(LbPc 및 LcPc)에서는 菌의 生育이 전혀 관찰되지 않았다. 이러한 곰팡이 菌體의 生育 저해는 젖산균에 의한 젖산의 生成에 기인하는 것으로 보이며(Table 4 參照), Wiseman 等[23]도 *Aspergillus parasiticus*와 *Streptococcus lactis*의 混合培養에서 곰팡이 菌體의 生育 저해를 젖산의 生成에 기인하는 것으로 보고하였다.

한편 곰팡이를 먼저 접종하고 3일후에 젖산균을 접종, 배양한 경우(PcLb, PcLc)에는 배양 9일까지는 菌體의 成長이 單獨 培養한 경우(Pc)보다도 약간 높았다. 그러나 12일 후에는 生育이 저해되어 培養 末期에는 同時 接種群(ST ; Pc+Lb, Pc+Lc)보다 菌의 生育이 저해되는 것으로 나타났다.

이러한 結果에 대해서 몇가지 설명이 있을 수 있으나 酵素 活性의 여건을 고려할 수 있고 細菌에 의해서 생산된 휘발성 代謝産物이 菌體生育에 影響을 미칠 可能性[27]을 고려해 볼 수 있다. Wiseman 等[23]도 *Streptococcus lactis*의 이와같은 要因 誘發을 추측하고 있다.

pH 變化－젖산균과 *Pen. citrinum*을 15일동안 單獨 및 混合 培養하면서 경시적으로 pH를 측정한 結果는 Table 5와 같다. Table에서 보는 바와 같이 곰팡이 對照群(Pc)에서는 培養 3일째에 pH 5.6이던 것이 12일째에는 pH 4.9까지 낮아졌다가 15일째에 다시 pH 5.1로 증가하였다. 여기서 pH의 감소는 곰팡이에 의한 탄수화물의 代謝 結果로 생각할 수 있겠다.

또한 젖산균과 *Pen. citrinum*을 동시에 접종한 경우(ST ; Pc+Lb 및 Pc+Lc)와 곰팡이를 먼저 접종한 경우(PcLb 및 PcLc)에서는 培養 3일째에 pH 4.2～4.3이던 것이 계속 감소하다가 培養 15일까지 낮은 水準을 유지하고 있으며 培養 末期에 완만한 증가 경향을 보이고 있다. 이는 培養 初期에 젖산균이 *Pen. citrinum*을 능가하여 생육하다가 成長 初期에 젖산을 生成한 것으로 볼 수 있으며 또한 *Pen. citrinum*에 의한 酸 生成도 pH의 變化에 影響을 줄 것으로 생각할 수 있다.

Citrinin 測定－Glucose를 7% 添加한 APT 培地上에서 젖산균과 곰팡이를 접종하여 30℃에서 15일동안 培養하면서 각 培養物을 경시적으로 chloroform으로 추출하고 前報[13]의 방법에 따라 TLC를 시행한

Table 4. Change in total acidity of broth during incubation at 30°C for 15 days

Inoculation procedure	Incubation time (days)					
	0	3	6	9	12	15
Pc	–	7.3	7.5	7.6	7.8	7.5
Pc+Lb	–	24.7	25.7	28.4	29.8	29.8
Pc+Lc	–	24.4	25.5	28.8	30.3	30.4
PcLb	7.3	22.8	25.5	29.4	32.7	33.5
PcLc	7.3	22.6	26.8	31.2	32.2	33.4
LbPc	25.2	28.4	30.1	35.6	39.6	40.4
LcPc	24.7	28.7	31.0	35.2	39.2	40.2
Lb	–	25.0	27.7	32.0	34.8	40.0
Lc	–	25.3	28.3	30.3	34.3	39.5

Pc : *Pen. citrinum* was inoculated alone.
Pc+Lb(Pc+Lc): *Pen. citrinum* and *Lac. bulgaricus(Lac. casei)* were inoculated simultaneously.
PcLb(PcLc) : *Pen. citrinum* was inoculated, and after 3 days *Lac. bulgaricus(Lac. casei)* was inoculated.
LbPc(LcPc) : *Lac. bulgaricus(Lac. casei)* was inoculated, and after 3 days *Pen. citrinum* was inoculated.
Lb(Lc) : *Lac. bulgaricus(Lac. casei)* was inoculated alone.

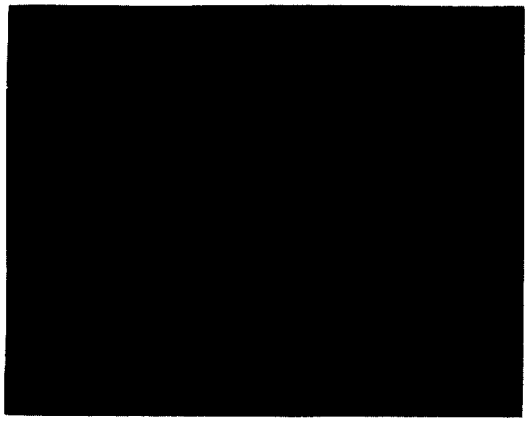
Table 5. Change in pH of broth during incubation at 30°C for 15 days

Inoculation procedure	Incubation time (days)					
	0	3	6	9	12	15
Pc	6.2	5.6	5.4	5.1	4.9	5.1
Pc+Lb	6.2	4.2	3.9	3.5	3.5	3.6
Pc+Lc	6.2	4.2	3.9	3.4	3.4	3.5
PcLb	5.6	4.3	3.8	3.2	3.6	3.6
PcLc	5.6	4.3	3.8	3.3	3.5	3.5
LbPc	3.5	3.4	3.3	3.0	3.1	3.1
LcPc	3.5	3.4	3.4	3.1	3.2	3.2
Lb	6.2	3.5	3.4	3.3	3.1	3.1
Lc	6.2	3.5	3.4	3.4	3.1	3.1

Pc : *Pen. citrinum* was inoculated alone.
Pc+Lb(Pc+Lc): *Pen. citrinum* and *Lac. bulgaricus(Lac. casei)* were inoculated simultaneously.
PcLb(PcLc) : *Pen. citrinum* was inoculated, and after 3 days *Lac. bulgaricus(Lac. casei)* was inoculated.
LbPc(LcPc) : *Lac. bulgaricus(Lac. casei)* was inoculated, and after 3 days *Pen. citrinum* was inoculated.
Lb(Lc) : *Lac. bulgaricus(Lac. casei)* was inoculated alone.

結果, 12일째의 培養液 추출물에서 Fig. 2와 같은 크로마토그램(chromatogram)을 얻을 수 있었다. *Pen. citrinum* 單獨培養群(Pc), 젖산균과 *Pen. citrinum*의 同時接種群(ST) 및 *Pen. citrinum*을 접종하고 3일 후 젖산균을 接種·培養한 群(PcLb, PcLc)에서 培養液 抽出物의 TLC chromatogram上에서 나타난 螢光은 標準 citrinin과 비교해볼 때 색깔과 Rf값이 同一하게 나타났다.

上記의 TLC chromatogram上의 spot에 대하여 citrinin量을 측정한 結果는 Fig. 3과 같다. Citrinin의 生成은 *Pen. citrinum* 對照群(Pc)의 citrinin 生成量에 비하여 젖산균과 混合培養時 적은 量의 citrinin을 生成하였다. 對照群의 경우 培養 12일째에 81 μg/ml의 citrinin을 生成한데 비하여 混合培養의 경우 최소 0 μg/ml(LbPc 및 LcPc)에서 최고 25 μg/ml(PcLb)로 현저한 감소를 나타내었다. 곰팡이를 먼저 접종하고 3일후 젖산균을 접종한(PcLb 및 PcLc) 경우, 培養 9일째부터 citrinin量이 감소하고 있는데, 培養 12일째에는 約 69%의 citrinin이 감소된 것으로 나타나고 있다. 培養 12일째의 培養物의



1 2 3 4

Fig. 2. TLC chromatograms of extracted media.
1. Standard citrinin.
2. Pc: *Pen. citrinum* was inoculated alone.
3. ST(Pc+Lb): *Pen. citrinum* and *Lac. bulgaricus* were inoculated simultaneously.
4. PcLb: *Pen. citrinum* was inoculated, and after 3 days *Lac. bulgaricus* was inoculated.

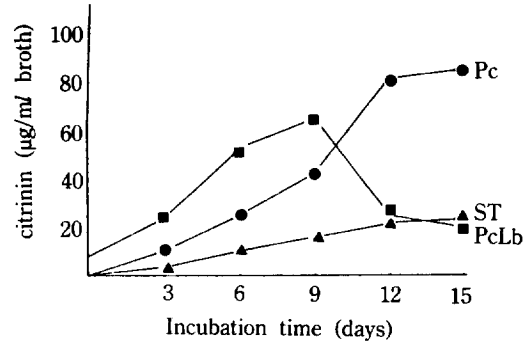


Fig. 3. Content of citrinin during incubation at 30°C for 15 days.
Pc: *Pen. citrinum* was inoculated alone, ST (Pc+Lb): both organisms inoculated simultaneously, and PcLb: *Pen. citrinum* was inoculated and after 3 days lactic acid bacteria was inoculated.

特性은 Table 6에서 보는 바와 같다. 이는 한가지 또는 그 이상의 營養物質이 培地內에서 불충분하게 공급된 結果로 볼 수도 있는데 젖산균의 生育 結果로 citrinin 合成에 沮害를 받았음으로 해석할 수 있겠다. 즉 젖산균과 곰팡이의 混合 培養中 젖산에 의한 酸度와 pH의 變化로 2차 代謝産物의 合成에 관여하는 효소계와 생합성계의 作用으로 citrinin 合成을 감소시키거나 生育 자체를 완전히 저해시키는 것으로 생각되며 이에 대한 생화학적 機轉에 대한 구체적인 硏究가 필요하다고 생각된다.

Wiseman 等[23]은 *Asp. parasiticus*가 *Str. lactis*에 대해 buffering agent로서 작용함을 시사하였고, Dolye 等[20,21]은 毒性의 *Aspergillus*屬 곰팡이들에

Table 6. Growth of both organisms and total acidity, pH and amount of citrinin of broth after 12 days' incubation at 30°C

Inoculation procedure	Growth		Total acidity	pH	Citrinin (μg/ml)
	Mycelial weight of *Pen. citrinum* (mg/ml)	Lactic acid bacteria (O.D.)			
Pc	18.7	—	7.8	4.9	81
Pc+Lb	14.0	1.665	29.8	3.5	21
Pc+Lc	12.8	1.672	30.3	3.4	20
PcLb	16.4	1.606	32.7	3.6	25
PcLc	14.2	1.613	32.2	3.5	24
LbPc	−	1.593	39.6	3.1	−
LcPc	−	1.607	39.2	3.2	−
Lb	−	1.624	34.8	3.1	−
Lc	−	1.675	34.3	3.1	−

Pc : *Pen. citrinum* was inoculated alone.
Pc+Lb(Pc+Lc): *Pen. citrinum* and *Lac. bulgaricus*(*Lac. casei*) were inoculated simultaneously.
PcLb(PcLc) : *Pen. citrinum* was inoculated, and after 3 days *Lac. bulgaricus*(*Lac. casei*) was inoculated.
LbPc(LcPc) : *Lac. bulgaricus*(*Lac. casei*) was inoculated, and after 3 days *Pen. citrinum* was inoculated.
Lb(Lc) : *Lac. bulgaricus*(*Lac. casei*) was inoculated alone.

의한 aflatoxin의 分解를 기술하였으나 本 實驗에서 citrinin이 곰팡이에 의해서 分解되었다는 證據는 찾을 수 없다. 왜냐하면 *Pen. citrinum* 單獨培養群(Pc)과 젖산균과의 同時接種群(ST)에서는 培養 15일까지 citrinin의 量이 계속 增加하고 있기 때문이다.

El-Gendy 等[22]과 Wiseman 等[23]은 *Lac. casei*와 *Str. latis*가 *Aspergillus*屬 곰팡이의 aflatoxin 生成에 미치는 影響을 硏究하였으나 이 報告들에서는 젖산균이 미치는 影響이 本 硏究에서보다 微弱한 것으로 나타났다. 이 資料들과 Weckbach 等[19]의 硏究, 그리고 本 硏究의 結果는 培養液內에 다른 微生物들이 存在할 때 mycotoxin 生成能을 가진 곰팡이들의 행동에 影響을 미친다는 것을 제시한다. Mycotoxin 生成 곰팡이들을 食品이나 飼料 等에서 單獨으로 生長하는 것이 아니기 때문에 이와 같이 競爭的으로 작용하는 마이크로후로라(microflora)의 存在가 考慮되어야 할 것으로 생각된다.

국문요약

*Penicillium citrinum*의 生育과 *citrinin* 生成에 젖산균이 미치는 影響을 調査하기 위하여 *Pen. citrinum*을 치이즈 熟成菌인 *Lactobacillus casei* 및 *Lactobacillus bulgaricus*와 混合培養을 實施하였다. 즉 glucose를 7% 첨가한 APT 培地에 供試菌을 각각 單獨培養한 경우(Pc, Lb 및 Lc), *Pen. citrinum*과 *Lactobacillus* spp.를 同時에 접종, 배양한 경우(ST ; Pc+Lb 및 Pc+Lc), *Lactobacillus* spp.를 접종하여 3일간 배양한 후 *Pen. citrinum*을 접종하여 배양한 경우(LbPc 및 LcPc), 그리고 *Pen. citrinum*을 접종하여 3일간 배양한 후 *Lactobacillus* spp.를 접종하여 배양한 경우(PcLb 및 PcLc)로 구분하여 각각 30℃에서 15일간 定置 培養하면서 경시적으로(0, 3, 6, 9, 12, 15일) 培養液의 pH와 酸度를 측정하고 供試菌의 生育과 citrinin 生成을 비교하였다. 그 結果, 菌의 生育은 混合培養의 경우 *Pen. citrinum*의 成長이 크게 鈍化되었고 특히 젖산균을 먼저 접종한 群(LbPc 및 LcPc)의 경우 더욱 현저히 나타났다. Citrinin의 生成은 곰팡이 對照群(Pc)과 곰팡이를 먼저 접종한 群(PcLb 및 PcLc)에서는 비슷한 含量을 보였으나 곰팡이와 細菌을 동시 접종한 경우(ST) 감소되었고, 특히 *Lactobacillus* spp. 배양후 *Pen. citrinum*을 접종한 群(LbPc 및 LcPc)에서는 citrinin 生成이 나타나지 않아 *Pen. citrinum*의 生育과 citrinin 生成이 競爭的으로 작용하는 microflora에 의해 큰 影響을 받는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Scott, P.M.: *Penicillium* mycotoxins. In.: Wyllie, T.D. and L.G. Morehouse(eds), mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses; an encyclopedic handbook. Marcel Dekker, New York, 1977, pp. 291-296.
2. Marti, L.R., Wilson, D.M. and Evans, B.D.: Determination of citrinin in corn and barly. J. Assoc. Off. Anal. Chem. **6**(16), 1353-1358 (1978).
3. Smith, J.E. and Moss, M.O.: Mycotoxins, formation, analysis and significance. John Wiley & Sons, New York, 1985, p. 81.
4. 辛孝善, 申光淳, 鄭英彩, 李容旭: 最新 食品衛生學, 改訂增補, 新光出版社, 1989, pp. 178-179.
5. Carlton, W.W. and Tuite, J.: Mycotoxicosis induced in guinea pigs and rats by corn cultures of *P. viridicatum*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **16**, 345-361 (1970).
6. Krogh, P., Hold, B. and Pederson, E.J.: Occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals associated with mycotoxic porcine nephropathy. *Acta. Path. Microbiol. Scand.*, **81**, 689-697 (1973).
7. Scott, P.M., Walbeek, W. van, Kennedy, B. and Anyeti, D.: Mycotoxins(ochratoxin A, citrinin, and sterigmatocystin) and toxigenic fungi in grains and other agricultural products. *J. Agric. Food Chem.*, **20**, 1103-1109 (1972).
8. Beasley, J.N., Blalock, L.D., Nelson, T.S. and Templeton, G.E.: The effect of feeding corn molded with *Penicillium lanosum* to broiler chicks. *Poultry Sci.*, **59**, 708-713 (1980).
9. Damoglou, A.P., Downey, G.A. and Shannon, W.: The production of ochratoxin A and citrinin in barley. *J. Sci. Food Agric.*, **35**, 395-400 (1984).
10. Mill, J.T., Abramson, D., Frohlich, A.A. and Marquardt, R.R.: Citrinin and ochratoxin A production by *Penicillium* spp. from stored durum wheat.

Canadian J. Plant Pathol., **11**, 357-360 (1989).
11. Reiss, J.: Mycotoxins in foodstuffs. X. Production of citrinin by *Penicillium chrysogenum* in bread. *Food Cosmet. Toxicol.*, **15**, 303-307 (1977).
12. Wu, M.T., Ayres, J.C. and Koehler, P.E.: Production of citrinin by *Penicillium viridicatum* on Country-Cured ham. *Appl. Microbiol.*, **27**(2), 427-428 (1974).
13. 鄭惠敎: 영남지방 농산물의 citrinin 生成菌 汚染정도에 관하여. 경상대학교 대학원 식품공학과 석사학위 논문, 1991.
14. Alberto, Gimeno: Thin layer chromatographic determination of aflatoxins, ochratoxins, sterigmatocystin, zearalenone, citrinin, T-2 toxin, deacetoxyscirpenol, penicillic acid, patulin and penitremt. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **62**(3), 579-585 (1979).
15. Alberto, Gimeno: Determination of citrinin in corn and barley on thin layer chromatographic plates impregnated with glycolic acid. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **67**(1), 194-196 (1984).
16. Golinski, P. and Grabarkiewicz-szczesnh, J.: Chemical confirmatory tests for ochratoxin A, citrinin, penicillic acid, sterigmatocystin, and zearalenone performed directly on thin layer chromatographic plates. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **67**(6), 1108-1110 (1986).
17. Wilson, D.M., Tabor, W.H., Trucksess, M.W.: Screening method for the detection of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, penicillic acid, and citrinin. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **59**, 125-127 (1976).
18. Hald, B. and Krogh, P.: Analysis and chemical confirmation of citrinin in barley. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **56**, 1140-1145 (1973).
19. Weckbach, L.S. and Marth, E.H.: Aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in a competitive environment. *Mycopathologia*, **62**, 39-45 (1977).
20. Doyle, M.P. and Marth, E.H.: Aflatoxin in degraded by fragmented and intact mycelia of *Aspergillus parasiticus* grown 5 to 18 days with and without agitation. *J. Food Prot.*, **41**, 549-555 (1978).
21. Doyle, M.P. and Marth, E.H.: Aflatoxin is degraded by mycelia from toxigenic and nontoxigenic aspergilli grown on different substrates. *Mycopathologia*, **63**, 145-153 (1978).
22. EL-Gendy, S.M. and Marth, E.H.: Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in the presence of *Lactobacillus casei*. *J. Food. Prot.*, **44**(3), 211-212 (1981).
23. 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).
24. Bullerman, L.B.: Examination of Swiss cheese for incidence of mycotoxin producing molds. *J. Food Sci.*, **41**. 26-28 (1976).
25. Bullerman, L.B. and Olivigni, F.J.: Mycotoxin producing-potential of molds isolated from Cheddar cheese. *J. Food Sci.*, **39**, 1166-1168 (1974).
26. A.O.A.C.: Official methods of analysis, 14th ed. 1985.
27. Moore-Landecker, E. and Stotzky, G.: Morphological abnormalities of fungi induced by volatile microbial metabolities. *Mycologia*, **65**, 519-530 (1973).