

## A T-2 Fusarium toxin kimutatása és mennyiségi meghatározása mikrobiológiai eljárással

TÉREN JÓZSEF\* és FERENCZY LAJOS\*\*

Mérsékelt égövi viszonyok mellett a gabonafélék és takarmányok egészségügyi veszélyességét elsősorban a Fusarium gombák által termelt toxikus metabolitok jelentik.

Ezek közül kémiai szerkezetük és biológiai hatásuk alapján jól körülhatárolható egységet képeznek a trichothecan csoportba tartozó mycotoxinok (1, 2, 3). Különböző eredetű gabona és takarmányminták esetében leggyakoribb az erősen mérgező, Fusarium tricinctum és más Fusarium fajok által termelt T-2 toxin (4, 5, 6):

A T-2 toxin kimutatására szolgáló vékonyréteg kromatográfiás módszerek (7,8) érzékenysége nem nagy, továbbá az előhívás aspecifikussága a kimutatás megbízhatóságát erősen befolyásolja.

Mivel a T-2 toxin mikroorganizmusok szaporodását gátolja, ennek alapján dolgoztak ki agar-diffúziós módszert (9), amely azonban a tesztmikroorganizmus lassú szaporodása miatt túl hosszú inkubációs időt igényel, továbbá csak a T-2 toxin mennyiségének becslésére alkalmas.

Vizsgálataink során olyan mikrobiológiai eljárás kidolgozását tűztük ki célul, amely a fent említett módszernél gyorsabb, nagyobb érzékenységgel rendelkezik, továbbá lehetővé teszi a T-2 toxin kvantitatív meghatározását.

### Anyagok és módszerek

#### T-2 toxin gátló koncentrációjának vizsgálata

A kristályos T-2 toxint *H. R. Burmeister* (Northern Regional Research Laboratory, U. S. Department of Agriculture, Peoria, Ill.) laboratóriumából kaptuk. Tesztmikroorganizmusok az ATCC és CBS nemzetközi, továbbá az NVK (Növényvédelmi Kutató Intézet Bp.), SzK (Szőlészeti Kutató Intézet Bp.), OKI (Országos Közegészségügyi Intézet Bp.) és az SzMC (JATE Szeged, Mikrobiológiai Tanszék) törzsgyűjteményeiből származtak. A kultúrákat DY (10 g glukóz, 5 g Oxoid Yeast Extract, 1000 cm<sup>3</sup> deszt. víz) ferde agaros tenyésztetben tartottuk fenn, penészgombáknál 1 hetes, más mikroorganizmusoknál 24 órás tenyésztet használtunk a vizsgálatokhoz.

Táptalaj hígítási módszerrel DY táptalajon 20–0,6 µg/cm<sup>3</sup> T-2 koncentrációtartományban felező hígítási sort készítve, a hígítási sor tagjaiból 10 cm<sup>3</sup>-t öntöttünk Petri csészénként. A táptalaj felületére a tesztmikroorganizmu-

\* Megyei Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Intézet, Szeged

\*\* József Attila Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék, Szeged

sok sejt, ill. spóra szuszpenziójából  $10^3$  sejtet vittünk fel  $1 \text{ cm}^2$ -es területre. Inkubálás  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ -on történt. Az értékelésnél a minimális gátló koncentráció (MIC) mellett a részleges gátlás koncentrációját (IC 50) is megállapítottuk, azaz azt a T-2 toxin koncentrációt, amelynél a kontrollon bekövetkezett szaporodás mértékéhez képest 50%-os vagy annál nagyobb részleges gátlás tapasztalható.

#### *Turbidimetriás módszer*

DS (10 g glukóz, 5 g/ $\text{NH}_4/2\text{SO}_4$ , 1 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ , 0,5 g Oxoid Yeast Extract,  $1000 \text{ cm}^3$  deszt. víz) tápoldatot  $10 \text{ cm}^3$ -enként  $100 \text{ cm}^3$ -es Erlenmeyer lombikokba fejtve, az inkubációs elegy 10; 5; 2,5; 1,2; 0,6; 0,3 és  $0,15 \mu\text{g}$  T-2 toxint és  $10^4$  Prototheca wickerhamii sejtet tartalmazott  $\text{cm}^3$ -enként. Rázatás malomszita rendszerű körkiteréses rázógépen történt,  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 36 óráig. A turbiditás mérését Spektromom 360 spektrofotométeren  $520 \text{ nm}$  hullámhosszon végeztük. A sejtszám-optikai denzitás összefüggést adó kalibrációs görbét Bürker-kamrás sejtszámolással vettük fel.

#### *Agar-diffúziós módszer*

Az előkísérletek során  $3,5 \text{ cm}^3$  DS táptalajhoz ( $45 \text{ }^\circ\text{C}$ )  $0,5 \text{ cm}^3$  Prototheca wickerhamii szuszpenziót ( $5 \cdot 10^6$  sejt/ml) öntöttünk és intenzív összekeverés után lemezöntést végeztünk. A táptalaj vastagsága  $2 \text{ mm}$  volt. A táptalaj megdermedése után  $0,3$ ;  $0,6$  és  $1,2 \mu\text{g}$  T-2 toxint tartalmazó papírkorongokat ( $9 \text{ mm}$  átmérőjű Whatman no 7) helyeztünk a felületre. 16 óras  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ -on történő inkubálás a lemezeket  $1 \text{ mg/cm}^3$  brómkrezol-bibor (BCP) tartalmú,  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ -os agarral lepermeteztük, és a kialakult kék zónák átmérőjét mértük.

#### *Standardizált kvantitatív meghatározás „large plate” kamrában*

$17,5 \text{ cm}^3$  pufferelt, módosított DS (10 g glukóz, 5 g ( $\text{NH}_4/2\text{SO}_4$ ); 0,5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ , 0,5 g Oxoid Yeast Extract, 0,15 g BCP indikátor, 10 g agar;  $1000 \text{ cm}^3$  M/15 foszfát puffer, pH = 7) táptalajhoz – melyet  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ -ra lehűtöttünk –  $2,5 \text{ cm}^3$  hasonlóan pufferolt Prototheca wickerhamii szuszpenziót ( $5 \cdot 10^6$  sejt/ $\text{cm}^3$ ) adtunk. Intenzív keverés után  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ -ra előmelegített „large plate” kamrába ( $20 \times 20 \times 1 \text{ cm}$ ) öntöttük. Kalibrációs görbe felvételéhez kristályos T-2 toxin acetonos törzsoladatából felező hígítási sort készítve ( $60 - 3 \mu\text{g}$ )  $\text{cm}^3$ ) a hígítási sor tagjaiból  $50 \mu\text{l}$ -t vittünk fel a papírkorongokra. Az inkubálás  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ -on történt. 24 óra múlva a korongok körül kialakult színes zónák átmérőjét mértük.

#### *A kvantitatív módszer gyakorlatban való alkalmazása*

$10 \text{ g}$  penészfertőzöttségtől mentes búza ill. fehérkukorica darát etilacetáttal extraháltunk (standard Soxlet módszerrel) 8 óran keresztül. Az extraktumot vákuumban bepároltuk, a maradékot  $5 \text{ cm}^3$  acetonnal újra oldottuk, és  $0,5 \text{ cm}^3$ -enként elosztva ismert mennyiségű T-2 toxint adtunk hozzá.

Preparatív rétegekromatográfiához Kieselgel G  $1 \text{ mm}$  rétegvastagságú lemezeket (aktiválás  $110 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 4 óráig) használtunk. Az extraktumok felvitele csikban történt. Etilacetát-toluol 3 : 1 arányú elegyével a kromatogramokat kb.  $10 \text{ cm}$  magasságig futtattuk, szárítás után a T-2 toxinra jellemző  $R_f$  érték-nél ( $R_f = 0,5 - 0,6$ ) a szilikagélt lekaptuk és  $8 \times 150 \text{ mm}$ -es mikrooszlopba töltöttük. Eluálás acetonnal  $2 \text{ cm}^3$  végső térfogattal.

A mikrobiológiai meghatározást „large plate” módszerrel az előző pontban leírtak alapján végeztük.



Vékonyréteg kromatográfiához Kieselgel G 250  $\mu$  rétegvastagságú lemezeket (aktiválás 110 °C-on 1 óráig) használtunk. A lemezekre 0,15; 0,3; 0,6; 1,2 és 2,5  $\mu$ g T-2 toxint vittünk fel foltonként. Futtatás etilacetát-toluol 3 : 1 arányú elegyével történt szobahőmérsékleten. A megszáritott lemezeken a szilikagélt 1%-os agar (50 °C-os) tartalmú oldattal való lepermetezéssel fixáltuk.

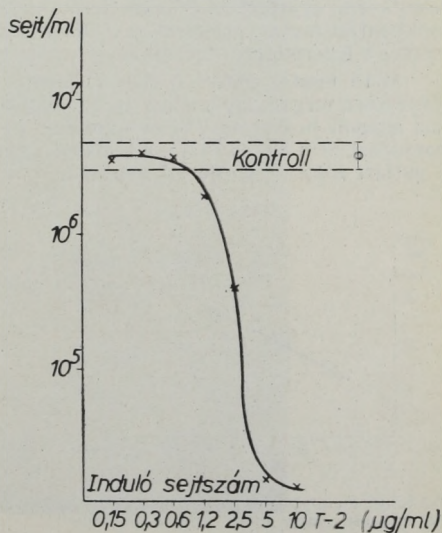
17,5 cm<sup>3</sup> DS táptalajhoz BCP indikátor 1 mg/cm<sup>3</sup>-es oldatából 0,1 cm<sup>3</sup>-t adunk, és a pH-t 7-re állítottuk. Az indikátor kis mennyiségű alkalmazása a későbbiekben tárgyalt „előrejelzés” miatt szükséges. A táptalajt 45 °C-ra lehűtöttük és 2,5 cm<sup>3</sup> Prototheca wickerhamii szuszpenziót ( $5 \cdot 10^7$  sejt/cm<sup>3</sup>) adtunk, majd intenzív keverés után a vékonyrétegekromatogramok felületére lemezt öntöttünk. Vastagsága 1 mm. Inkubálás nedves kamrában 30 °C-on kb. 15 óráig. Ezután a lemezeket az előhívó agarral (1 g BCP, 10 g agar 1000 cm<sup>3</sup> deszt. víz pH = 7-re való beállítás 5%-os NaOH-val) lepermeteztük, és mértük a kialakult kék zónák területét.

### Eredmények és értékelés

#### T-2 toxin hatása a mikroorganizmusokra

Baktériumok esetében a MIC az alkalmazott legmagasabb koncentráció (20  $\mu$ g cm<sup>3</sup>) felett van, részleges gátlás sem tapasztalható.

A vizsgált élesztőgombák közül az érzékeny fajoknál a MIC 10  $\mu$ g/cm<sup>3</sup>, részleges gátlás pedig 5  $\mu$ g/cm<sup>3</sup> koncentrációnál tapasztalható. A gombák rendszertani helye és a T-2 toxinra való érzékenység között nincs összefüggés. A pe-



1. ábra

Prototheca Wickerhamii sejtszám változása a T-2 toxin koncentráció függvényében, turbidimetriás mérések alapján

nészombák toxin érzékenysége a vizsgált fajoknál hasonló. Általános tapasztalat, hogy nagyobb T-2 koncentráció esetén a fonalképződés gátlódik, így  $20 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ -nél a telepek a leoltott  $1 \text{ cm}^2$ -es területre korlátozódnak, és a konidiumképzés is gátlódik. A vizsgált két *Fusarium* faj esetében nem mutatkozik gátlás. A tesztmikroorganizmusok közül legnagyobb érzékenységgel a szintelen algák csoportjába tartozó *Prototheca* fajok rendelkeznek. Így a további vizsgálatokhoz a *Prototheca* 68/K55 jelű törzset használtuk, melyet *Dobolyi és mts-i* (szóbeli közlés) *Prototheca wickerhamii*-nek azonosították.

### Turbidimetriás módszer

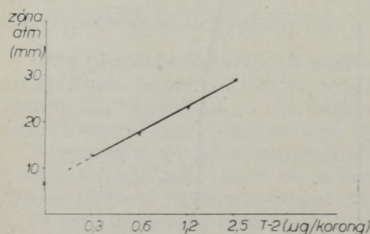
A *Prototheca wickerhamii* rázatott tenyészetének szaporodását  $5 \mu\text{g}/\text{ml}$  T-2 toxin teljesen gátolja (1. ábra). A kontroll szaporodáshoz viszonyítva  $2,5 \mu\text{g}/\text{cm}^3$  T-2 részleges gátlást eredményezett, míg 1,2 alatt gátló hatás nem volt. Így a rázatott tenyészet turbidimetriás mérése nem alkalmas a T-2 toxin kvantitatív meghatározására, mivel a viszonylag magas kimutatási határ mellett szűk a lineáris, mérésre alkalmas tartomány, továbbá hosszú inkubációs időt igényel.

### Agar-diffúziós módszer

Standard diffúziós technika alkalmazásakor alacsony T-2 koncentráció ( $0,3-0,6 \mu\text{g}/\text{korong}$ ) esetén is van gátlás, a kialakult gátló zónák határa azonban elmosódott. Így a pontos zónaátmérő mérésére nincs lehetőség, ami pedig feltétele egy megbízható kvantitatív módszernek. Ha azonban az inkubált lemezeket  $0,1\%$  BCP tartalmú agarral lepermetezzük, a gátlási zóna területe kék színű marad, míg a tesztmikroorganizmus szaporodásából eredő savas rész sárga színű lesz. A zónahatárok ekkor élesen jelentkeznek.

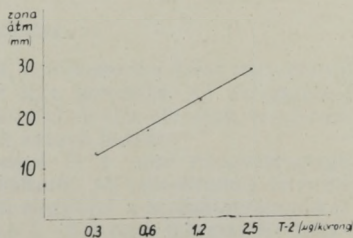
A kvantitatív módszer alkalmazása szempontjából további két probléma jelentkezik: egyrészt az előhívás során kialakult kék zóna átmérője időben gyors csökkenést mutat, másrészt az eljárást „large plate” meghatározással továbbfejlesztve a lepermetezés technikailag nehézkes.

M/15 foszfát puffer ( $\text{pH} = 7$ ) hozzáadásával a táptalaj pufferkapacitása lényegesen megnő, így a neutrális zóna időbeni stabilitása biztosított. A táptalajhoz adagolt brómkrezol bibor indikátor ( $0,15 \text{ mg}/\text{cm}^3$ ) a mikroorganizmus szaporodását nem befolyásolja, a kialakult színek intenzitása viszont megfelelő, így a gátlási zóna átmérője jól mérhető.



2. ábra

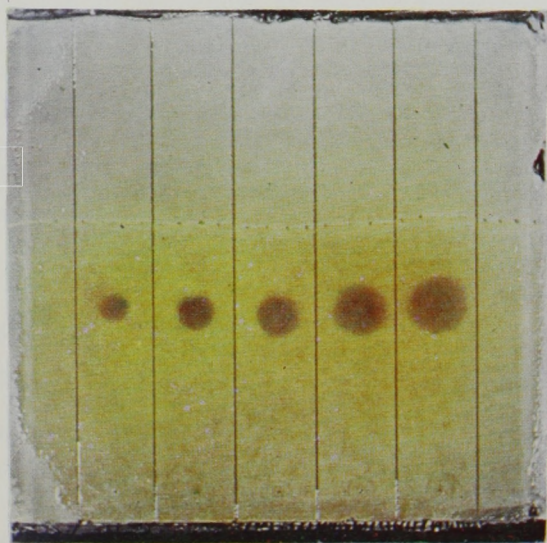
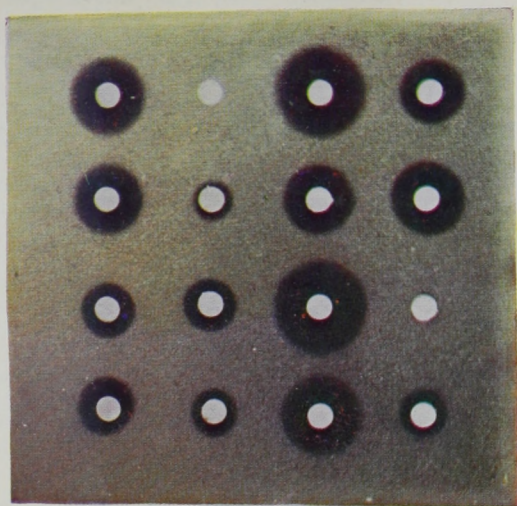
T-2 toxin mennyiség és gátlási zóna átmérő összefüggése „large plate” eljárás alkalmazásakor.

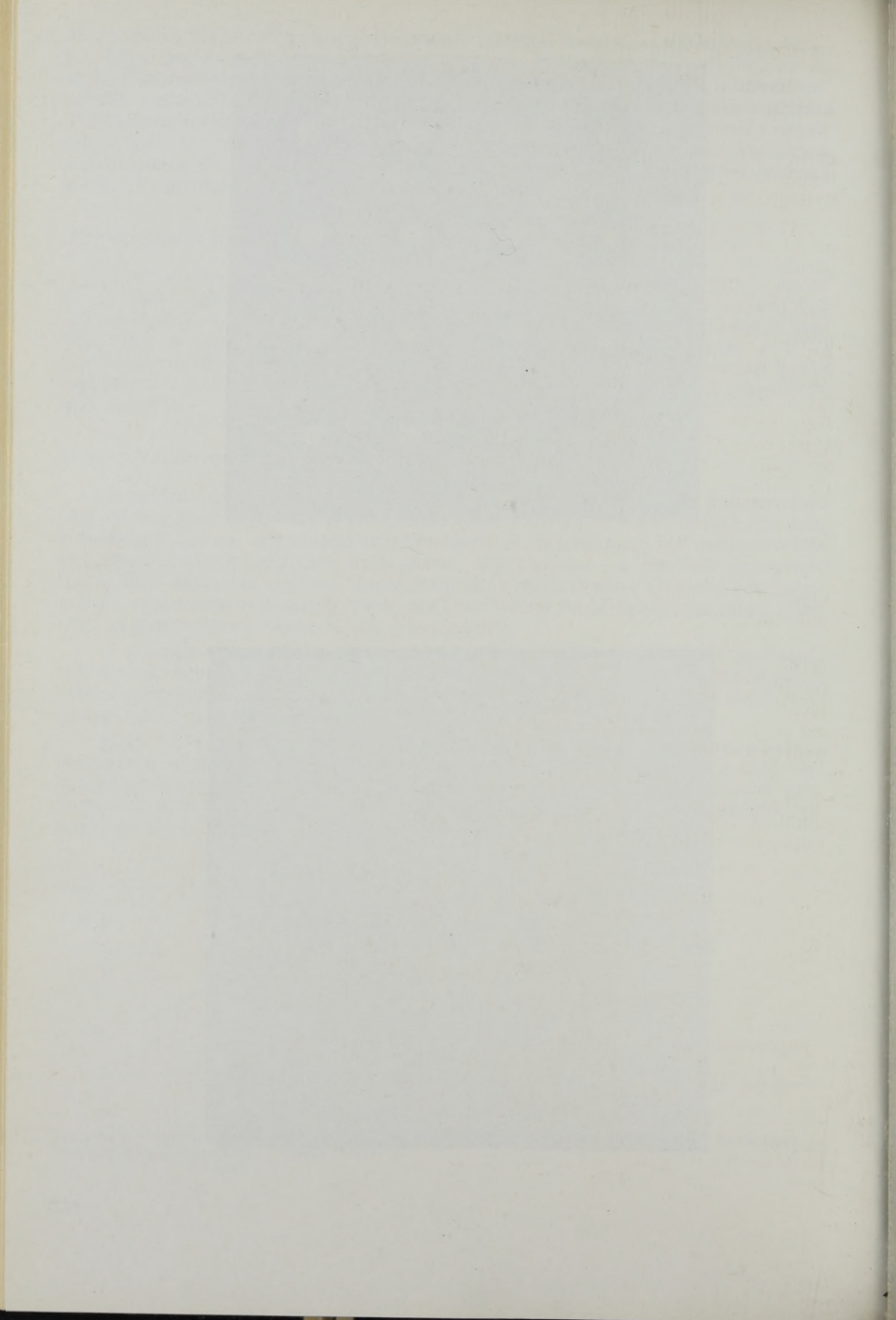


3. ábra

Gátlási zónák a „large plate” kamrában.







Kalibrációs görbe felvételéhez T-2 toxin koncentráció sort vizsgáltunk, kamránként 4 sorozatban, 3 ismétléssel.

24 órás inkubálás után mért adatok szerint a T-2 toxin mennyisége és a gátlási zóna átmérője között 0,3–2,5  $\mu\text{g}/\text{korong}$  intervallumban lineáris összefüggés van (2. ábra). A biztonságosan kimutatható legkisebb T-2 toxin mennyiség 0,1  $\mu\text{g}/\text{korong}$ .

A zónaátmérő és koncentráció között igen szoros a korreláció ( $r = 0,998$ ), így az adott koncentrációhoz tartozó zónaátmérő átlagok a számított kalibrációs görbéhez viszonyítva belesznek az alapszórásba. ( $S_0 = 0,62$ ).

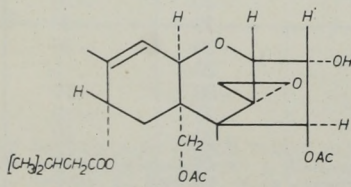
Különböző gabonaminták extraktuma azonban közvetlenül nem vizsgálható a fenti módszerrel, mivel a mintából kiextrahált lipidek az agar diffúziót nagymértékben zavarják. Így a gyakorlatban egy előzetes preparatív rétegekromatográfiás tisztítást kell beiktatni. A T-2 toxinra jellemző Rf értéknél a szilikagélt lekaparva és mikrooszlopba töltve, a toxin kvantitatíve eluálható acetonnal. Az így nyert elúátum már megfelel az agar-diffúziós módszer követelményeinek. Egy „large plate” kamrában 6 ismeretlen (2 sorozatban) és 4 hígítási standard vizsgálható. A statisztikai értékelés alapján a kamra minden pozíciója egyenértékű, azonban a korongokat célszerű  $4 \times 4$ -es latin négyzet sémája szerint elhelyezni (3. ábra).

Gyors módszer a T-2 toxin szemikvantitatív meghatározására

A leírt kvantitatív eljárás mellett a gyakorlat számára gyors és egyszerű kimutatás is szükséges. Ennek érdekében a rétegekromatográfiás elválasztást mikrobiológiai előhívással kombinálva szemikvantitatív eljárást alakítottunk ki.

Az inkubációs idő lerövidítését az inokulum sejtszám olyan növelésével érték el, amely a módszer érzékenységét még nem befolyásolja lényegesen. Az inkubáció megfelelő időtartamát, mely 15 óra körül ingadozik, a táptalajban levő BCP előjelző indikátor mutatja. Az inkubációt követő indikátoros előhívás azt a célt szolgálja, hogy megfelelő színintenzitású gátlási zónákat kapjunk, melyek területének mérése pontosan elvégezhető (4. ábra).

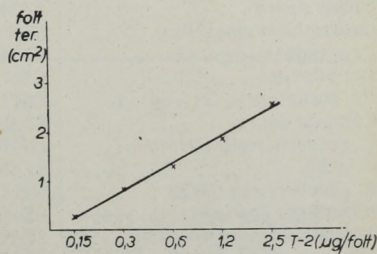
A T-2 toxinnennyiség és a kialakult gátlási zóna területe között 0,1–2,5  $\mu\text{g}/\text{folt}$  intervallumban lineáris összefüggés van (5. ábra), így a leírt módszer alkalmas T-2 toxin gyors szemikvantitatív meghatározására élelmiszer és takarmánymintákból.



T-2 toxin

4. ábra

A gátlási zóna területének változása a T-2 toxin mennyiség függvényében, vékonyréteg kromatogrammon.



5. ábra

Dózis-hatás összefüggés szemikvantitatív módszer alkalmazásakor.



A T-2 toxin hatása mikroorganizmusok szaporodására (MIC-minimális gátló koncentráció,  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ , IC 50 = gátló koncentráció, mely a kontrollhoz viszonyítva 50%, vagy annál nagyobb részleges gátlást eredményez,  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ )

Mikroorganizmus	Eredet	MIC	IC 50
<b>BAKTÉRIUMOK</b>			
Xantomonas vesicatoria ....	NVK	> 20	> 20
Agrobacterium tumefaciens 398 .....	NK	> 20	> 20
Serratia marcescens .....	SZMC	> 20	> 20
Erwinia carotovora .....	SZMC	> 20	> 20
Micrococcus flavus .....	ATCC 10240	> 20	> 20
Sarcina lutea 135 .....	SZMC	> 20	> 20
Staphylococcus aureus 20/3 ..	KPKI	> 20	> 20
Bacillus subtilis .....	ATCC 6633	> 20	> 20
Bac. cereus var. mycoides ..	SZMC	> 20	> 20
Bac. stearothermophilus ....	IP 5280	> 20	> 20
Bac. mesentericus 271 .....	SZMC	> 20	> 20
<b>ÉLESZTŐGOMBÁK</b>			
Endomyces ressii .....	SZMC	> 20	> 20
Endomycopsis wickerhamii .	SZMC	> 20	> 20
Saccharomyces cerevisiae ... R XII	SZMC	> 20	20
Sacch. cerevisiae S 288 C ...	University of California	> 20	5
Sacch. oviformis Massandra .	SZMC	10	5
Sacch. carlsbergensis .....	SZMC	10	5
Sacch. rouxii 1461 .....	SZMC	> 20	> 20
Sacch. diastaticus .....	SZMC	> 20	5
Dekkeromyces lodderi .....	SZMC	> 20	> 20
Hansenula anomala .....	SZMC	> 20	> 20
Pichis saitoi .....	SZMC	> 20	20
Geotrichum candidum .....	SZMC	> 20	> 20
Procandida tropicalis .....	SZMC	> 20	> 20
Pc. albicans .....	CBS	> 20	> 20
Pc. stellatoidea 29-64-1...	OKI	20	5
Candida solani .....	SZMC	> 20	> 20
C. guillermondii 62/117 ....	OKI	> 20	> 20
C. utilis .....	SZMC	> 20	10
C. pulcherrima 64/20 .....	OKI	> 20	> 20
Kloeckera apiculata .....	SZMC	10	5
Torulopsis vanzylii .....	SZMC	20	10
Rhodotorula rubra .....	SZMC	10	5
Rh. mucilaginisosa .....	SZMC	20	10
Nigrococcus nigricans .....	SZMC	10	5



Mikroorganizmus	Eredet	MIC	IC 50
<b>FONALASGOMBÁK</b>			
<i>Mucor spinosus</i> 816 .....	SzK	>20	20
<i>M. racemosus</i> 879 .....	SzK	>20	10
<i>M. hiemalis</i> 821 .....	SzK	>20	10
<i>Actinomucor repens</i> 215 ....	SzK	>20	10
<i>Rhizopus circinans</i> 523 .....	SzK	>20	20
<i>Rh. arrhisus</i> 218 .....	SzK	>20	20
<i>Rh. nigricans</i> 834 .....	SzK	>20	20
<i>Circinella v. simplex</i> 648 ....	SzK	>20	20
<i>Mortierella pusilla</i> .....	SZMC	>20	20
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	SZMC	>20	20
<i>Aspergillus niger</i> .....	SZMC	>20	20
<i>A. japonicus</i> 46 .....	SzK	>20	20
<i>A. nidulans</i> 60/575 .....	OKI	>20	20
<i>A. flavus</i> 557 .....	SzK	>20	10
<i>A. oryzae</i> 1/127 .....	SzK	>20	10
<i>Penicillium chrysogenum</i> A 15	SZMC	>20	20
<i>P. lanosum</i> 301/c .....	SZMC	>20	20
<i>P. purpurogenum</i> .....	SZMC	>20	10
<i>P. cyclopium</i> 877 .....	SzK	>20	20
<i>Trichoderma glauca</i> .....	SZMC	>20	20
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> ...	SZMC	>20	10
<i>Fusarium moniliforme</i> .....	SZMC	>20	>20
<i>F. oxisporum</i> .....	SZMC	>20	>20
<b>SZÍNTELEN ALGÁK</b>			
<i>Prototheca ubrizsyi</i> .....	SZMC	5	2,5
<i>Pt. wickerhamii</i> 68/K 55 ....	OKI	5	1,2
<i>Pt. sp.</i> 68/K 104 .....	OKI	5	2,5
<i>Pt. zopfii</i> 69/K 165 .....	OKI	5	2,5
<i>Pt. trispora</i> 407 .....	OKI	5	2,5
<i>Pt. moriformis</i> 410 .....	OKI	10	5

## IRODALOM

- (1) *Bamburg, J. R.*: Clinical Toxicol. 5, 495, 1972.
- (2) *Ueno, Y.*, és munkatársai: J. Biochem. 74, 285, 1973.
- (3) *Carrasco, L.*, *Barbacid, M.* és *Vazquez, D.*: Biochim. Biophys. Acta 372, 368, 1973.
- (4) *Burmeister, H. R.*, *Ellis, J. J.* és *Hesseltine, C. W.*: Appl. Microbiol. 23, 1165, 1972.
- (5) *Burmeister, H. R.*, *Ellis, J. J.* és *Yates, S. G.*: Appl. Microbiol. 21, 673, 1971.
- (6) *Bamburg, J. W.* és munkatársai: Biotechnol. Bioeng. 10, 445, 1968.
- (7) *Yates, S. G.*, *Tookey, H. L.* és *Ellis, J. J.*: Appl. Microbiol. 19, 103, 1970.
- (8) *Scott, P. M.*, *Lawrence, I. R.* és *van Walbeck, W.*: Appl. Microbiol. 20, 839, 1970.
- (9) *Burmeister, H. R.* és *Hesseltine, C. W.*: Appl. Microbiol. 20, 437, 1970.

# ВЫЯВЛЕНИЕ ТОКСИНА ФУЗАРИУМ Т-2 И ЕГО КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*Й. Тэрен и Л. Ференци*

Авторы разработали аналитический, микробиологический метод для обнаружения токсина Т-2 и его количественного определения. В широком спектре проведенных исследованиях отобрали тест-микроорганизм распоряжающийся соответствующей чувствительностью, который является без цветным водорослем *Prototheca wickerhamii* Проводя определения стандартным методом агар-диффузией предел обнаружения токсина Т-2 0,1  $\mu\text{g}/\text{диск}$ , область измерения находится в интервале 0,3 – 2,5  $\mu\text{g}/\text{диск}$ . Дополнением предыдущего препаративного определения слоистой хроматографии метод подходящий для исследования экстракта образцов пищевых продуктов и корма. Комбинацией отделения тонкослойной хроматографией и микробиологического проявления, создали быстрый метод для семиквантитативного определения токсина Т-2 в области 0,1 – 2,5  $\mu\text{g}/\text{пятн}$ .

## NACHWEIS UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG DES T-2 FUSARIUM- TOXINS MITTELS EINES MIKROBIOLOGISCHEN VERFAHRENS

*J. Téren und L. Ferenczy*

Es wurde eine analytische mikrobiologische Methode zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung des T-2 Toxins entwickelt. Bei einer in einem breiten Spektrum durchgeführten Überprüfung wurde eine farblose Alge: *Prototheca wickerhamii* als Prüfungsorganismus geeigneter Empfindlichkeit ausgewählt. Wird die Bestimmung mit der genannten Agardiffusionsmethode durchgeführt, so ist die Nachweisgrenze des T-2 Toxins 0,1  $\mu\text{g}/\text{Scheibe}$ , und befindet sich der Messbereich im Intervall von 0,3 – 3,5  $\mu\text{g}/\text{Scheibe}$ . Mit einer vorangehenden präparativen Dünnschichtchromatographie ergänzt ist die Methode zur Untersuchung des Extraktes von Lebensmittel- und Futtermustern geeignet. Durch eine Kombination der dünnenschichtchromatographischen Abtrennung mit mikrobiologischer Entwicklung wurde ein rasches Verfahren zur halbquantitativen Bestimmung des T-2 Toxins im Bereich von 0,1 – 2,5  $\mu\text{g}/\text{Flecken}$  ausgearbeitet.

## DETECTION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF T-2 FUSARIUM TOXIN BY A MICROBIOLOGICAL METHOD

*J. Téren and F. Ferenczy*

An analytical microbiological method was developed for the detection and quantitative determination of the T-2 toxin. In the course of a screening carried out along a wide spectrum, a colourless alga: *Prototheca wickerhamii* was chosen as a test microorganism of adequate sensitivity. On carrying out the determination by the standard agar-diffusion method, the detection limit of the T-2 toxin is 0.1  $\mu\text{g}/\text{disk}$ , and the range of measurement is in the interval 0.3 – 2.5  $\mu\text{g}/\text{disk}$ . Complemented by a previous preparative thin layer chromatographic step, the method is suitable for the investigation of the extracts of food and feed samples. On combining the separation by thin layer chromatography with microbiological development, a rapid procedure was developed for the semiquantitative determination of the T-2 toxin in the domain 0.1 – 2.5  $\mu\text{g}/\text{spot}$ .