J. Fd Hyg. Safety 10(4), 199 - 204(1995)

인산염이 *Fusarium sporotrichioides* M-1-1 성장과 T-2 toxin 생성에 미치는 영향

송재영 · 김일환* · 정덕화†
*경상대학교 식품공학과, *(주) 서도화학*

Effects of Polyphosphates on the Growth and T-2 Toxin Production of *Fusarium sporotrichioides* M-1-1

Jae-Young Song, Il-Hwan Kim* and Duck-Hwa Chung
*Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, *Seo-do Chemical Co.*

ABSTRACT — The antifungal effects of polyphosphates on the growth and T-2 toxin production of *Fusarium sporotrichioides* M-1-1 were investigated. The growth of the strain was significantly inhibited in the potatoes dextrose agar medium treated with 1.5% polyphosphates or more. When we checked T-2 toxin by the indirect competitive ELISA, the strain produced 11.25 μg/m*l* and 10.90 μg/m*l* levels of T-2 toxin in rice and corn containing 50% moisture contents, respectively. However, T-2 toxin was little detected in rice medium and corn medium with 1.5% polyphosphates addition for short(14 days) and prolonged incubation time(45 days). We also observed the destruction of cell wall and outflow of cell ingredients with 1% polyphosphates treatment to the strain. Therefore, moisture and polyphosphates greatly effected on the growth and T-2 toxin production of the strain.

Key words □ *Fusarium sporotrichioides*, Polyphosphates, T-2 toxin

곰팡이가 생성하는 대사산물인 mycotoxin은 오염된 농산물을 통하여 인간에게 여러가지 유해한 영향을 나타낼 뿐만 아니라 오염된 사료의 섭취로 인해 가축에게 장해를 주며, 장애를 받은 가축의 조직,[1] 우유,[2] 계란[3] 등에 잔류함으로써 인간에게 2차적인 장애를 초래하기도 한다. 한국인은 곰팡이를 이용한 발효식품과 곡류를 많이 이용하므로 곰팡이의 2차 대사산물인 mycotoxin에 노출될 위험성이 크다. 또한 근래에는 수입 자유화에 따라 대량의 식품과 사료가 수입되어 이들에 의한 곰팡이독의 오염여부가 식품위생상의 새로운 문제로 대두되고 있다. 이러한 mycotoxin중 T-2 toxin를 생산하는 곰팡이는 *Fusarium sporotrichioides*,[4] *F. poae*,[4] *F. nivale*,[5] *F. solani*[6] 등이 알려져 있고 Burmeister 등[7]은 땅콩에서 T-2 toxin을 분리하였으며, 그 후에도 많은 연구자들에 의하여 T-2 toxin이 곡물 및 사료의 오염원으로 검출되고 있다.[8] T-2 toxin은 동물에서는 단독 혹은 복합적으로 *Fusarium* 중독증(fusariotoxicosis)[9]을, 사람에서는 식중독성 무백혈구증(alimentary toxin aleukia:ATA)과 같은 질병을 일으킨다.[10] T-2 toxin이 실험동물에 미치는 영향은 사료 섭취량 감소, 성장률 저해,[11] 피부괴사,[12] 구토,[13] 설사, 신경장애,[14] 면역기능의 억제, 생식기관의 기능억제, 조혈기관의 장애[15]등으로 대별된다. 이러한 곰팡이독은 일반적으로 미량으로 존재하기 때문에 기기분석을 위해서는 많은 양의 시료가 필요하고, 분석 전의 전처리 조작들이 복잡하며, 더우기 GC-MS의 경우에는 기기의 단가가 고가이며, 전문인력을 필요로 하며, 다량의 유기용매를 사용하므로 실험자의 안전성이 문제되어 Hunter등[16] 및 Gendleff등[17]을 중심으로 특정 mycotoxin에 대해 감도 높은 항체를 동물의 체내에서 생성하여 이를 직접 곡류나 식품 및 동물조직 중의 오염된 mycotoxin을 분석하기 위한 방법으로 enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)법이 응용되어서 종래의 분석법에서 나타났던 단점들을 극복하게 되었다. 현재 이러한 유해 곰팡이의 생존 및 증식을 저해하려는 많은 연

†To whom correspondence should be addressed.

구가 행해져 왔으며 그중에서도 식품용제로 광범위하게 사용되고 있는 인산염은 배지나 식품에 첨가하였을 경우 일어나는 주요 화학적인 기작은 pH 감소, 금속이온의 해리 및 다가 음이온이 존재하는 용액 중 이온강도의 증가 등으로 항균효과에 대한 많은 연구가 이루어져 있다.[18,19] 따라서 본 연구는 곡류 가공품과 사료의 보존성을 향상시키기 위해 인산염을 이용하여 T-2 toxin 생성량과 *F. sporotrichioides* M-1-1의 생육 억제에 미치는 영향을 조사하고 형태학적인 변화를 전자현미경상으로 관찰하여 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

사용균주 및 배양방법

본 실험에서 T-2 toxin 생성균주로 Ueno 교수(일본 동경이과대학)로부터 분양받은 *Fusarium sporotrichioides* M-1-1를 사용하였고 macroconidia를 조제한 후 공시균주로 사용하였다. 먼저 공시균주를 PDA(potatoes dextrose agar, Difco) 평판배지에 접종하여 25°C에서 5일간 활성화시킨 후 1 mm ×4 mm의 크기로 agar plug를 만들어 CMC(Carboxymethyl cellulose 15 g, NH_4NO_3 1.0 g, KH_2PO_4 1.0 g, $MgSO_4$ $7H_2O$ 0.5 g, yeast extract 1.0 g, distilled water 1 *l*, pH 5.6)배지에 접종한 후 진탕배양 (280±10 rpm, 25°C, 5일)하여 멸균수를 첨가한 다음 Haemacytometer로 10^6 conidia/m*l*의 농도로 조절하고 -70°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

인산염의 이화학적인 특징

F. sporotrichioides M-1-1의 성장저해와 toxins 생성 실험에 사용한 인산염(polyphosphates)은 (주)서도 화학에서 개발한 제품으로 이화학적인 특징은 sodium acid polyphosphate의 물질로서 산성 영역의 $(NaPO_3)n$ 기본적인 화학식을 가지며 n=11 이상의 농축화합물이다. 또한 화학적 특성으로서 1% 용액의 pH는 1.8~2.2이고 P_2O_5함량이 70%이상이며 분자량이 1121.57로서 물에 비교적 잘 용해되지 않는 난용성 물질이다. 이물질은 cyclic phosphate가 아닌 polymer-phosphate로서 polymeta형의 혼합물인 특수 인산염이다.

인산염의 처리 및 곰팡이의 생육억제

실험균주에 대한 인산염(polyphosphates)의 농도, 배양기간에 따른 항균효과를 알아보기 위하여 멸균한 PDA배지에 인산염을 0, 0.5, 1, 1.5, 2%의 농도로 첨가하고 균을 접종하여 27°C에서 7일간 배양하면서 균의 생육정도를 측정하였으며, 쌀과 옥수수배지에서의 배양에서는 수분과 인산염 첨가가 toxin 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 쌀과 옥수수를 분쇄하여 20mesh로 거른 후 삼각 플라스크에 각각 20 g씩 첨가하여 121°C, 1기압에서 15분간 가압 멸균한 후 멸균수를 배지에 첨가하여 수분량을 10, 20, 30, 40, 50, 60%로 조절하고, T-2 toxin 생성균주의 macroconidia(10^6 conidia/m*l*)를 접종한 후, 28°C에서 2주간 배양한 다음 toxin 생성량을 측정하였다. 또한 수분과 인산염의 농도를 서로 달리했을 때 toxin 생성에 미치는 영향은 위와 같이 조제된 쌀과 옥수수배지에 수분량이 30, 40, 50%로 되도록 조정하고 인산염을 0, 0.5, 1, 1.5, 2%의 농도로 첨가하여 공시균의 toxin 생성량을 측정하였다. 장기간 배양은 쌀, 옥수수를 500 m*l* 삼각 플라스크에 각각 100 g씩 넣은 후 1기압하에 121°C에서 15분간 멸균시킨 후 인산염의 농도를 각각 0, 1, 2%로 첨가한 후 공시균을 접종하고 28°C에서 45일간 정치배양하면서 T-2 toxin의 생성량을 측정하였다.

T-2 toxin의 추출 및 정량

쌀, 옥수수배지에서 배양한 배양물을 살균한 다음 methanol 60 m*l*를 첨가하여 균질기로 마쇄하고 교반하여 유기용매층을 회수한 다음 speed vacuum concentrator로 농축시킨 후 메탄올 1 m*l*를 가하여 농축물을 용해시켜 PBS-Tween(0.05 M의 인산완충용액에 0.05% Tween 20을 녹인 용액)을 가하여 최종메탄올의 농도가 10%로 되게하여 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay) 분석을 위한 시료로 사용하였다. T-2 toxin의 정량은 Ohtani 등[20]의 방법에 준하여 ELISA를 실시하였다. 즉 T-2-HG-BSA를 coating buffer(carbonate buffer)에 녹여 96 well microplate에 100 μ*l* (100 ng/well)씩 분주하여 4°C에서 12시간 방치하고 coating 시킨 후 세척액(PBS-Tween)으로 4회 세척하였다. 그런 다음 비특이적 반응을 방지하기 위해 PBS에 녹인 0.1% ovalbumin을 well에 125 μ*l*씩 분주하여 4°C에서 12시간 방치한 후 세척액으로 4회 세척하였다. 세척한 plate에 표준 T-2 toxin 또는 분석시료 추출액과 1차 antibody (1:1000) 50 μ*l*를 well에 주입하고 다시 4°C에서 12시간 반응시켰다. 반응시킨 plate를 세척액으로 5회 세척하고 well에 goat anti-mouse IgG horseradish peroxidase(HRP) conjugate(Sigma Co.)를 10000배 희석한 용액을 100 μ*l*씩 분주하고 1시간 동안 실온에서 반응시킨 후 세척액으로 다시 6회 세척한 후 기질(TMBZ)용액 100 μ*l*를 분주하여 실온에서 30분 동안 발색시켰다. 푸른색으로 발색된 well에 2N-H_2SO_4용액을 50 μ*l*씩 넣어 반응을 정지시킨 다음 ELISA reader (450nm, Dynatech Lab., U.S.A)로 흡광도(O.D)를 측정하였다.

전자현미경(SEM)에 의한 toxin 생성균주의 형태학적

변화 관찰

인산염(polyphosphates)이 T-2 toxin 생성균주인 *F. sporotrichioides* M-1-1의 세포벽, 세포질 물질 및 생리기능에 어떠한 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 전자현미경 SEM(scanning electron microscopy)으로 실험균주의 형태학적인 변화를 관찰하였다. 즉, *F. sporotrichioides* M-1-1 균주를 0, 0.5, 1%의 인산염이 첨가된 각각의 PDB배지에 접종하여 28°C에서 48~60시간 동안 배양한 다음, 배양액 1 m*l*를 eppendorf tube에 옮긴 후 5,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 천천히 진탕하면서 멸균수로 2회 세척하였다. 다시 1 m*l*의 4% NBP(nutral buffered paraformaldehyde)를 가하여 4°C에서 48시간 동안 고정시킨 후, 0.015 M PBS를 1 m*l*를 가해 진탕하면서 2회 세척하고 무수알콜 30, 50, 70, 80, 90, 100%로 각각 30~60분 동안 진탕하여 탈수시키고 임계점 건조기로 건조한 후 대조구와 함께 인산염에 의한 균주의 외형학적 형태 변화를 관찰하였다.

결과 및 고찰

PDA(potatoes dextrose agar)에서 인산염 첨가에 따른 곰팡이의 생육변화

PDA 배지에서 인산염(polyphosphates)이 곰팡이의 생육에 미치는 영향을 알아보기 위하여 먼저 인산염의 농도를 각각 0, 0.5, 1, 1.5, 2%로 맞추어 28°C에서 배양하면서 곰팡이의 성장을 측정한 결과, *F. sporotrichioides* M-1-1은 인산염이 첨가되지 않은 PDA배지에서는 잘 성장한 반면에 인산염 0.5, 1% 첨가한 배지에서는 곰팡이 성장이 약간 억제되었다. 인산염이 1.5% 첨가된 배지에서는 0.2~0.3 cm의 생육이 있었으며 인산염이 2% 첨가된 배지에서의 생육은 완전히 저해되었다(Table 1).

Table 1. Inhibition of the growth and sporulation characteristics of Fusarium sporotrichioides M-1-1 in PDA treated with polyphosphates.

Phosphates(%)	Days at 28°C (cm)						
	1	2	3	4	5	6	7
0 (control)	0.9	2.5	3.9	5.9	6.6	p	p
0.5	0.5	1.3	2.0	2.8	4.2	4.9	5.1
1	+[a)]	0.4	0.7	0.8	1.0	1.1	1.1
1.5	−[b)]	−	−	+	+	0.2	0.3
2	−	−	−	−	−	−	−

a: (+): visible growth <1mm in diameter

b: (-): no visible growth

(p): entire plate covered by mold growth

쌀, 옥수수배지에서 수분량에 따른 toxin 생성량의 변화

수분함량을 달리하여 조제한 쌀, 옥수수배지에 macroconidia를 접종하여 28°C에서 2주간 배양한 후 수분량에 따른 toxin 생성량을 검토하였다. 이 때의 T-2 toxin생성량은 T-2 toxin-HG-BSA를 이용하여 Ohtani 등[20]의 방법에 준하여 indirect competitive ELISA에 의해서 실험한 결과, 기질의 발색정도의 차이는 Fig. 1과 같았으며 이를 ELISA reader로 O.D. 값을 측정하여 표준곡선을 작성한 후 시료에서의 T-2 toxin 분석에 활용하였다. 먼저, 각 수분량에 따른 toxin의 생성량은 Table 2와 같이 시료에서 수분량이 적은 10, 20%에서는 T-2 toxin이 생성되지 않았으나 30%의 수분에서는 쌀배지에 6.22 μg/m*l*, 옥수수배지에 5.71 μg/m*l*의 독소가 생성되어 짧은 기간 곡류에 곰팡이를 배양할 경우 낮은 농도의 수분량에서는 toxin 생성량이 어려운 것으로 나타났다. 이러한 결과로 수분의 량은 30% 이상으로 조절한 후 인산염의 첨가영향을 조사하였다.

수분농도와 인산염의 농도별 첨가에 다른 toxin의 변화

쌀, 옥수수배지에 수분을 30%, 40%, 50%로 고정시킨 후 인산염의 농도를 0, 0.5, 1, 1.5, 2%로 첨가하여 28°C에서

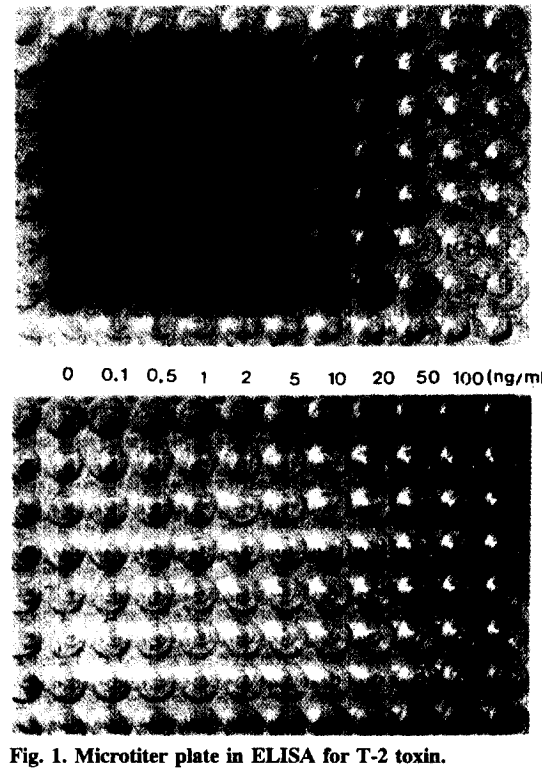

Fig. 1. Microtiter plate in ELISA for T-2 toxin.

Table 2. Effects of moisture contents on the production of T-2 toxin in cultured rice and corn.

Toxin	Media	Moisture (%)					
		10	20	30	40	50	60
T-2 toxin	rice	nd	nd	6.22	9.01	11.25	14.50
	corn	nd	nd	5.71	8.70	10.90	13.75

nd: none detected

Table 3. Effects of polyphosphates concentration on the production of T-2 toxin in cultured rice and corn with moisture contents

Moisture	Media	Polyphosphates (%)				
		0	0.5	1	1.5	2
30%	rice	6.20	1.75	0.32	0.08	nd
	corn	5.75	1.20	0.12	nd	nd
40%	rice	9.47	3.53	0.75	0.29	nd
	corn	8.55	3.22	0.68	0.13	nd
50%	rice	11.25	4.72	0.88	0.07	nd
	corn	10.90	4.82	0.81	0.04	nd

nd: none detected

2주간 배양하면서 수분과 인산염의 농도별 첨가에 따른 toxin 함량을 조사하였다. 그 결과, Table 3에서 보는 바와 같이 수분 30%를 함유한 배지에서는 쌀배지보다 옥수수배지에서 toxin의 양이 적게 검출되었으며, 인산염을 0.5% 함유된 배지에서는 toxin의 양이 현저히 저해되었고, 1.5%의 인산염 첨가시에는 쌀배지에서만 T-2 toxin이 0.08 μg/ml가 검출되었다. 한편, 인산염의 농도가 2% 함유된 배지에서는 T-2 toxin이 전혀 검출되지 않았다. 쌀, 옥수수배지에 수분을 40%로 고정한 경우 인산염을 0.5% 첨가한 배지에서는 대조구와 현저한 차이가 나타났고 1%의 인산염을 함유한 배지에서 toxin의 양은 급격히 감소하였다. 반면에 인산염의 농도가 1.5% 첨가된 쌀배지에서 0.29 μg/ml, 옥수수배지에서 0.13 μg/ml의 T-2 toxin이 생성되었지만, 2%의 인산염 처리시에는 toxin은 검출되지 않았다. 수분을 50%로 고정시킨 후 인산염의 농도에 따른 T-2 toxin을 분석한 결과에서는 대조구에서 T-2 toxin은 쌀배지에서 11.25 μg/ml, 옥수수배지에서 10.90 μg/ml이 생성되었지만 0.5%의 인산염 처리시에는 56.4~58.7%로 감소되었고, 1% 처리시 92.2~92.6%의 감소가 있었으며 1.5% 이상의 인산염 처리시에는 toxin은 거의 검출되지 않았다. 이상과 같이 T-2 toxin 생성의 감소는 인산염에 의하여 배지내 영양분의 킬레이트화로 인한 고갈,[19] pH 감소,[18] 세포벽과 세포막의 파괴[21]로 균의 증식이 더욱 감소하기 때문인 것으로 사료되었다.

Table 4. Production of T-2 toxin in cultured rice and corn media treated with polyphosphates at 28 °C for 45 days.

Toxin	Media	Polyphosphates (%)		
		0	1	2
T-2 toxin (μl/ml)	rice	332	49	nd
	corn	306	37	nd

nd: none detected

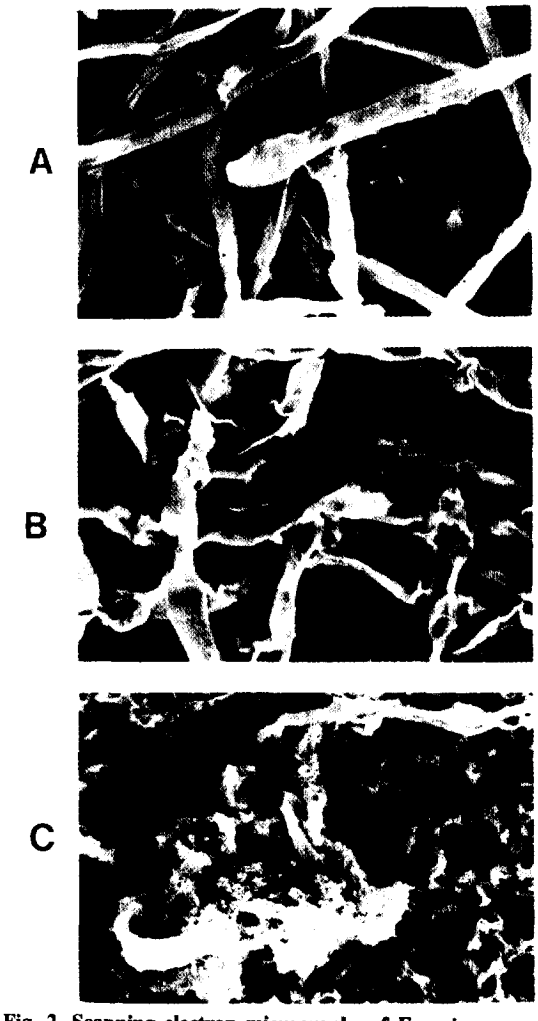

Fig. 2. Scanning electron micrographs of *Fusarium sporotrichioides* M-1-1
A: control (x 3000)
B: Treated with polyphosphate (0.5%)
C: Treated with polyphosphate (1%)

장기간 배양과 toxin 생성

500 m*l* 삼각 플라스크에 분쇄한 쌀, 옥수수 100 g과 인산염의 농도를 각각 0, 1, 2%로 첨가한 다음 macroconidia를 접종하여 28°C에서 45일간 정치배양하면서 생성된 toxin량을 살펴본 결과는 Table 4에서 보는 바와 같이 배지량을 많이 하고 배양기간을 길게 할 경우, 인산염의 농도에 의한 toxin 저해가 뚜렷이 나타나 대조구에서 toxin의 양이 쌀배지에서 332 μg/m*l*, 옥수수배지에서는 306 μg/m*l*를 생성한 반면, 1%의 인산염 처리시에는 49 μg/m*l*과 37 μg/m*l*의 T-2 toxin이 각각 생성되었지만 인산염 2% 처리시에서는 toxin이 전혀 생성되지 않았다.

전자현미경(SEM)에 의한 toxin 생성균주의 형태학적 변화

T-2 toxin 생성균주인 *F. sporotrichioides* M-1-1를 PDB 배지에서 인산염을 처리하지 않은 대조구와 인산염을 0.5%와 1%를 처리하고 배양한 후 전자현미경(SEM) 검경시료로 조제하여 검경한 결과는 Fig. 2와 같았다. 그 결과 0.5%의 인산염 처리 경우 균의 세포벽은 영향이 적었지만 균의 성장부위에 주름이 생기고 균사의 꼬임이 형성되었고, 인산염을 1% 처리시에서는 균의 세포벽이 파괴되고 균의 외형에 미세한 성장부위의 균사 꼬임이 형성되는 것을 알 수 있었다. 이것은 항균제의 경우 주로 작용하는 부위가 세포벽과 세포 소기관이므로 항균제를 처리한 균주들은 세포벽이 파괴되어 세포내 물질이 세포밖으로 용출되어 나와서 균주가 사멸한다는 연구보고[18]와 비슷한 결과로서 인산염의 경우도 항곰팡이 작용에 의해 세포벽이 파괴되어 세포내 물질이 소실되는 것으로 알려져 있다.[21]

이상의 실험결과로 볼때 곰팡이 성장과 toxin의 생성은 배지의 수분함량에 많은 영향을 받는다는 것을 알 수 있었으며, 인산염은 곰팡이 성장저해는 물론 toxin생성에 많은 저해를 주는 것을 알 수 있었다. 따라서 본 실험에 사용된 인산염(polyphosphates)은 기존의 식품보존제와 항균작용이 비슷할 뿐만 아니라 인체에 미치는 영향이 적어 식품제조용제로 뿐만 아니라 보존제로 활용될 수 있어 식품이나 사료에서의 활용에 대한 다양한 연구가 필요하다고 사료된다.

국문요약

Fusarium sporotrichioides M-1-1 성장과 T-2 toxin 생성에 미치는 인산염의 영향을 조사한 결과 1.5% 이상의 인산염을 potatoes dextrose agar 배지에 처리했을 경우 곰팡이의 생육이 거의 나타나지 않았다. 또한 50%의 수분함량을 가진 쌀과 옥수수 배지에서 indirect competitive ELISA로 T-2 toxin 생성량을 측정한 결과, 각각 11.25 μg/m*l*과 10.90 μg/m*l* 생성되었으나, 1.5% 이상의 인산염을 첨가한 단기간 배양(14일) 및 장기간 배양(45일)에서는 toxin이 거의 검출되지 않았다. 한편 1%의 인산염의 처리에 의하여 곰팡이는 주로 세포벽의 손상과 세포 내 용물이 외부로 유출되는 것으로 관찰되었다. 따라서 수분함량과 인산염은 균 성장 및 T-2 toxin 생성량에 큰 영향을 미쳤다.

참고문헌

1. Mirocha, C. J.: Metabolism and residue of trichothecene toxins in animals and plant system. In Mycotoxins and Phytotoxins, Elsevier Science Publishers, Amsterdam., 409-420 (1986).
2. Robison, T. S., Mirocha, C. J., Kurtz, H. J., Behrens, J. C., Chi, M. S., Weaver, G. A. and Nystrom, S. D.: Transmission of T-2 toxin into bovine and procine milk. *J Dairy Sci.*, **62**, 637-641 (1979).
3. Mirocha, C. J.: Metabolism and transmission of T-2 toxin and its metabolites in tissue, milk and eggs from cattle and eggs poultry. *Final Report to Bureau Veterinary Medicine, FDA, USA.*, **223**(78), 7037-7040 (1979).
4. Ueno, Y., Sato, N., Ishii, K., Sakai, K. and Enomoto, M.: Toxicological approaches to the metabolites of *Fusaria*. V. Neosolaniol, T-2 toxin and butenolide toxin metabolites of *Fusarium sporotrichioides* NRRL 3510 and *Fusarium poae* 3280. *Japan J. Exp. Med.*, **42**, 461-472 (1972).
5. Yates, S. G., Tookey, H. L., Ellis, J. J. and Burkhardt, H. J.: Mycotoxins produced by *Fusarium nivale* isolated from tall fescue (Festuca arundinacea schreb). *Phytochemistry.*, **7**, 139-146 (1968).
6. Sakai, K., Ueno, Y., Ishii, K., Kanaeda, S., Tsunoda, H., T. and Enomoto, M.: Toxicological approaches to the metabolites of Fusaria. IV. Microbial survey on "bean-hull poisoning of hores" with the isolation of toxic tri-

chothecenes, nesolanol and T-2 toxin of *Fusarium solani* M-1-1. *Japan J. Exp. Med.*, **42**, 187-203 (1972).

7. Burmeister, H. R., Ellis, J. J. and Yates, S. G.: Correlation of biological to chromatographic data for two mycotoxins elaborated by *Fusarium*. *Appl. Microbiol.*, **21**, 673-675 (1971).
8. Scott, P. M.: The natural occurrences of trichothecenes. In Trichothecene Mycotoxicoses., Ed Beasley, V. R., CRC Press Inc., *Boca Raton.*, **10** (1989).
9. Plus, R. and Greenway, J. A.: Fusariotoxicosis from barley in British Colombia II. Analysis and toxicity of suspected barley. *Can. J. Comp. Med.*., **40**, 16-19 (1976).
10. Leonov, A. N.: Current view of chemical nature of factors responsible foralimentary toxic aleukia. In Mycotoxins in Human and Animals Health, Pathotox Publications Inc. Illinois, 323-328 (1977).
11. Wyatt, R. D., Colwell, W. M., Hamilton, P. B. and Burmeister, H. R.: Neural disturbances in chickens caused by dietary T-2 toxin. *Appl. Microbiol.*, **26**, 757-761 (1973).
12. Chi, M., Mirocha, C. J., Kurtz, H. J., Weaver, G., Bates, F., Shimoda, W. and Burmeister, H. R.: Acute toxicity of T-2 toxin in broiler chicks and laying hens. *Poultry Sci.*, **56**, 103-106 (1977).
13. Ellison, R. A. and Kotsonis, F. N.: T-2 toxin as an emetic factor in muldy corn. *Appl. Microbiol.*, **26**, 540-543 (1973).
14. Chi, M., Mirocha, C. J., Kurtz, H. J., Weaver, G., Bates, F., Shimoda, W.: Subacute toxicity of T-2 toxin in boiler chicks. *Poultry Sci.*, **56**, 306-313 (1977).
15. Richard, J. L., Cysewki, S. J., Pier, A. C. and Booth, C. D.: Comparison of effects of dietary T-2 toxin on growth, Immunogenic organs, antibody formation and pathogenic changes in turkeys and chikens. *Am. J. Vet. Res.*, **39**, 1674-1679 (1978).
16. Hunter, K. W., et. al.: Preparation and characterization of monoclonal antibodies to the trichothecene mycotoxin T-2. *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 168-172 (1985).
17. Gendloff, E. H.: Production of a monoclonal antibody to T-2 toxin with strong cross-reactivity to T-2 metabolites. *Phytopathology.*, **77**, 57-59 (1987).
18. Post, F. J., Krishnmurty, G. B. and Flanagan, M. D.: Influence of sodium hexametaphosphate on selected bacteria.. *Appl. Microbiol.*, **11**, 430-435 (1963).
19. Iran, R. R., and Morgentaler, W. W.: Iron sequestation by polyphosphates. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **40**, 283-285 (1963).
20. Ohtani, K., Kawamura, O. and Y. Ueno.: Improved preparation of T-2 toxin-protein conjugate. *Toxico.*, **26**, 1107-1111 (1988).
21. Fisternberg, E.R.: Inhibition of Moraxela-Acinebacter cells by sodium phosphates and sodium chloride. *J. Food Sci.*, **46**, 579-582 (1981).