

吴琴燕, 梁红芳, 张文文, 等. UPLC-MS/MS 法检测禾谷镰刀菌中 6-磷酸海藻糖和海藻糖的色谱柱选择[J]. 江苏农业学报, 2021, 37( 5 ): 1299-1304.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2021.05.027

## UPLC-MS/MS 法检测禾谷镰刀菌中 6-磷酸海藻糖和海藻糖的色谱柱选择

吴琴燕<sup>1</sup>, 梁红芳<sup>1</sup>, 张文文<sup>2</sup>, 温小林<sup>1</sup>, 朱建飞<sup>1</sup>, 徐超<sup>1</sup>, 庄义庆<sup>1,3</sup>

(1. 江苏丘陵地区镇江农业科学研究所中心实验室, 江苏 句容 212009; 2. 镇江市农业农村局, 江苏 镇江 212400; 3. 江苏省农业科学院中心实验室, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 选择 6-磷酸海藻糖(T6P)和海藻糖(Tre)在超高效液相色谱 UPLC 分离中的最佳色谱柱。对 T6P 和 Tre 在 C<sub>18</sub>柱、Kinetex Hilic 柱、T3 柱、Luna<sup>®</sup> NH2 柱、Cogent diamond Hydride 柱和 BEH Amide 柱 6 种色谱柱中的色谱行为进行对比研究。结果表明, T6P 和 Tre 在 Luna<sup>®</sup> NH2 柱和 T3 柱中分离效果较好, 分别建立 Luna<sup>®</sup> NH2 柱和 T3 柱的 UPLC-MS/MS 检测方法, 其检出限分别为 1.25~5.10 μg/L 和 12.75~15.62 μg/L, 定量限分别为 3.75~15.60 μg/L 和 38.25~52.03 μg/L, 回收率分别为 71.5%~85.7% 和 82.8%~95.6%, 相对标准差分别为 3.8%~8.5% 和 2.7%~3.3%, Luna<sup>®</sup> NH2 柱的灵敏度高, T3 色谱柱的回收率高、稳定性好。2 种色谱柱均满足禾谷镰刀菌中 T6P 和 Tre 同时检测的要求。

**关键词:** 超高效液相色谱-串联质谱; 禾谷镰刀菌; 6-磷酸海藻糖; 海藻糖; 色谱柱

**中图分类号:** O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2021)05-1299-06

## Selection of chromatographic column for trehalose-6-phosphate and trehalose detection in *Fusarium graminearum* by UPLC-MS/MS

WU Qin-yan<sup>1</sup>, LIANG Hong-fang<sup>1</sup>, ZHANG Wen-wen<sup>2</sup>, WEN Xiao-lin<sup>1</sup>, ZHU Jian-fei<sup>1</sup>, XU Chao<sup>1</sup>, ZHUANG Yi-qing<sup>1,3</sup>

(1. Central Laboratory of Zhenjiang Institute of Agricultural Sciences in Hill Area of Jiangsu Province, Jurong 212009, China; 2. Zhenjiang Agricultural and Rural Bureau, Zhenjiang 212400, China; 3. Central laboratory of Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** The best chromatographic column of trehalose-6-phosphate (T6P) and trehalose (Tre) in ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) separation was selected. The chromatographic behaviors of T6P and Tre in six kinds of chromatographic columns (C<sub>18</sub> column, Kinetex HILIC column, T3 column, Luna<sup>®</sup> NH2 column, Cogent diamond hydride column and BEH Amide column) were compared. The results showed that Amino column and T3 column were suitable for the detection of T6P and Tre according to the chromatographic retention effect. UPLC-MS/MS methods for T6P and Tre in *Fusarium graminearum* were established based on Luna<sup>®</sup> NH2 column and T3 column, respectively. The detection limits of Luna<sup>®</sup> NH2 column and T3 column were 1.25~5.10 μg/L and 12.75~15.62 μg/L, the limits of quantification were 3.75~15.60 μg/L and 38.25~52.03 μg/L, the recoveries were 71.5%~85.7% and 82.8%~95.6%, the relative standard deviations

(RSD) were 3.8%~8.5% and 2.7%~3.3%, respectively.

The method established by Luna<sup>®</sup> NH2 column has high sensitivity, and the method established by T3 column has high recovery rate and good stability. Luna<sup>®</sup> NH2 column and T3 column can be used for the simultaneous detection of T6P and Tre in *Fusarium graminearum*.

收稿日期: 2021-03-25

基金项目: 镇江市科技计划社会发展项目 (SH2020019)

作者简介: 吴琴燕 (1981-), 女, 湖北咸宁人, 硕士, 副研究员, 主要从事农产品质量安全与色谱分析研究。(E-mail) wuqin-yan1234@163.com

通讯作者: 庄义庆, (E-mail) 314344170@qq.com

**Key words:** ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); *Fusarium graminearum*; trehalose-6-phosphate; trehalose; chromatographic column

禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)是小麦、玉米等农作物中最常见的病原菌<sup>[1-5]</sup>,该菌致病,不仅导致农作物产量下降,同时产生呕吐毒素,严重影响农产品的品质 and 安全性<sup>[6-8]</sup>。海藻糖(Trehalose, Tre)的生物合成途径对真菌的致病力有至关重要的作用,据报道,禾谷镰刀菌中敲除海藻糖合成途径的相关基因,禾谷镰刀菌将丧失海藻糖合成能力,继而无法产生孢子,呕吐毒素合成能力下降 86%<sup>[9-10]</sup>。6-磷酸海藻糖(Trehalose-6-phosphate, T6P)是 Tre 生物合成的中间体,是植物和真菌中必不可少的信号代谢物<sup>[11-14]</sup>,对禾谷镰刀菌中 T6P 和 Tre 进行定量检测,可以为禾谷镰刀菌生长和海藻糖合成途径研究提供支撑。

Tre 属于糖类化合物,有较为成熟的检测方法。T6P 属于酸性强糖,在微生物中含量极低,目前主要采用气质联用(GC-MS)<sup>[10]</sup>和液质联用(LC-MS)<sup>[15-16]</sup>2 种方法检测,GC-MS 需要衍生反应,前处理复杂,检测时间长,LC-MS 检测时间短,样品前处理简单,但主要采用单级杆质谱扫描,母离子定性和定量检测,假阳性概率较大<sup>[17]</sup>。另外,由于 T6P 具有强酸性性质,为强极性难保留和难分离的化合物,需采用亲水模式分离,对色谱柱要求较高,据报道 Dionex IonPac AS11-HC column (250.0 mm×2.0 mm, 9.0 μm)<sup>[16]</sup>、SIELC Primesep SB column (4.6 mm×150.0 mm, 5.0 μm)<sup>[17]</sup>、Waters Acquity BEH amide column (3.0 mm×100.0 mm, 1.7 μm)<sup>[15]</sup>、ZIC-HILIC HPLC column (2.1 mm×150.0 mm, 3.5 μm)<sup>[18]</sup>和 AQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm×50.0 mm, 1.7 μm)<sup>[19]</sup>均可用于检测磷酸糖,除 Waters Acquity BEH amide column 可以达到较大的分离度,具有较好的分离效果,其他色谱柱均不同程度存在分离度低、色谱响应值低、色谱峰拖尾、色谱柱使用寿命短等问题。本研究根据 T6P 的强极性亲水性,重新对色谱柱进行筛选,选择合适的色谱柱,并建立同时检测禾谷镰刀菌中的 T6P 和

Tre 的 UPLC-MS/MS 方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 仪器与试剂

Agilent 1290 型 UPLC 系统, ABSciex 4500 质谱检测器, 电子天平(XP105DR 型, 赛多利斯科学仪器有限公司产品), AWL-020I-P 型超纯水系统(艾科浦仪器有限公司产品), KQ-250E 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司产品), H2050R 型医用离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司产品), DW-86L828J 型超低温冰箱(海尔生物医疗股份有限公司产品), 涡旋混匀器(江苏海门其林贝尔仪器有限公司产品)。

甲醇和乙腈(色谱纯, 美国默克公司产品), 乙酸铵(纯度≥98%, 德国 CNW 公司产品)。T6P 和 Tre 购自 sigma-aldrich 贸易有限公司, 质谱用水为屈臣氏蒸馏水。

### 1.2 分析条件

色谱柱: Agilent C18 色谱柱(50.0 mm×2.1 mm, 1.7 μm)、Phenomenex, Kinetex Hilic 色谱柱(100.0 mm×2.1 mm, 1.7 μm)、Waters Acquity UPLC HSS T3 Column (100.0 mm×3.0 mm, 1.7 μm)、Phenomenex luna® NH2 100 Å (100.0 mm×2.0 mm, 3.0 μm)、Cogent diamond Hydride 色谱柱(150.0 mm×2.1 mm, 2.2 μm)和 ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm×100.0 mm, 1.7 μm), 柱温 40 °C, 进样体积 1 μl, 流动相、洗脱梯度和流速根据色谱柱特性确定。

离子源: 电喷雾离子源; 扫描方式: 负离子切换扫描; 检测方式: 质谱多反应监测(MRM); 气帘气压力: 40 kPa; 电喷雾电压: -4 500 kPa; 离子源温度: 550 °C; 雾化气压力: 65 kPa; 加热辅助气压力: 65 kPa; 驻留时间: 40 ms。其他优化的质谱条件见表 1。

表 1 T6P 和 Tre 的质谱多反应监测质谱参数

Table 1 Mass spectrometric parameters of trehalose-6-phosphate (T6P) and trehalose (Tre) in multiple reaction monitoring (MRM)

化合物	分子式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 (V)	碰撞能 (V)
T6P	C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> O <sub>14</sub> P	421.2	241.1, 79.1 *	-110	-35, -35
Tre	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	341.0	178.8 *, 118.9	-95	-19, -25

2 个子离子同时定性, 带 \* 号为定量离子。

1.3 样品制备

将供试 PH-1 禾谷镰刀菌(由江苏省农业科学院食品质量安全检测研究所提供)置于绿豆汤液体培养基中,在 28 ℃、140 r/min 条件下培养 7 d,过滤去除菌丝后,离心浓缩成为 1 ml 1×10<sup>5</sup> 个的孢子液备用。将孢子液接种于马铃薯液体培养基中,每瓶接种 1 ml,28 ℃、140 r/min 震荡培养 7 d 后,过滤取菌丝,采用去离子水清洗 3 次后,烘干,-20 ℃ 储存待测。

准确称取菌丝样品 0.04 g 于 15 ml 离心管中,加入 4 ml 去离子水,浸泡 1 h 后,采用高速匀浆机(上海沪析实业有限公司产品)匀浆,加入 4 ml 甲醇后,-80 ℃ 冷冻,用超声波清洗机(南京先欧仪器制造有限公司产品)超声解冻破壁 30 min,离心,取上清液,待测。

1.4 测定指标

1.4.1 线性范围 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱检测时,T6P 的质量浓度为 31.25 μg/L、62.50 μg/L、125.00 μg/L、250.00 μg/L、500.00 μg/L、1 000.00 μg/L,Tre 的质量浓度为 3.9 μg/L、7.8 μg/L、15.6 μg/L、31.3 μg/L、62.5 μg/L、125.0 μg/L、250.0 μg/L;Phenomenex luna<sup>®</sup> NH2 柱检测时,T6P 和 Tre 的质量浓度均为 3.9 μg/L、7.8 μg/L、15.6 μg/L、31.3 μg/L、62.5 μg/L、125.0 μg/L、250.0 μg/L,按照优化后的色谱条件,对每个点重复测定 3 次。以质量浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,以标准曲线的第一个和最后一个点的质量浓度作为线性范围。

1.4.2 检出限与定量限 考虑仪器的背景噪音,采

用基线噪音分析方法,取标准曲线最低质量浓度试样测出的信号与噪声信号进行比较,将信噪比 3:1 时相应的质量浓度确定为检出限,将信噪比 10:1 时相应的质量浓度确定为定量限<sup>[20]</sup>。

1.4.3 准确度与精密度 分别在试样中加入 T6P 和 Tre 的标准工作液,在重复性测定条件下对每个添加质量浓度测定 6 次,计算回收率和相对标准偏差(RSD)。回收率=(实际浓度-试样原始浓度)/标样浓度×100%。

2 结果与分析

2.1 T6P 色谱柱的筛选

T6P 具有亲水性,为强酸性糖,极性较强。色谱柱需同时适合检测糖类和强极性物质。未经过衍生分离糖类的常用色谱柱有氨基柱和酰胺柱,这些类型的色谱柱稳定性、寿命以及分离重现性等方面性能均不佳<sup>[21-22]</sup>;Phenomenex,Kinetex Hilic 柱采用强极性材料作为固定相,能对极性物质产生氢键、静电作用,表现出较强的保留特性,适合极性和亲水化合物的检测<sup>[23]</sup>;Cogent diamond Hydride 亲水柱适合糖类、有机酸等高级化合物,是 MicroSolv 公司推荐的专用磷酸糖分离色谱柱。Agilent C18 柱为疏水反向色谱柱,极性较强的样品保留较弱,但蒋卫杰等<sup>[19]</sup>利用 C18 柱实现了 T6P 的色谱分离;Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱采用三官能团键合和封端技术,可以耐受 100% 水相,对极性化合物有良好的保留。本研究考虑到 T6P 的亲水性质,并参考文献[15]~[19],筛选出如表 2 所示的 6 种不同类型的色谱柱进行 T6P 的测定。

表 2 T6P 色谱柱的筛选

Table 2 Screening of chromatographic columns for the detection of T6P

序号	色谱柱	分离模式	适宜分析物质	选择依据
1	C18 柱(Agilent C18 柱)	反向模式	分析弱极性物质	参考文献[19]
2	Hilic 柱(Phenomenex,Kinetex Hilic 柱)	亲水模式	分离极性、亲水性的小分子目标物	分离原理适合,参考文献[18]
3	Diamond-Hydride 柱(Cogent diamond Hydride 柱)	亲水模式	极性化合物	分离原理适合,色谱柱厂家推荐
4	Amide 柱(ACQUITY UPLC BEH Amide 柱)	亲水模式	反向色谱不能保留的极性酸、碱和中性化合物	分离原理适合,参考文献[15]
5	Luna <sup>®</sup> NH2 柱(Phenomenex luna <sup>®</sup> NH2 柱)	亲水模式	极性化合物	分离原理适合
6	T3 柱(Waters Acquity UPLC HSS T3 柱)	反向亲水相互模式	极性化合物	分离原理适合

根据表 2 中色谱柱不同的分离机理,选择适合

T6P 分离的色谱柱的流动相和检测条件,比较 T6P

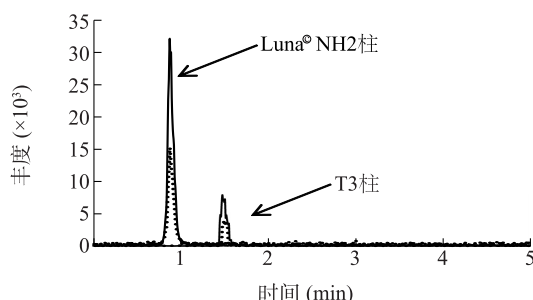
在 6 种色谱柱上的保留情况,如表 3 所示,采用 Hilic 柱和 Diamond -Hydride 柱时,T6P 未出峰,说明磷酸糖极性太强,在 Hilic 和 Diamond -Hydride 色谱柱上出现强保留,这 2 种色谱柱不适合 T6P 的检测。Amide 柱检测柱压大,T6P 的色谱峰严重拖尾,色谱柱使用 200 个样品后,T6P 出现强保留,该色谱柱无法继续用于检测 T6P,磷酸基团对 Amide 柱损耗较大。C18 柱的 T6P 保留较弱,T6P 在 2 min 左右无

规则流出,与检测原理相符,疏水反向色谱柱不适合极性物质分离。Luna<sup>®</sup> NH2 柱和 T3 柱,T6P 的保留效果较好,50  $\mu\text{g/L}$  的 T6P 通过 Luna<sup>®</sup> NH2 柱检测响应强度约为  $3.5 \times 10^4$  cps,而 1 000  $\mu\text{g/L}$  的 T6P 利用 T3 柱检测时响应值只有  $1 \times 10^4$  cps,T6P 利用 T3 色谱柱检测响应强度远低于 Luna<sup>®</sup> NH2 柱(图 1);Tre 利用 Luna<sup>®</sup> NH2 柱和 T3 柱这 2 种色谱柱检测时,响应值无显著差异(图 2)。

表 3 T6P 检测过程色谱柱的选择和 UPLC 条件优化

Table 3 Summary of optimization for columns and UPLC contions to detect T6P

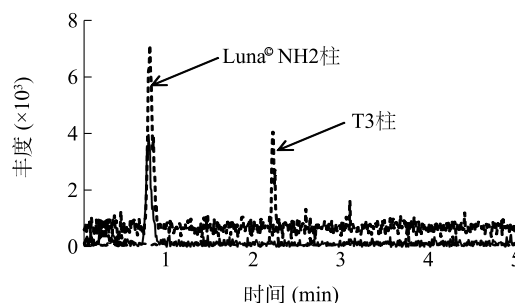
序号	谱柱	流动相	梯度	流速 (ml/min)	结果
1	C18 柱	A: 5 mmol/L 乙酸铵;B: 乙腈	考察各种梯度	0.20	无规则峰,低响应
2	Hilic 柱	A: 5 mmol/L 乙酸铵;B: 乙腈	考察各种梯度	0.40	强保留,无峰
3	Diamond -Hydride 柱	A: 5 mmol/L 乙酸铵;B: 乙腈	考察各种梯度	0.40	强保留,无峰
4	Amide 柱	A: 20% 乙腈(包含 0.1% 氨水,体积分数); B: 80% 乙腈(包含 0.1% 氨水,体积分数)	考察各种梯度	0.13	T6P 拖尾峰严重,系统压力高
5	luna <sup>®</sup> NH2 柱	A: 体积分数为 0.01% 氨水;B: 乙腈	70% A 等度洗脱	0.40	T6P 出峰
6	T3 柱	A: 5 mmol/L 乙酸铵;B: 乙腈	0~3 min 100% A, 3~5 min 10% A, 5~8 min 100% A	0.25	T6P 出峰



Luna<sup>®</sup> NH2 柱 T6P 质量浓度为 50  $\mu\text{g/L}$ ,T3 色谱柱 T6P 质量浓度为 1 000  $\mu\text{g/L}$ ,虚线离子对为 421.2/241.1,实线离子对 421.2/79.1。

图 1 T6P 标准溶液的 MRM 色谱图

Fig.1 MRM chromatogram of T6P standard solution



Tre 质量浓度为 50  $\mu\text{g/L}$ ,虚线离子对为 341.0/178.8,实线离子对 341.0/118.9。

图 2 Tre 标准溶液的 MRM 色谱图

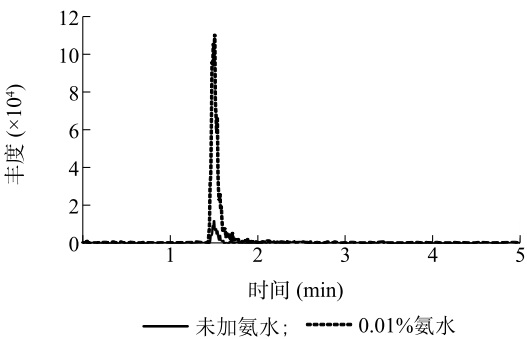
Fig.2 MRM chromatogram of Tre standard solution

## 2.2 色谱质谱中流动相的优化

质谱检测过程中水相含量高,不利于液滴雾化和脱溶剂化,通常需要降低流速,增加脱溶剂化气流和温度,来获得较好的离子化效率。本研究,在脱溶剂化气流和温度较高的情况下,T3 柱采用了 100% 的水相影响了 T6P 的离子化效率,是其检测响应强度远低于 Luna<sup>®</sup> NH2 柱的主要原因,降低流速使 T6P 色谱峰拖尾严重,因此考虑在流动相中添加氨水,可以适当的增强离子化效率。本研究使用

0.01% 氨水为水相,发现 T6P 的响应提高了 10 倍(图 3),但是其响应值仍远低于 Luna<sup>®</sup> NH2 柱。T3 色谱柱的 pH 适应范围为 2~8,水相中加入 0.01% 氨水后,pH 值接近 8,靠近 T3 柱的极限值,但其使用寿命仍远长于 Luna<sup>®</sup> NH2 柱。Luna<sup>®</sup> NH2 柱的氨基容易流失,造成柱效下降,1 根色谱柱检测磷酸糖平均寿命为 200~300 个样品,T3 柱使用寿命长,响应值较低,因此需综合考虑检测成本、样品中 T6P 的含量,选择合适的色谱柱进行测定。





T6P 质量浓度为1 000 μg/L,离子对为 421. 2/79. 1。

图3 氨水对 T6P 响应值的影响

Fig.3 Effects of ammonia on response value of T6P

2.3 线性范围与检出限

如表 4 所示,T6P 和 Tre 通过 Luna® NH2 柱时,在4.25~250. 00 μg/L的线性范围内呈现良好的线性关系,通过 T3 柱时在31.25~1 000.00 μg/L的范围内呈现良好的线性关系;另外,通过 Luna® NH2 柱的检出限为1.25~5. 10 μg/L,远低于 T3 柱(12.75~15. 63 μg/L); Luna® NH2 柱的定量限为3.75~15. 60 μg/L,也低于 T3 柱(38.25~52. 03 μg/L),Luna® NH2 柱的灵敏度高于 T3 柱,2 种色谱柱的决定系数均在 0.99 以上,均符合实际分析的要求。

表 4 T6P 和 Tre 的标准曲线、线性范围、决定系数、检出限和定量限

Table 4 Standard curve, linear range, determination coefficient, detection limit and quantitative limit of T6P and Tre

色谱柱	化合物	标准曲线方程	线性范围 (μg/L)	决定系数 (R <sup>2</sup> )	检测限 (μg/L)	定量限 (μg/L)
Luna® NH2 柱	T6P	$Y=1\,247.60x+7\,920.40$	4.25~250.00	0.992 44	1.25	3.75
T3 柱	T6P	$Y=119.35x-2\,471.30$	31.25~1 000.00	0.990 02	15.63	52.03
Luna® NH2 柱	Tre	$Y=284.73x+7\,452.14$	4.25~250.00	0.999 45	5.10	15.60
T3 柱	Tre	$Y=74.56x-692.20$	31.25~1 000.00	0.999 42	12.75	38.25

2.4 回收率和精密度

准确称取禾谷镰刀菌 40 mg,添加一定质量浓度的标准品溶液后,每个质量浓度 4 次重复,计算该方法的回收率和相对标准差,结果(表 5)表明,利用 Luna® NH2 和 T3 2 种色谱柱,在 3 个加标水平下,T6P 的回收率分别为71.5%~85.7%和83.7%~95.6%,相对标准差为3.8%~6.2%和2.7%~3.3%;Tre 的回收率分别为 72.4%~82.3%和 82.8%~

84.8%,相对标准差为4.5%~8.5%和2.8%~3.2%;与 Luna® NH2 柱相比,T3 柱的回收率高,相对标准差低,说明 T3 柱的稳定性优于 Luna® NH2 柱。利用 Luna® NH2 和 T3 2 种色谱柱检测出禾谷镰刀菌 pH-1 中 T6P 含量分别为 52.6 μg/g和 60.5 μg/g,Tre 含量为 4.4 mg/g和 5.4 mg/g,2 种色谱柱检测禾谷镰刀菌 pH-1 中 T6P 和 Tre 含量无显著差异,均可用于检测禾谷镰刀菌 pH-1 中 T6P 和 Tre 含量。

表 5 回收率和精密度试验结果

Table 5 Experimental results of recovery and precision

色谱柱	化合物	加标量(μg/kg)	回收率(%)	相对标准差(%)
Luna® NH2	T6P	10.0、80.0、250.0	71.5、79.2、85.7	5.4、6.2、3.8
T3 柱	T6P	62.5、500.0、1 000.0	85.9、95.6、83.7	3.0、2.7、3.3
Luna® NH2	Tre	10.0、80.0、250.0	72.4、80.2、82.3	8.5、4.5、5.6
T3 柱	Tre	10.0、80.0、250.0	82.8、83.2、84.8	3.2、2.8、3.0

3 结 论

本研究根据 T6P 的亲水性和强极性特点,对 6 种不同类型色谱柱进行筛查,确定了 Luna® NH2 柱

和 T3 柱同时适合 T6P 和 Tre 2 种化合物 UPLC-MS/MS 检测,分别建立利用 2 种色谱柱同时检测禾谷镰刀菌中 T6P 和 Tre 的方法,发现 Luna® NH2 柱的灵敏度高,T3 柱的回收率高、稳定性好。利用 2 种色

谱柱检测出禾谷镰刀菌 pH-1 中 T6P 含量分别为 52.6  $\mu\text{g/g}$  和 60.5  $\mu\text{g/g}$ , Tre 含量分别为 4.4  $\text{mg/g}$  和 5.4  $\text{mg/g}$ , 均差异不显著。该方法也可以被借鉴于其他真菌的相关研究和应用中。

致谢: 感谢江苏省农业科学院中心实验室杨丹主任对样品检测提供的帮助!

#### 参考文献:

- [1] 蔡静平, 刘新影, 翟焕趁. 禾谷镰刀菌 DON 毒素生物合成调控研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2016, 37(1): 114-119.
- [2] 程亮, 管军军, 常晓娇. 隐蔽型脱氧雪腐镰刀菌烯醇的研究进展[J]. 粮油食品科技, 2012, 20(6): 61-64.
- [3] 张升, 张伟, 王丽, 等. 氨基酸态氮对禾谷镰刀菌生长及 DON 毒素产生的影响[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(6): 1403-1410.
- [4] 曹坤, 管明, 陈康, 等. 一株拮抗禾谷镰刀菌和降解呕吐毒素解淀粉芽孢杆菌的筛选及在饲料贮存中的应用[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(8): 179-183, 190.
- [5] 王芝涵, 王春伟, 高海馨, 等. 引起玉米穗腐病的禾谷镰刀菌 LAMP 快速检测方法的建立[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(3): 581-585.
- [6] 封薇, 刘太国, 张敏, 等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)在小麦籽粒中的积累分析[J]. 植物病理学报, 2012, 42(1): 25-31.
- [7] 李瑞园, 刘红河, 康莉. HPLC-MS/MS 法同时测定粮食中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物[J]. 分析测试学报, 2014(6): 660-665.
- [8] CUI L, SELVARAJ J N, XING F, et al. A minor survey of deoxynivalenol in *Fusarium* infected wheat from Yangtze-Huaihe river basin region in China[J]. Food Control, 2013, 30(2): 469-473.
- [9] 宋修仕. 禾谷镰刀菌细胞壁形成相关基因及其 RNAi 片段功能鉴定[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [10] SONG X S, LI H P, ZHANG J B, et al. Trehalose 6-phosphate phosphatase is required for development, virulence and mycotoxin biosynthesis apart from trehalose biosynthesis in *Fusarium graminearum*[J]. Fungal Genetics & Biology, 2014, 63: 24-41.
- [11] PAUL M J, PRIMAVESI L F, DEVERAJ J, et al. Trehalose metabolism and signaling[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59(1): 417-441.
- [12] 张雯, 王宇斐, 郭延平. 高等植物 6-磷酸海藻糖信号调控研究进展[J]. 植物生理学报, 2016, 52(4): 394-400.
- [13] 陈素丽, 彭瑜, 周华, 等. 植物海藻糖代谢及海藻糖-6-磷酸信号研究进展[J]. 植物生理学报, 2014, 50(3): 233-242.
- [14] SHAN S, MIN H, LIU T, et al. Structural insight into dephosphorylation by trehalose 6-phosphate phosphatase (OtsB2) from *Mycobacterium tuberculosis*[J]. The FASEB Journal, 2016, 30(12): 3989.
- [15] TORANO J S, DELATTE T L, SCHLUEPMANN H, et al. Determination of trehalose-6-phosphate in *Arabidopsis thaliana* seedlings by hydrophilic-interaction liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2012, 403(5): 1353-1360.
- [16] DELATTE T L, SCHLUEPMANN M H J, SOMSEN G W, et al. Determination of trehalose-6-phosphate in *Arabidopsis thaliana* seedlings by anion exchange chromatography - mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009(389): 12-17.
- [17] GRIFFITHS C A, SAGAR R, GENG Y, et al. Chemical intervention in plant sugar signalling increases yield and resilience[J]. Nature, 2016, 540(7634): 574-578.
- [18] MATA A T, JORGE T F, FERREIRA J, et al. Analysis of low abundant trehalose-6-phosphate and related metabolites in *Medicago truncatula* by hydrophilic interaction liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2016, 1477: 30-38.
- [19] 蒋卫杰, 李强, 余宏军. 番茄海藻糖-6-磷酸含量的超高效液相色谱串联质谱检测方法: CN109900833A [P]. 2019-06-18.
- [20] 中国质检总局和中国国家标准委员会. 合格评定化学分析方法确认和验证指南: GB/T 27417-2017 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [21] 李亚丽, 逢世峰, 王玉方, 等. 单糖及寡糖定量分析方法综述[J]. 食品工业科技, 2016, 37(14): 363-367.
- [22] 尹大芳, 孙晓杰, 郭莹莹, 等. 单糖定性定量的色谱分析方法的研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(24): 321-329.
- [23] 解楠, 黄雨晴, 郑国建. 亲水作用色谱法测定食品中 5 种糖[J]. 理化检验(化学分册), 2020, 56(12): 1303-1306.

(责任编辑: 陈海霞)