

# 高效液相色谱-质谱法分析啉菌 唑在 番茄灰霉病菌中的代谢行为

刘鹏飞<sup>1</sup> 刘屹湘<sup>1,2</sup> 韩平<sup>3</sup> 李健强<sup>1</sup> 刘君丽<sup>4</sup> 刘西莉\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(中国农业大学农学与生物技术学院,北京 100193) <sup>2</sup>(云南农业大学植物保护学院,昆明 650201)

<sup>3</sup>(北京农产品质量检测与农田环境监测技术研究中心,北京 100097)

<sup>4</sup>(沈阳化工研究院农药生物测定中心,沈阳 110021)

**摘要** 采用高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS)分析了杀菌剂啉菌 唑在番茄灰霉病菌液体摇培体系中的代谢动态。啉菌 唑液相色谱定量检测法的线性回归方程为  $y = 54.5x + 11.2$  ( $r = 0.9997$ ), 在 2.07~72.34 mg/L 范围内, 方法回收率和精密度符合农药痕量分析要求。代谢影响因子研究结果显示, 培养 24 h 孢子初萌发阶段的灰霉病菌对药剂代谢能力显著优于后期菌丝生长阶段。啉菌 唑代谢量与接菌量呈正相关。代谢动态研究表明, 在 0.05, 0.10 和 0.21 mg/L 添加浓度下, 啉菌 唑与灰霉病菌经过 44 h 的共培养, 分别降解为初始浓度的 53.8%, 58.2% 和 68.6%, 代谢随药剂浓度降低而增快, 而在不含菌的培养基中降解率低于 0.6% (0.21 mg/L)。药剂处理灰霉病菌培养液经 HPLC 分离获得 4 个疑似代谢产物峰, 其中化合物 M<sub>2</sub> 为分子量 257 的含氯代谢产物。啉菌 唑在灰霉病菌菌体中发生了代谢作用, 代谢速度受菌龄、接菌量和药剂浓度的影响。

**关键词** 啉菌 唑; 番茄灰霉; 代谢; 液相色谱-串联质谱

## 1 引言

农药代谢是农药开发和应用研究的重要内容, 直接支持农用活性物质高通量筛选、农药在谷物<sup>[1]</sup>、食品<sup>[2]</sup>或动物饲料中的真实残留物的环境安全性评价<sup>[3]</sup>。基于微生物对农药的代谢研究结果提出的生物修复技术, 为农药残留导致的环境污染治理提供了有效的途径<sup>[4-6]</sup>; 代谢研究还可解析农药作用机制, 为新农药开发提供思路<sup>[7]</sup>。研究杀菌剂在病原真菌中的代谢规律, 有助于了解药剂在到达作用靶标过程中的转化动态, 明确发挥毒力作用的活性成分。Adrian<sup>[8]</sup>对三唑酮代谢与真菌毒性关系的研究表明, 对三唑酮的敏感性的真菌多与其代谢产物三唑醇有关, 为杀菌剂三唑醇的创制和应用提供了思路。曲田丽等<sup>[9]</sup>采用高效液相色谱(HPLC)检测方法研究了邻烯丙基苯酚在小麦纹枯病菌中的降解与抑菌活性间的关系, 表明用药后 8 h 邻烯丙基苯酚在培养液中迅速降解, 144 h 药物消解达 71.02%, 但药剂对病菌菌丝生长的抑制作用并未因其降解而降低, 显示代谢产物中重要的抑菌物质存在。Frédérique 等<sup>[10, 11]</sup>的研究表明, 敏感性不同的灰霉病菌对霜脲氰的抗性差异来源于菌株对药剂的代谢速度的差别, 从代谢水平阐述了杀菌剂的抗性机制。有关杀菌剂代谢产物的指纹图谱的分析, 则可为揭示杀菌剂的作用机制提供丰富信息。Jess 等<sup>[12]</sup>通过分析酵母菌对几类作用位点不明的杀菌剂的代谢物质谱指纹, 快速确认了其中具有呼吸抑制作用的杀菌剂品种。

1997 年, 我国获得啉菌 唑(化学名称为  $\pi$  甲基-3-(4 氯) 苯基-5 甲基-5 吡啶-3 甲基-唑啉, 代号 SYP-Z048) 的自主知识产权, 是一种具有全新结构和优良杀菌活性的农用杀菌剂, 对作物灰霉病特效<sup>[13]</sup>。本研究组以此杀菌剂为研究对象, 开展了此药剂对子囊菌、担子菌和半知菌的抑菌活性、抑制麦角甾醇生物合成等的系统研究<sup>[14]</sup>。有关此药剂在病原菌体内的代谢研究尚未见报道。本研究拟以番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea* Pers.) 为靶标, 采用 HPLC-MS 技术分析啉菌 唑在病菌中的代谢行为, 为进一步研究啉菌 唑的环境行为和代谢机制提供参考。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

2010-05-27 收稿; 2010-10-07 接受

本文受“十一五” 国家科技支撑计划(No. 2006BAD08A03)、2007 年教育部新世纪优秀人才支持计划(No. NCET-07-0813) 和中国农业大学南京农业大学青年教师开放科研基金(No. CN 2007002) 资助

\* E-mail: secdling@cau.edu.cn

DHZ-D 型冷冻大容量恒温振荡器(江苏太仓摇床设备厂); KQ-250E 型医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、RE II 型旋转蒸发器(瑞士 BÜCH 公司)、高速冷冻离心机(美国 Beckman 公司)和 8E812 型氮吹仪(北京帅恩科技有限责任公司); Agilent 1100 HPLC/MSD 高效液相色谱-质谱仪(Agilent 公司); Milli-Q Academic A10 超纯水系统(Millipore 公司)。

吡菌 唑原药(92.4%), 吡菌 唑标准品(94.98%)均由沈阳化工研究院生测室和质检中心提供;原药经柱层析净化制备纯品,有效成分含量为 99.3%。甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司)和超纯水经 0.2 μm 滤膜过滤。二氯甲烷(分析纯,北京化学试剂公司产品),蒸馏后用于样品提取。

番茄灰霉病菌(编号 NJ-9, 中国农业大学植物病理系)。YG 培养基: 酵母粉 5 g、葡萄糖 15 g、琼脂粉 10 g、去离子水 1 L; 培养基 A: 酵母 2 g、葡萄糖 10 g、MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O 0.5 g、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.5 g、去离子水 1 L; 培养基 B: 培养基 A 中酵母组分替换为 KNO<sub>3</sub> 2 g, 其余组分相同。

## 2.2 标准溶液的配制

准确称取吡菌 唑标准品 0.01360 g, 以甲醇溶解并定容至 25 mL, 配制成 516.7 mg/L 标准储备溶液, 4 °C 保存。吸取适量标准溶液, 用空白样品提取液将其稀释成浓度为 2.07, 5.17, 10.33, 20.67, 31.01, 51.67 和 72.34 mg/L 系列梯度的基质标准工作溶液。

## 2.3 样品处理

将 150 mL 灰霉病菌对吡菌 唑的代谢培养液在 10000 r/min 条件下离心, 收集菌丝, 用 20 mL 培养基 B 冲洗菌丝表面附着的药液并抽滤回收。滤液用 150 mL 二氯甲烷提取 2 次, 合并有机相, 置于旋转蒸发器上 45 °C 下减压浓缩, 氮气吹扫近干, 并以 0.5 mL 甲醇超声溶解残渣, 经 0.45 μm 滤器过滤, 待测。

## 2.4 色谱-质谱分析条件

VP-ODSC<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm × 5 nm, 岛津公司); 柱温 25 °C; 检测波长 220 nm; 1.0 mL/min 流速; 进样量 20 μL; 以甲醇(A)和水(B)为流动相, 梯度洗脱: 0~10 min, 0~10% A; 10~20 min, 10%~20% A; 20~30 min, 20%~50% A; 30~50 min, 50%~80% A; 50~55 min, 80%~100% A; 55~63 min, 100% A; 63~70 min, 100%~0 A。

HPLC-MS 分析条件为 检测波长: 254 nm; 梯度洗脱程序: 0~8 min, 50% 甲醇; 8~15 min, 65% 甲醇; 15~20 min, 80% 甲醇; 20~25 min, 50% 甲醇。离子源: APFES, 正离子模式; 干燥气 N<sub>2</sub> 流速: 10 L/min; 干燥气温度: 320 °C; 碎片电压: 100 V; 雾化器压力: 278 kPa; 毛细管传输电压: 4 kV; 柱后分流: 7/3; 质量扫描范围: 80~800 amu。

## 2.5 代谢培养体系的建立及接菌量和菌龄对代谢影响

将灰霉病菌接种在固体 YG 培养基上, 培养 7 d 后待其产孢, 无菌水洗脱孢子转移至培养基 A 中, 配制成每 mL 10<sup>6</sup> 个孢子的悬浮液, 在 23 °C 摇床上于 150 r/min 条件下摇培 24 h, 孢子的萌发率达 90% 以上。I 分别移取 3、6 和 9 mL 已萌发的孢子悬浮液添加至 150 mL 培养基 B 中摇培 28 h, 滤去培养液, 收集菌丝后转至 150 mL 含有 0.2 mg/L 吡菌 唑的带药培养基 B 中, 培养 28 和 45 h 后检测吡菌 唑含量, 计算代谢率, 分析接菌量对代谢的影响。II 移取 6 mL 已萌发的孢子悬浮液投入培养基 B 中, 摇培 0, 12, 24, 36 和 48 h 后获得不同菌龄的番茄灰霉病菌。将菌丝滤出转入含 0.2 mg/L 吡菌 唑的培养基 B 中, 摇培 20 h, 测定代谢液中吡菌 唑含量和菌丝干重。以含同等量药剂未添加菌丝的培养基 B 中作为阴性对照。计算代谢率, 并分析不同菌龄的灰霉病菌对药剂代谢的影响。

2.6 吡菌 唑在番茄灰霉病菌中代谢动态

采用 2.5 节培养方法, 将已萌发孢子悬浮液按照 6 mL/150 mL 培养液的接菌量进行摇培, 收集菌龄为培养 24 h 的菌丝, 转至带药培养基 B 中进行代谢培养, 0~44 h 内检测吡菌 唑浓度变化。根据菌丝干重法测得吡菌 唑对灰霉病菌的抑制中浓度 EC<sub>50</sub> 为 0.25 mg/L。为保证供试的灰霉病菌具有一定的活力和代谢能力, 带药培养基浓度选择低于 EC<sub>50</sub> 的药剂浓度分别为 0.05, 0.1 和 0.2 mg/L。以甲醇代替农药处理作为空白对照 CK-A, 以培养基 B 中添加 0.2 mg/L 吡菌 唑作为阴性对照 CK-B。

# 3 结果与讨论

## 3.1 方法学考察

**3.1.1 分析方法的专属性** 啶菌 唑标准溶液(A), 灰霉病菌培养液啶菌 唑处理(B)和空白(添加甲醇, CK-A) 色谱图见图 1。结果显示, 标准溶液 A 中母体化合物两个顺反异构体出峰时间分别为 44.1 和 45.1 min, 空白在相应保留时间无色谱峰, 药剂处理中内源性物质与啶菌 唑达到了良好的分离效果。

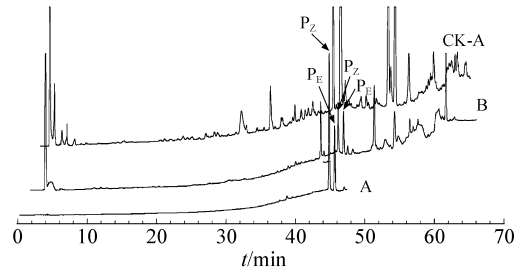


图 1 啶菌 唑处理灰霉病菌代谢培养液典型色谱图  
Fig.1 Chromatograms of *B. cinerea* strain culture medium treated by 5-(4-chloro-phenyl)-2,3-dimethyl-3-(pyridine-3-yl)-oxazoline (SYP Z048)

A: 标准溶液 SYP Z048 standard(SYP Z048 + *B. cinerea* strain culture medium); B: 啶菌 唑+ 灰霉病菌培养液; CK-A: 灰霉病菌培养液(空白样品) (*B. cinerea* strain culture medium)。

**3.1.2 方法的线性范围和检出限** 吸取系列浓度标准溶液 20 mL, 由低浓度至高浓度依次进样, 以峰面积为纵坐标, 样品浓度为横坐标进行线性回归, 得啶菌 唑基质标准曲线回归方程  $y = 54.5x + 11.2$  ( $r = 0.9997$ ), 在 2.07~ 72.34 mg/L 范围内, 浓度与峰面积呈良好的线性关系。以 3 倍信噪比为检出限(LOD), 测得啶菌 唑检出限为 0.7 ng/L。

**3.1.3 方法的回收率和精密度的测定** 于灰霉病菌培养液中, 按照 0.05, 0.10 和 0.21 mg/L 水平添加啶菌 唑标准品溶液, 平行进行 3 次, 以测定值与添加值相比计算方法回收率。啶菌 唑标准品按照 0.1 mg/L 浓度添加, 重复 5 次, 计算日内精密度; 将上述样品在不同日期(5 d 内) 分别测定, 得日间精密度, 分析所建立的分析方法准确性和重复性。方法的回收率为 92.2%~ 101.7%, 相对标准偏差为 3.2%~ 9.1% (表 1)。啶菌 唑标准品按照 0.1 mg/L 浓度添加, 测得日内精密度为 4.0%; 日间精密度为 7.6%, 表明本方法稳定可靠, 符合培养液中农药痕量分析的要求。

表 1 分析方法回收率和精密度

Table 1 Recovery of SYP Z048 assay

添加浓度 Added (mg/L)	检出浓度 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%, n= 3)
0.0516	0.0522±0.0050	101.2	9.1
0.1033	0.0952±0.0032	92.2	3.2
0.2067	0.2102±0.0154	101.7	7.9

**3.2 代谢培养体系的建立及接菌量和菌龄对代谢影响**

杀菌剂在靶标病菌中的代谢可能受病原菌、药剂和培养条件等多重因素的影响。选取生长活力高的灰霉病菌野生敏感菌株 N F9, 研究接菌量和菌龄等因素对啶菌 唑代谢的影响, 在了解菌药互作关系的基础上筛选最优代谢培养条件, 应用于代谢产物的富集和代谢产物的定性分析。

**3.2.1 接菌量对啶菌 唑代谢的影响** 分别将 3, 6 和 9 mL 已萌发孢子悬浮液添加至 150mL 培养基 B 中, 培养 28 h 后, 啶菌 唑代谢率(表 2) 分别为 0.5%、14.5% 和 32.5%; 培养 45 h 后, 啶菌 唑代谢率分别 18.9%、30.9% 和 45.2%。

表 2 接菌量对啶菌 唑代谢的影响

Table 2 Effect of volume of *B. cinerea* culture on SYP Z048 metabolism

接菌量 Volume of <i>B. cinerea</i> culture (mL)	啶菌 唑浓度 Found of SYP Z048 (mg/L)		啶菌 唑降解率 Degradation of SYP Z048 (%)	
			28 h	45 h
	28 h	45 h		
3	0.1990±0.0113	0.1623±0.0082	0.5	18.9
6	0.1711±0.0082	0.1383±0.0058	14.5	30.9
9	0.1348±0.0078	0.1097±0.0042	32.6	45.2

由此可见, 啶菌 唑的代谢率随接菌量增加而显著增大, 表明在实验的菌量添加范围内, 灰霉病菌对啶菌 唑具有一定的代谢能力。

**3.2.2 菌龄与啶菌 唑代谢速度间的关系** 杀菌剂在未添加灰霉病菌的培养液 B 中, 于 20 h 内代谢率低于 0.3%; 6 mL 已萌发的孢子悬浮液在培养基 B 中摇培 0, 12, 24, 36 和 48 h 后, 收集不同菌龄的灰霉病菌菌丝, 将其分别投入至带药培养液中培养 20 h, 检测培养液中啶菌 唑的含量。结果表明, 其代谢为 10.4%~ 11.0%, 不同菌龄的灰霉病菌对啶菌 唑的代谢差异不显著。培养 0~ 48 h, 不同菌龄的灰霉病菌菌丝干重由 4.0 mg 增至 158.0 mg, 随着菌龄的增加, 其单位质量菌丝对药剂的代谢量明显下降(图 2), 表明灰霉病菌新生菌丝代谢能力显著优于后期菌丝生长阶段。

**3.3 啶菌 唑在番茄灰霉病菌中代谢动态**

在不含灰霉病菌的阴性对照 CK-B 中啶菌 唑在 0~ 44 h 内分解率低于 0.6% (图 3), 而在含有灰霉病菌的培养液中, 初始浓度为 0.05, 0.1 和 0.2 mg/L 的啶菌 唑在 0~ 44 h 内其含量随着时间的增加均呈现下降趋势, 分别降至初始浓度的 53.8%, 58.2% 和 68.6%, 表明发生了代谢降解。并且此下

降趋势随药剂浓度降低而增强,分析原因可能是在较高药剂浓度下病原菌自身生长受到较强抑制作用,故代谢能力下降,这一点由检测时间内菌丝干重用剂量增加而显著降低得到证实。

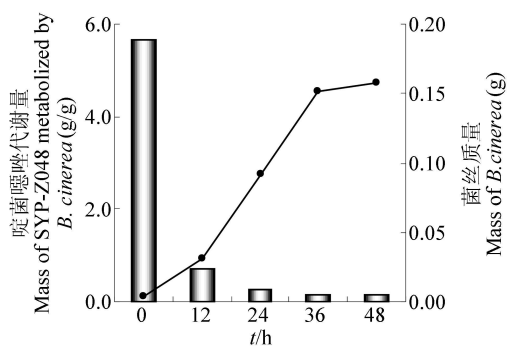


图 2 菌龄对啶菌 唑代谢的影响

Fig. 2 Effect of fungi age on metabolism of SYP-Z048

### 3.4 啶菌 唑在灰霉病菌培养液中代谢产物分析

按照 2.3 节方法从 1.5 L 含 0.2 mg/L 啶菌 唑的培养基中富集提取代谢产物,以甲醇代替药剂作为对照平行处理。通过比对药剂处理与空白对照 HPLC-MS 图谱,确认代谢产物色谱峰,并推测代谢产物结构。提取液分别采用 HPLC-MS 进行代谢产物的分析。与啶菌 唑标准品质谱图相比对,可确认保留时间为 21.9 min ( $P_Z$ ) 和 22.8 min ( $P_E$ ) 的色谱峰(图 4)为啶菌 唑母体化合物。质谱图中分子离子峰为  $m/z$  289 和 291(图 5 中  $P_Z$  和  $P_E$ ) 为含 Cl 同位素峰。提取液色谱图中 17.8 min ( $M_1$ )、19.4 min ( $M_2$ )、21.0 min ( $M_3$ ) 和 23.2 min ( $M_4$ ) 出现了对照谱图上不存在的新色谱峰。其中  $M_1 \sim M_3$  极性比母体化合物强,相关报道<sup>[15]</sup>表明,异型生物质在微生物体内经常发生的氧化还原、水解等代谢反应通常使化合物转变成极性更强的物质,分析  $M_1 \sim M_3$  可能为啶菌 唑的代谢产物。 $M_2$  物质具有质谱响应。分子离子峰  $m/z$  258, 伴随丰度 30% 的  $m/z$  260, 表明含有同位素 Cl,  $m/z$  280 为  $[M + Na]^+$  峰,推断  $M_2$  是啶菌 唑在菌体中代谢产生的分子量为 257 的含氯产物。

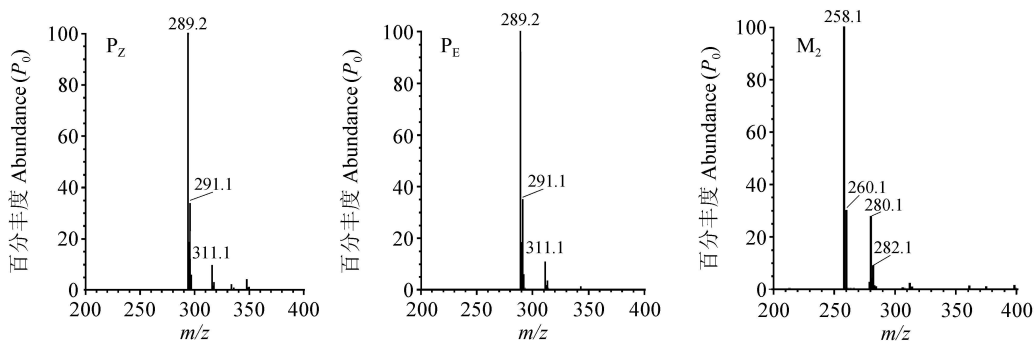


图 5 啶菌 唑异构体 Z- ( $P_Z$ )、E- ( $P_E$ ) 和菌体代谢产物  $M_2$  的 ES-MS 谱图

Fig. 5 ES-MS spectra of Z- ( $P_Z$ ) and E- isomer ( $P_E$ ) of SYP-Z048 and  $M_2$

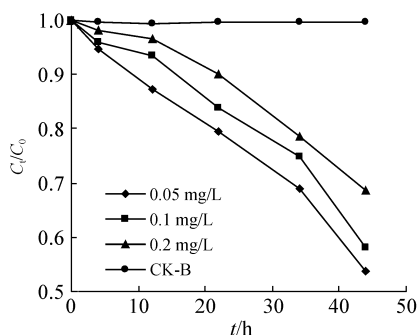


图 3 啶菌 唑在灰霉病菌中代谢动态

Fig. 3 Metabolism of SYP-Z048 in *B. cinerea* at fungicide concentration of 0.05, 0.1 and 0.2 mg/L

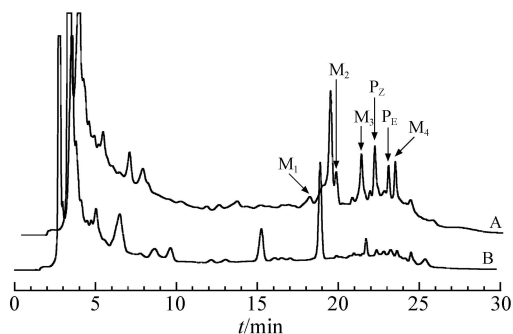


图 4 灰霉病菌培养液和菌丝代谢提取物典型色谱图

Fig. 4 Chromatogram of culture medium and mycelium extracts after 48 h

A: 空白处理(Blank control); B: 0.2 mg/L 啶菌 唑处理 (Treated with SYP-Z048 at a dose of 0.2 mg/L)。

## 4 结 论

本研究建立了灰霉病菌摇培液中啉菌唑含量分析的高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)方法,回收率和精密度符合农药痕量分析要求。代谢影响因子研究表明,经过44 h与啉菌唑灰霉病菌的共培养,杀菌剂在3个添加浓度(0.05, 0.1和0.2 mg/L)下均发生了代谢反应,并且代谢速度随药剂浓度降低而加快。在同一药剂浓度下,经过相同时间共培养,灰霉病菌接菌量与药剂代谢量正相关。培养24 h孢子初萌发阶段的灰霉病菌对药剂代谢能力显著优于后期生长阶段菌丝。药剂处理培养液的HPLC图谱上获得4个疑似代谢产物峰,其中M<sub>2</sub>化合物具有质谱相应。化合物M<sub>2</sub>质谱检测中含有氯同位素峰,与母体化合物相同,分子离子峰 $m/z$ 较母体少30,推测其可能由啉菌唑在菌体中发生脱甲基、脱氮并重排得到。其结构需要进一步进行核磁和红外等检测方可确证。

## References

- 1 MAO Jiang Sheng, MENG Jing-Jing, ZHAO Shaor Cang, GUO Chang-Ying, WANG Yu Tao, DENG Li Gang, LI Zeng Mei(毛江胜, 孟静静, 赵善仓, 郭长英, 王玉涛, 邓立刚, 李增梅). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2009**, 37(12): 1857
- 2 Hamilton D, Crossley S. *Pesticide Residues in Food and Drinking Water: Human Exposure and Risks*, **2004**, 64. John Wiley & Sons, Ltd ISBN: 0 471 48991 3: 63~ 120
- 3 Dorne J L C M, Bordajandi L R, Amzal B, Ferrari P, Verger P. *Trends Anal. Chem.*, **2009**, 28(6): 695~ 707
- 4 BAI Weir Qin, LI Mei, QIU Xing Hui, HE Feng Qin, LENG Xir Fu(柏文琴, 李梅, 邱星辉, 何凤琴, 冷欣夫). *Chinese Journal of Pesticide Science*(农药学报), **2004**, 6(4): 48~ 54
- 5 WANG Zhao Shou, LI Shur Peng(王兆守, 李顺鹏). *Soils* (土壤), **2005**, 37(6): 577~ 580
- 6 ZHANG Chao Lan, WANG Xiao Yong, JIANG Wen, LIAO Rong Sheng, HUANG Feng(张超兰, 汪小勇, 姜文, 廖荣胜, 黄锋). *Ecology and Environment*(生态环境), **2007**, 16(5): 1436~ 1440
- 7 XIANG Weir Sheng, WANG Xiang jing, JU Xiu-Lian, REN Tian Rui(向文胜, 王相晶, 巨修炼, 任天瑞). *The Chinese Journal of Process Engineering* (过程工程学报), **2004**, 4(4): 187~ 192
- 8 Adrian H B Deas. *Pesticide Science*, **1986**, 17: 69~ 73
- 9 QU Tian Li, MENG Zhao Li, LI Jian Qiang(曲田丽, 孟昭礼, 李健强). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2008**, 36(5): 637~ 641
- 10 Frédérique T, René F, Pierre L, Abel C S, Jear Claude C. *J. Chromatogr. B*, **2002**, 769(1): 35~ 46
- 11 Frédérique T, Abel C S, René F, Jear Claude C, Pierre L. *Pesticide Biochemistry Physiology*, **2004**, 78(3): 151~ 160
- 12 Jess A, Hazel M D, David B, Jem J R, Stephen G O, Douglas B K, *Applied and Environmental Microbiology*, **2004**, 70(10): 6157~ 6165
- 13 SI Nai Guo, ZHANG Zong-Jian, LIU Jun Li, LI Zhi Nian, ZHANG Dong-Ming, CHEN Liang, WANG Li Zhong(司乃国, 张宗俭, 刘君丽, 李志念, 张冬明, 陈亮, 王力钟). *Chinese Journal of Pesticides*(农药), **2004**, 43(1): 16~ 18
- 14 HAN Ping, LIU Xi Li, LIU Peng Fei, SI Nai Guo(韩平, 刘西莉, 刘鹏飞, 司乃国). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2006**, 34(10): 1467~ 1470
- 15 Laura L V E, Robert E H, Robert M Z. *Weed Science*, **2003**, 51: 472~ 495

# Metabolism Dynamics and Metabolite of SYP-Z048 in *Botrytis Cinerea* by High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

LIU Peng Fei<sup>1</sup>, LIU Yi Xiang<sup>1,2</sup>, HAN Ping<sup>3</sup>, LI Jiar Qiang<sup>1</sup>, LIU Jurr Li<sup>4</sup>, LIU Xi Li<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup>(College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094)

<sup>2</sup>(College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201)

<sup>3</sup>(Beijing Research Center for Agrifood and Farmland Monitoring, Beijing 100097)

<sup>4</sup>(Shenyang Research Institute of Chemical Industry, Shenyang 110021)

**Abstract** High performance liquid chromatography-mass spectrometry was used to study the metabolism of a new fungicide 5-(4-chloro phenyl)-2, 3-dimethyl 3-(pyridine-3)-oxazoline (SYP-Z048) in *Botrytis cinerea*. The fungus was cultivated in liquid culture medium with SYP-Z048 and the concentration was determined by high performance liquid chromatography. The linear equation was  $y = 8466.1x - 46.3$  ( $r = 0.9995$ ) in the concentration range of 0.02–0.31 mg/L. Impact factors of metabolism were studied. The results show that SYP-Z048, at the concentration of 0.05, 0.10 and 0.21 mg/L, was reduced to 46.2%, 41.8% and 31.4% respectively after cultivated with *B. cinerea* for 44 h, but the degradation rate was less than 0.6% without fungi at 0.21 mg/L. The results indicated that SYP-Z048 was metabolized accelerated at lower dosage. The metabolic rate that affected by young mycelium after cultivated for 24 h was obviously higher than that of the mature one. There was a positive correlation between the quantity reduced after a definite period and the amount of *B. cinerea* put in medium. HPLC-MS was adopted to analyze the metabolic products of SYP-Z048. There were four possible metabolites peaks in chromatogram, of which the compound M<sub>2</sub> is chlorine with a molecule weight of 257. The study showed that SYP-Z048 metabolized in *Botrytis cinerea* and the metabolize rate was affected by the age and amount of mycelium.

**Keywords** 5-(4-chloro phenyl)-2, 3-dimethyl 3-(pyridine-3)-oxazoline; *Botrytis. cinerea*; Metabolism; High performance liquid chromatography-mass spectrometry

(Received 27 May 2010; accepted 7 October 2010)

## “第十三届国际电分析化学会议”的通知

经中国科学院批准,并受中国化学会委托,第十三届国际电分析化学会议由中国科学院长春应用化学研究所电分析化学国家重点实验室承办。会议将于 2011 年 8 月 19 日至 22 日在中科院长春应用化学研究所举办。会议将特邀国际著名电分析化学家参加,会议语言为英语。欢迎参加,如提出报告,请交电子版英文摘要一份。了解会议的详细信息欢迎登录 <http://iseac.ciac.jl.cn/>

论文截止日期: 2011 年 5 月 15 日。

联系人: 张柏林 电话/传真: 0431-85262430, Email: blzhang@ciac.jl.cn

地址: 吉林省长春市人民大街 5625 号, 邮编: 130022

欢迎登录 <http://iseac.ciac.jl.cn/> 了会议详细信息