

保粒黴素(丁) (Polyoxorim) 農藥有效成分檢驗方法修正規定

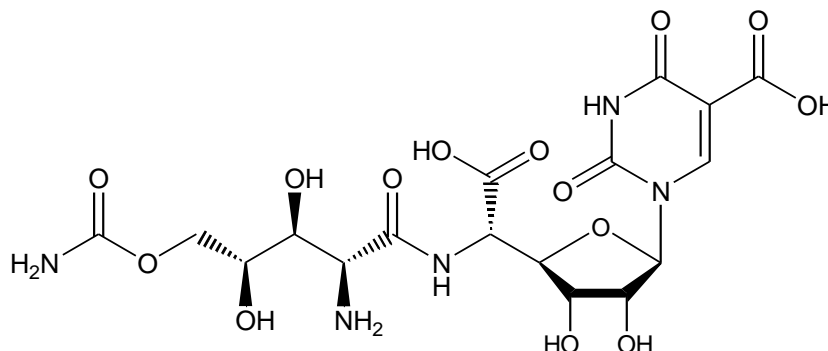
一、農藥結構及物理化學性質：

農藥有效成分1：

普通名稱：保粒黴素(丁) (CIPAC No. 710：Polyoxorim)

化學名稱：5-(2-amino-5-*O*-carbamoyl-2-deoxy-L-xylonamido)-1-(5-carboxy-1,2,3,4-tetrahydro-2,4-dioxypyrimidin-1yl)-1,5-dideoxy-β-D-allofuranuronic acid (IUPAC). 5-[[2-amino-5-*O*-(aminocarbonyl)-2-deoxy-L-xylonyl]amino]-1-(5-carboxy-3,4-dihydro-2,4-dioxo-1-(2*H*)-pyrimidinyl)-1,5-dideoxy-β-D-allofuranuronic acid (CAS RN: [22976-86-9]).

化學結構：



分子式：C₁₇H₂₃N₅O₁₄

分子量：521.4

理化性質：

外觀：吸溼性無色結晶固體。

熔點：> 180°C (分解)。

比重：0.838 (20-25°C)

溶解度：水 35.4 g/L(pH 3.5, 30°C)。丙酮 0.011、二氯甲烷 < 0.0011、甲醇 0.175、甲苯 < 0.0011 (均為 g/L, 20-25°C)。

安定性：具有吸濕性，應貯存於密封的乾燥容器內。

農藥有效成分2：

普通名稱：保粒黴素(丁)鋅鹽 (Polyoxorim-zinc (polyoxin D zinc salt))

化學名稱：zinc 5-(2-amino-5-*O*-carbamoyl-2-deoxy-L-xylonamido)-1-(5-carboxy-1,2,3,4-tetrahydro-2,4-dioxypyrimidin-1yl)-1,5-dideoxy-β-D-allofuranuronate (IUPAC). 5-[[2-amino-5-*O*-(aminocarbonyl)-2-deoxy-L-xylonyl]amino]-1-(5-carboxy-3,4-dihydro-2,4-dioxo-1-(2*H*)-pyrimidinyl)-1,5-dideoxy-β-D-allofuranuronic acid zinc salt (zinc salt CAS RN: [146659-78-1]).

分子式：C₁₇H₂₃N₅O₁₄Zn

分子量：586.8

理化性質：

外觀：棕色粉末。

熔點：170°C (分解)。

比重：1.8392 (20-25°C)

溶解度：微溶於甲醇、辛醇 (均為20-25°C)。

安定性：熱不安定。

二、劑型：可溼性粉劑 (WP)、水分散粒劑 (WG)。

三、作用：殺菌劑。

四、分析方法：(方法一)

1. 適用範圍：本方法適用於保粒黴素(丁)可溼性粉劑、水分散粒劑中有效成分之定性及定量分析。
2. 檢驗方法：高效液相層析法(High performance liquid chromatography，簡稱 HPLC)。

2.1.裝置：

2.1.1 高效液相層析儀：

2.1.1.1 檢出器：紫外光檢出器(Ultraviolet detector，簡稱 UV)。

2.1.1.2 層析管柱：逆相層析管柱，4.6 mm × 250 mm (ID × L)，Prodigy ODS3 100A、5 μm，或相當等級。

2.1.2 超音波振盪裝置(頻率 40-50 KHz)，振盪器。

2.2 試藥：

2.2.1 標準品：保粒黴素(丁)(Polyoxorim)，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.2 三氟乙酸(Trifluoroacetic acid)為分析級試藥。

2.2.3 去離子水(≥18.0 MΩ.cm，經 0.22 μm 濾膜過濾)。

2.2.4 稀釋溶劑：0.15% (v/v) 三氟乙酸水溶液。

2.3 器具及材料：

2.3.1 定量瓶 10 mL、25 mL、100 mL。

2.3.2 刻度吸管。

2.3.3 0.22 μm 親水性聚丙烯(Hydrophilic polypropylene)過濾膜。

2.4 貯存標準液(Standard stock solution) 配製：

秤取約含保粒黴素(丁) 25±5 mg (記錄至 0.1 mg)之已知純度分析級對照用標準品，置於 25 mL 定量瓶中，加入 20 mL 稀釋溶劑，以超音波振盪至完全溶解後(約 5 分鐘)，回至室溫，以稀釋溶劑定容至刻度，為 1000 μg/mL 貯存標準液。

2.5 標準檢量線(Standard calibration curve) 製作：

取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 之 1000 μg/mL 保粒黴素(丁)貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，以稀釋溶劑稀釋定容至刻度，使成含 50、100、150、200、250 μg/mL 之保粒黴素(丁)操作標準液(Working standard solution)，各操作標準液以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾後，分別取 20 μL 注入高效液相層析儀分析之，以其濃度為 x 軸、尖峰面積為 y 軸，經迴歸分析求得標準檢量線： $y = a + bx$ ，a、b 為常數。

2.6 檢液之配製：

將檢體充分混合後，分別秤取3重複約含保粒黴素(丁) 15±5 mg (記錄至 0.1 mg)之樣品，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 mL 稀釋溶劑，以超音波振盪 5 分鐘，回至室溫，以稀釋溶劑定容至刻度(最後濃度約含 150 μg/mL 保粒黴素(丁))，並以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之，作為檢液。

2.7 鑑別試驗及含量測定：

2.7.1 儀器操作條件：

2.7.1.1 波長：254 nm。

2.7.1.2 動相：0.15% (v/v) 三氟乙酸水溶液。

2.7.1.3 流速：1.8 mL/min。

2.7.1.4 注入量：20 μL。

2.7.1.5 分析溫度：室溫。

2.7.2 取操作標準液及檢液各 20 μL，分別注入高效液相層析儀，就操作標準液與檢液所得尖峰之滯留時間比較鑑別之，由標準檢量線計算檢液濃度： $x =$

$\frac{y-a}{b}$ ，式中 x 為檢液中保粒黴素(丁)濃度，y 為檢液中保粒黴素(丁) 尖峰面

積，並依下式計算其含量：

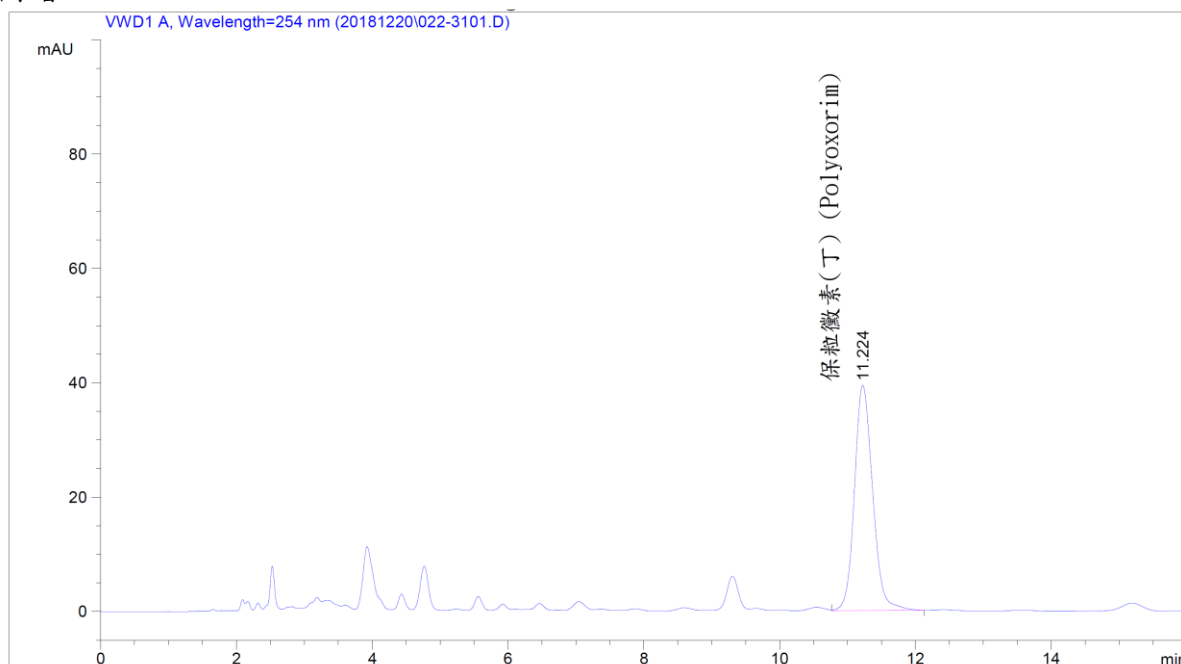
有效成分 (%，w/w)

$$= \text{檢液濃度 } (\mu\text{g/mL}) \times \text{稀釋體積 (mL)} \times \frac{1\text{g}}{10^6 \mu\text{g}} \times \frac{1}{\text{檢體重 (g)}} \times 100 (\%)$$

保粒黴素(丁) 鋅鹽 (%，w/w)

$$= \text{保粒黴素(丁) 含量 } (\%, \text{w/w}) \times \text{分子量換算係數 } (584.8/521.4)$$

2.8 圖譜：



五、分析方法：(方法二)

1. 適用範圍：本方法適用於保粒黴素(丁)可溼性粉劑中有效成分之定性及定量分析。
2. 檢驗方法：毛細管電泳法 (Capillary electrophoresis，簡稱 CE)。

2.1 裝置：

2.1.1 毛細管電泳儀：

2.1.1.1 檢出器：紫外光檢出器 (Ultraviolet detector，簡稱 UV)。

2.1.1.2 管柱：50 μm \times 300 mm (ID \times L) 融矽管柱，或相當等級。

2.1.2 超音波振盪裝置 (頻率 40 ~ 50 KHz)，振盪器。

2.2 試藥：

2.2.1 標準品：保粒黴素(丁)，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.2 磷酸二氫鉀 (Potassium dihydrogen phosphate) 為分析級試藥。

2.2.3 磷酸氫鈉 (Sodium hydrogen phosphate) 為分析級試藥。

2.2.4 鹽酸 (Hydrochloric acid) 為分析級試藥。

2.2.5 去離子水 ($\geq 18.0 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ，經 0.22 μm 濾膜過濾)。

2.2.6 0.1 M pH 2.5 磷酸緩衝液。

2.2.7 0.1 N 鹽酸水溶液。

2.2.8 0.67 M 磷酸二氫鉀水溶液。

2.2.9 0.67 M 磷酸氫鈉水溶液。

2.2.10 稀釋溶劑：67 mM 磷酸緩衝液，取 0.67 M 磷酸二氫鉀水溶液 6.24 mL 及 0.67 M 磷酸氫鈉水溶液 9.76 mL 加去離子水至 160 mL。

2.3 器具及材料：

2.3.1 定量瓶 10 mL、25 mL、100 mL。

2.3.2 刻度吸管。

2.3.3 燒杯。

2.3.4 漏斗。

2.3.5 0.22 μm 親水性聚丙烯(Hydrophilic polypropylene)過濾膜。

2.4 貯存標準液 (standard stock solution) 配製：

秤取約含保粒黴素 (丁) 25 ± 5 mg (記錄至 0.1 mg) 之已知純度分析級對照用標準品，置於 25 mL 定量瓶中，加入 20 mL 稀釋溶劑，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以稀釋溶劑定容至刻度，為 1000 $\mu\text{g/mL}$ 貯存標準液。

2.5 標準檢量線 (standard calibration curve) 製作：

取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 之 1000 $\mu\text{g/mL}$ 保粒黴素 (丁) 貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，以稀釋溶劑稀釋定容至刻度，使成含 20、40、60、80、100 $\mu\text{g/mL}$ 之保粒黴素 (丁) 操作標準液，各操作標準液以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾後，以超音波振盪 15 分鐘去除氣泡，分別注入 10 psi \times sec，注入毛細管電泳儀分析之，以其濃度為 x 軸、尖峰面積為 y 軸，經迴歸分析求得標準檢量線： $y = a + bx$ ，a、b 為常數。

2.6 檢液之配製：

將檢體充分混合後，分別秤取3重複約含保粒黴素 (丁) 30 ± 5 mg (記錄至 0.1 mg) 之樣品，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 mL 稀釋溶劑，以超音波振盪 5 分鐘，回至室溫，以稀釋溶劑定容至刻度，混合均勻後，再取此溶液 2.0 mL，置於 10 mL 定量瓶中，以稀釋溶劑定容至刻度 (最後濃度約含 60 $\mu\text{g/mL}$ 保粒黴素 (丁))，並以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾，作為檢液。

2.7 鑑別試驗及含量測定：

2.7.1 儀器操作條件：

2.7.1.1 波長：270 nm。

2.7.1.2 分離緩衝液：100 mM 磷酸緩衝液，pH 2.5。

2.7.1.3 電壓：15 kV。

2.7.1.4 注入量：10 psi \times sec。

2.7.1.5 樣品槽溫度：20 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.7.2 取操作標準液及檢液各注入 10 psi \times sec，注入毛細管電泳儀，就操作標準液與檢液所得尖峰之滯留時間比較鑑別之，由標準檢量線計算檢液濃度： $x = \frac{y - a}{b}$ ，式中 x 為檢液中保粒黴素 (丁) 濃度，y 為檢液中保粒黴素 (丁) 尖峰

面積，並依下式計算其含量：

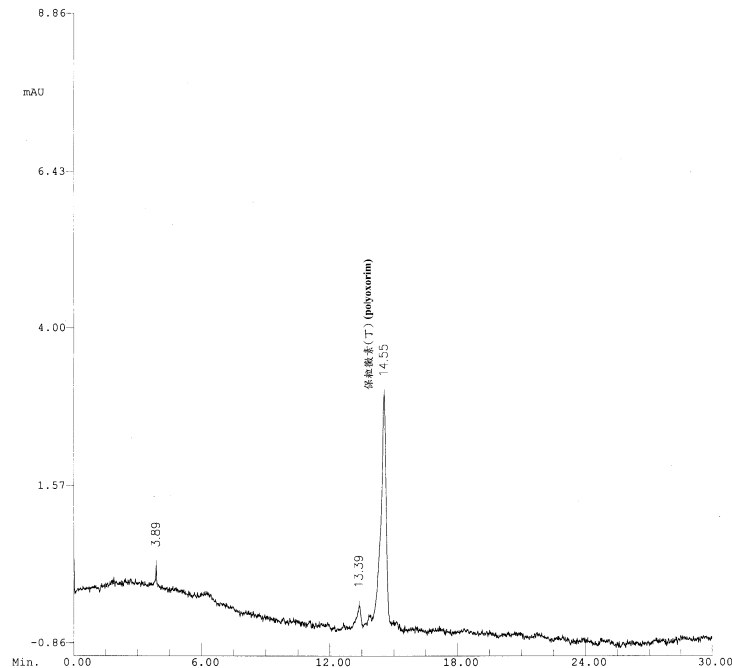
有效成分 (%，w/w)

$$= \text{檢液濃度 } (\mu\text{g/mL}) \times \text{稀釋體積 (mL)} \times \frac{1\text{g}}{10^6 \mu\text{g}} \times \frac{1}{\text{檢體重 (g)}} \times 100 (\%)$$

保粒黴素 (丁) 銑鹽 (%，w/w)

$$= \text{保粒黴素 (丁) 含量 } (\%) \times \text{分子量換算係數 } (584.8/521.4)$$

2.8 圖譜：



六、參考文獻：

1. 保粒黴素(丁) (Polyoxorim) 農藥有效成分檢驗方法。農業部改制前行政院農業委員會 92 年 7 月 22 日農糧字第 0920021316 號公告。
2. BCPC Online Pesticide Manual.
http://pmonline.azurewebsites.net/_Main/Pesticide.aspx (擷取日期：2024/12/12)
3. Chan, J. A., Sitrin, R. D., Yeung, E. W. K., Simolike, G. C., Roberts, G. D., and Jeffs, P. W. 1986. Facile separation and identification of polyoxins from fermentation sources using high-performance liquid chromatography, ultra-violet spectroscopy and fast-atom-bombardment mass spectrometry. J. Chromatogr. 358:291-295.

七、品質管制：

1. 所有品質管制數據，均需保存以便參考及檢查。
2. 配製貯存標準液 (STD A) 及貯存查核標準液 (STD B) 之標準品，其秤取量應大於 25 mg，且二者之相差應不大於 0.2 mg，若有不同來源或相同來源不同批號之標準品，應使用於查核標準液之配製。
3. 系統平衡測試：重複連續注入操作標準液 (STD A-3)，其連續 2 次注入所得之感應因子比值，皆應介於 98 ~ 102% 之間。(感應因子 = 尖峰面積 / 濃度)
4. 標準液查核：注入查核標準液 (STD B-3)，其與系統平衡測試操作標準液 (STD A-3) 注入 1 所得之感應因子比值，應介於 98 ~ 102% 之間。
5. 感應因子比值管制：操作標準液 (STD A-3) 與查核標準液 (STD B-3) 注入所得之感應因子與系統平衡測試操作標準液 (STD A-3) 注入 1 之比值應介於 98 ~ 102% 之間，若超出範圍，則應重新注入分析。
6. 貯存標準液與標準檢量線於每次同批檢驗時，新鮮配製，且不可使用超過 3 日。
7. 檢量線之線性相關係數平方值 r^2 需達 0.999 或以上。
8. 檢量線查核：每注入 3 個檢液後，須注入查核標準液 (STD B-3) 查核檢量線，依所得之標準品尖峰面積代入檢量線計算標準液濃度，其與配製濃度之查核比值應介於 98 ~ 102% 之間，若超出範圍，則應重新配製標準液並製備檢量線。
9. 滯留時間管制：注入之操作標準液、查核標準液及檢液，其標準品尖峰滯留時間與進行系統平衡測試注入 1 所得之滯留時間相較，其比值應介於 98 ~ 102% 之間。
10. 每個樣品應取樣 3 重複，其分析結果相對標準差 (RSD, 即 coefficient of variance)

應小於依 CIPAC 農藥成品分析方法確認指南中 Horwitz 方程式計算之可接受 RSD_r 值。例如：依 Horwitz 方程式 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$), $RSD_r = RSD_R \times 0.67$), 11.3% 有效成分含量之樣品可接受 RSD_r 值，計算如下：

$$C = 0.113$$

$$RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.113)} = 2.78$$

$$RSD_r = 2.78 \times 0.67 = 1.86$$

- 11.若有查核樣品應於有效成分檢驗後重複注入分析 2 次，並注入查核標準液(STD B-3) 查核檢量線，其管制依 8.規定。
- 12.由樣品分析結果之層析圖研判，或對分析有效成分有懷疑時，應以添加試驗、變更層析條件或其他鑑定方法加以確認。