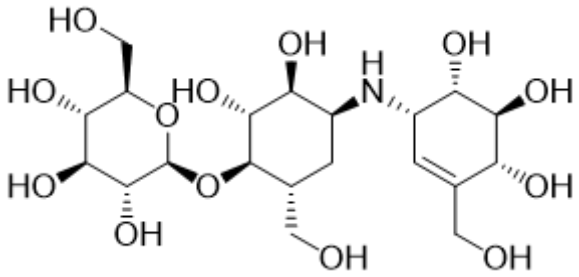
維利黴素 (Validamycin A) 農藥有效成分檢驗方法草案

一、農藥結構及物理化學性質：

普通名稱：維利黴素 (CIPAC No. N/A)

化學名稱：(1*R*,2*R*,3*S*,4*S*,6*R*)-2,3-dihydroxy-6-hydroxymethyl-4-[(1*S*,4*R*,5*S*,6*S*)-4,5,6-trihydroxy-3-hydroxymethylcyclohex-2-enylamino]cyclohexyl-β-D-glucopyranoside (IUPAC). 1,5,6-trideoxy-4-*O*-β-D-glucopyranosyl-5-(hydroxymethyl)-1-[[(1*S*,4*R*,5*S*,6*S*)-4,5,6-trihydroxy-3-(hydroxymethyl)-2-cyclohexen-1-yl]amino]-D-*chiro*-inositol (CA; 37248–47–8).

化學結構：



分子式：$C_{20}H_{35}NO_{13}$

分子量：497.5

理化性質：

外觀：無色無臭吸濕性粉末。

熔點： 125.9℃。

蒸氣壓： ＜0.0026 mPa (20 °C)

比重：1.402 (20-25 °C)。

溶解度：水 >6.1×10^5 (mg/L，20-25 ℃)。丙酮 0.0266、二氯甲烷＜0.01、乙酸乙酯＜0.01、己烷＜0.01、甲醇 62.3、甲苯＜0.01 (均為 g/L，20-25 ℃)。

比旋光度：$[\alpha]_D^{24}$ = +110° (水)

安定性：在 pH5、7 和 9(25 °C)水中安定不易水解。

二、劑型：溶液 (SL)。

三、作用：殺菌劑。

四、分析方法：

1. 適用範圍：本方法適用於維利黴素溶液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)，ZORBAX SB-Aq 5 μm Agilent，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：維利黴素，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.2 磷酸氫二鈉 (Sodium phosphate dibasic) 為分析級試藥。

2.2.3 磷酸(Phosphoric acid)為分析級試藥。

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

2.2.5 0.005M 磷酸氫二鈉水溶液(pH 7)：秤取 0.71±0.01g 磷酸氫二鈉(若為含水之磷酸氫二鈉則需視分子量調整稱取量)於小燒杯，以去離子水洗入 1000 mL 燒杯中，加水至 900 mL 的刻度，以磷酸調整 pH 值為 7.0 後，再洗入 1000 mL 定量瓶中，以去離子水定容至刻度，混合均勻。

2.3 器具及材料：

2.3.1 定量瓶 10 mL、25 mL、100 mL、1000 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：

維利黴素易吸濕，秤取前應以 105℃減壓烘乾 3 小時，待回至室溫再秤取約含維利黴素 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 去離子水，以超音波振盪至完全溶解後 (約 10 分鐘)，回至室溫，以去離子水定容至刻度，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 維利黴素貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，以去離子水稀釋定容至刻度，使成含 50、100、150、200、250 μg/mL 之 維利黴素操作標準液 (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，分別秤取三重複約含維利黴素 15±1.5 mg (記錄至 0.1 mg) 之樣品，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 mL 去離子水，以超音波振盪 10 分鐘，完全溶解後，回至室溫，以去離子水定容至刻度(最後濃度約含 150 μg/mL 維利黴素)，混合均勻，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：210 nm。

2.7.1.2 動相：甲醇+0.005M 磷酸氫二鈉水溶液 (pH 7)(3+97，v/v)。(註：所提供之移動相僅適用於 4.6 mm × 250 mm (ID × L)，ZORBAX SB-Aq 5 μm Agilent 管柱，若使用其他相當等級之管柱時需重新尋找適當分離之移動相條件。)

2.7.1.3 流速：1.2 mL/min。

2.7.1.4 注入量：20 μL。

2.7.1.5 分析溫度：40℃。

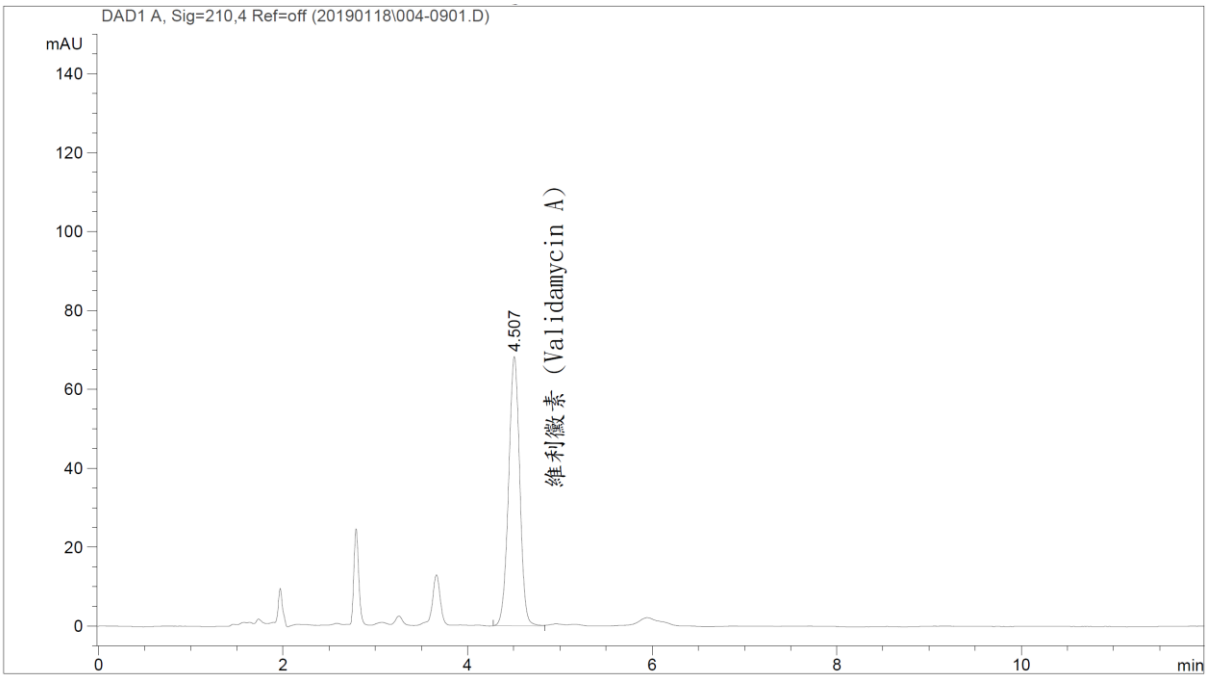
2.7.2 取操作標準液及檢液各 20 μL，分別注入高效液相層析儀，就操作標準液與檢液所得尖峰之滯留時間比較鑑別之，由標準檢量線計算檢液濃度：x＝

$\frac{y-a}{b}$，式中 x 為檢液中維利黴素濃度，y 為檢液中維利黴素尖峰面積，並依下式計算其含量：

有效成分 (% ，w/w)

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

2.8 圖譜：



五、參考文獻：

1.BCPC Online Pesticide Manual

http://www.bcpc.org/page_Pesticide-Manual_100.html?name=pesticide-manual&type=page(擷取日期：2016/12/20)

2.Shenyang Research Institute of Chemical Industry. 2007. Analytical report of Validamycin A technical (5 batches). Shenyang Research Institute of Chemical Industry 36 pp.

六、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)，其連續二次注入所得之標準品尖峰滯留時間之比值及尖峰面積之比值，皆應介於 98 ~ 102% 之間。

4.標準液查核：注入查核標準液 (STD B-3)，其與前一次注入之操作標準液所得之標準品尖峰滯留時間之比值，應介於 98 ~ 102% 之間，其二者尖峰面積經標準品純度與用量校正之比值 ($\frac{A_A}{A_B} \times \frac{S_B \times P_B}{S_A \times P_A}$，式中 A 為尖峰面積，S 為標準品秤取量，P

為標準品純度)，亦應介於 98 ~ 102% 之間。

5.檢量線之線性相關係數 r^2 需達 0.999 或以上。

6.檢量線查核：每注入三個檢液後，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。

7.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與標準液查核時所得之滯留時間平均值相較，其比值應介於 98 ~ 102% 之間。

8.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 RSDr 值。例如：依 Horwitz 方程式 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$ ，$RSDr = RSD_R \times 0.67$)，10% 有效成分含量之樣品可接受 RSDr 值，計算如下：

$C = 0.1$

$RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.1)} = 2.83$

$RSDr = 2.83 \times 0.67 = 1.90$

9.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。