

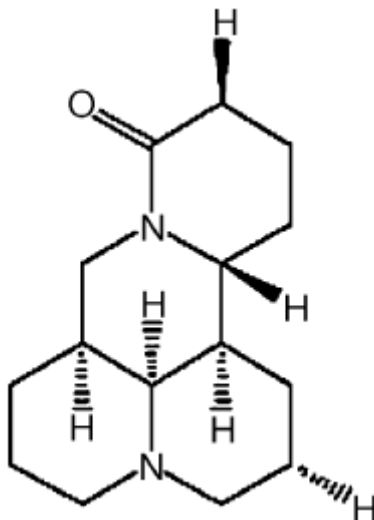
苦參鹼(Matrine) 農藥有效成分檢驗方法草案

一、農藥結構及物理化學性質：

普通名稱：苦參鹼 (CIPAC No.N/A)

化學名稱：(7aS,13aR,13bR,13cS)-dodecahydro-1*H*,5*H*,10*H*-dipyrido[2,1-*f*:3',2',1'-*ij*][1,6]naphthyridin-10-one (IUPAC). (CA;519-02-8).

化學結構：



分子式： $C_{15}H_{24}N_2O$

分子量：248.36

理化性質：

外觀：白色結晶粉末。

熔點：77°C。

沸點：86-88°C/2.5Torr。

比重：1.191。

安定性：不可與鹼性物質，混用(54±2°C, 14 天)，分解率-1.43%。

溶解度：溶於水、乙醇(20°C)。

二、劑型：溶液(SL)。

三、作用：殺蟲劑。

四、分析方法：

- 適用範圍：本方法適用於苦參鹼溶液中有效成分之定性及定量分析。
- 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)，HyperClone BDS C18 Phenomenex，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：苦參鹼，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.2 甲醇 (Methanol) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.3 三乙胺 (Triethylamine) 為分析級試藥。

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

2.3 器具及材料：

2.3.1 定量瓶 10 mL、50 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：

秤取約含苦參鹼 $25 \pm 5 \text{ mg}$ (記錄至 0.1 mg) 之已知純度分析級對照用標準品，置於 50 mL 定量瓶中，加入 40 mL 甲醇，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以甲醇定容至刻度，為 500 $\mu\text{g/mL}$ 貯存標準液。

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

取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 之 500 $\mu\text{g/mL}$ 苦參鹼貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，以甲醇稀釋定容至刻度，使成含 50、100、150、200、250 $\mu\text{g/mL}$ 之苦參鹼操作標準液 (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 10 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 重複約含苦參鹼 $15 \pm 1.5 \text{ mg}$ 之樣品 (記錄至 0.1 mg)，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 mL 甲醇，以超音波振盪 10 分鐘，回至室溫，以甲醇定容至刻度 (濃度約含 150 $\mu\text{g/mL}$ 苦參鹼)，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：220 nm。

2.7.1.2 動相：甲醇+去離子水+三乙胺 (45+55+0.02，v/v/v)。

2.7.1.3 流速：0.8 mL/min。

2.7.1.4 注入量：10 μL 。

2.7.1.5 分析溫度：室溫。

2.7.1.6 操作標準液及檢液各 10 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： $x = \frac{y - a}{b}$ ，

$$\frac{y - a}{b}$$

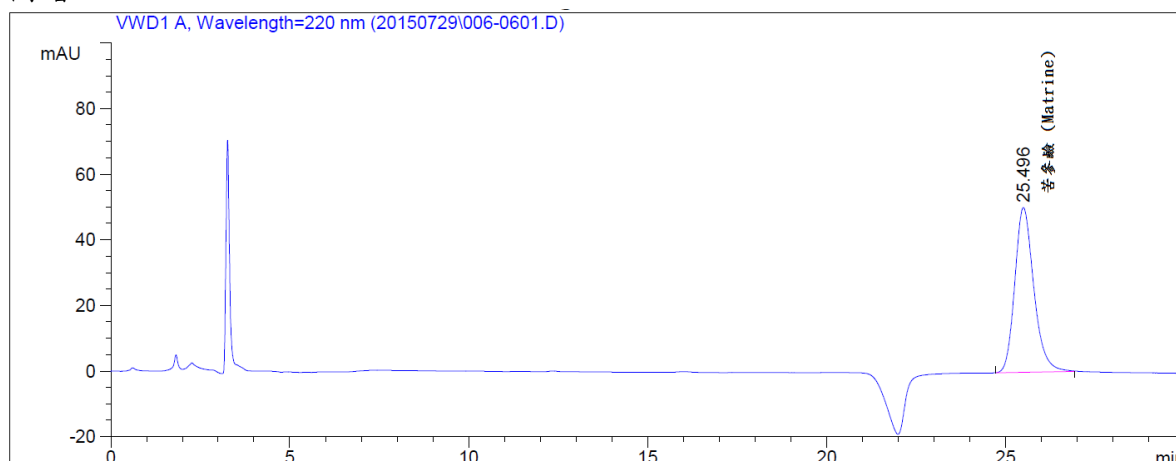
式中 x 為檢液中苦參鹼之濃度，y 為檢液中苦參鹼之面積，

並依下式計算其含量：

有效成分 (%，w/w)

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

2.8 圖譜：



五、參考文獻：

- 1.陳鐵春、李國平、趙永輝(2012) 農藥分析手冊，化學工業出版社，北京 pp.130-133
- 2.Bian.M, Z.J. Zhang, H.Yin ,2012, Effects and mechanism characterization of ionic liquids as mobile phase additives for the separation of matrine-type alkaloids by liquid chromatography, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 58 : 163–167
- 3.劉必謙、徐慈鴻、黃鎮華(2017)。苦參鹼農藥有效成分matrine檢驗方法之建立。台灣農藥科學 2：1-10。

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 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 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$)， $RSD_r = RSD_R \times 0.67$)，6% 有效成分含量之樣品可接受 RSD_r 值，計算如下：
 $C = 0.06$
 $RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.06)} = 3.05$
 $RSD_r = 3.05 \times 0.67 = 2.05$
- 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。
- 13.分析時間：建議於 18 小時內分析完畢。