附件

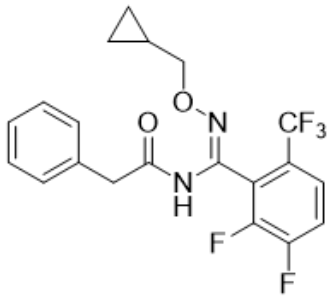
得克芬胺 (Cyflufenamid + Tebuconazole) 農藥有效成分檢驗方法

一、農藥結構及物理化學性質：

普通名稱：賽芬胺 (CIPAC No. 759)

化學名稱：(*Z*)-*N*-[α-(cyclopropylmethoxyimino)-2,3-difluoro-6-(trifluoromethyl) benzyl]-2-phenylacetamide (IUPAC). (Z)-*N*-[[(cyclopropylmethoxy)amino] [2,3-difluoro-6-(trifluoromethyl)phenyl]methylene]benzeneacetamide (CA; 180409-60-3).

化學結構：



分子式：$C_{20}H_{17}F_5N_2O_2$

分子量：412.4

理化性質：

外觀：白色固體。

熔點：61.5-62.5 ℃。

沸點：256.8 ℃。

蒸氣壓：3.54×10^{-2} mPa (20 ℃)。

比重：1.347 (20-25 ℃)

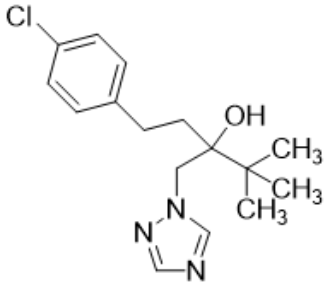
溶解度：水 0.52 mg/L (pH 6.5, 20 ℃-25 ℃)。丙酮 920 g/L、乙醇 500 g/L、甲醇 653 g/L、二甲苯 658 g/L、氯甲烷 943 g/L、正己烷 18.6 g/L、正庚烷 15.7 g/L、二氯甲烷 902 g/L、乙酸乙酯 808 g/L (均為 20 ℃-25 ℃)。

安定性：pH 4 及 pH 7 時安定；半衰期 288 天 (pH 9)。水中光分解半衰期 594 天。

普通名稱：得克利 (CIPAC No. 494)

化學名稱：(*RS*)-1-*p*-chlorophenyl-4,4-dimethyl-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyi)pentan-3-ol (IUPAC). (±)-α-[2-(4-chlorophenyl)ethyl]-α-(1,1-dimethylethyl)-1*H*-1,2,4-triazole-1-ethanol (CA; 107534-96-3).

化學結構：



分子式：$C_{16}H_{22}ClN_3O$

分子量：307.8

理化性質：

組成：消旋體 (Racemate)。

外觀：無色結晶體，原體為無色至淡褐色粉末。

熔點：105 ℃。

蒸氣壓：1.7×10^{-3} mPa (20 ℃)。

比重：1.25 (20-25 ℃)

溶解度：水 36 mg/L (pH 5-9，20 ℃-25 ℃)。丙酮>200 g/L、氯甲烷 89 g/L、二氯甲烷 >200 g/L、二甲基甲醯胺>200 g/L、二甲基亞碸>200 g/L、異丙醇 99 g/L、甲苯 57 g/L、正己烷 0.08 g/L、正辛醇 96 g/L (均為 20 ℃)。

安定性：對熱安定，溶於純水中不易光分解及水解，水解半衰期 >1 年 (pH 4-9，22℃)。

二、劑型：乳劑 (EC)。

三、作用：殺菌劑。

四、分析方法：

1. 適用範圍：本方法適用於得克芬胺乳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)，Phenomenex Gemini 110A 5 μm C18，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：

2.2.1.1 賽芬胺 (Cyflufenamid)，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.1.2 得克利 (Tebuconazole)，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 氰甲烷 (Acetonitrile) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.4 磷酸 (Phosphoric acid)為 HPLC 級試藥，85% (w/w)。

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

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：

2.4.1 賽芬胺貯存標準液：

秤取約含賽芬胺 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 22 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 1000 μg/mL 貯存標準液。

2.4.2 得克利貯存標準液：

秤取約含得克利 50±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 22 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 2000 μg/mL 貯存標準液。

2.4.3 混合貯存標準液：

精確量取 5.0 mL 之 1000 μg/mL 賽芬胺貯存標準液及 16.0 mL 之 2000 μg/mL 得克利貯存標準液，置於 25 mL 定量瓶中，以甲醇定容至刻度，混合均勻，為含 200 μg/mL 賽芬胺及 1280 μg/mL 得克利之混合貯存標準液。(適用於分析賽芬胺與得克利為 2：13 之混合劑)

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

取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 之混合貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，以甲醇稀釋定容至刻度，使成含 10+64、20+128、30+192、40+256、50+320 μg/mL 之得克芬胺(賽芬胺 + 得克利)混合操作標準液 (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、尖峰面積比為 y 軸，經迴歸分析求得二有效成分標準檢量線：$y = a + bx$，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賽芬胺 3±0.3 mg (記錄至 0.1 mg) 之樣品 (賽芬胺與得克利為 2：13 之混合劑中同時約含 19.5 mg 得克利)，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 mL 甲醇，以超音波振盪 30 分鐘，回至室溫，以甲醇定容至刻度，混合均勻(最後濃度約含 30 μg/mL 賽芬胺及 195 μg/mL 得克利)，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：氯甲烷 + 去離子水 + 磷酸 (600 + 400 + 1，v/v/v)。

2.7.1.3 流速：1.0 mL/min。

2.7.1.4 注入量：10 μL。

2.7.1.5 分析溫度：室溫。

2.7.2 取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，由二有效成分標準檢量線計算檢液得克利濃度：$x_t = \frac{y_t - a}{b}$，及賽芬胺濃度：$x_c = \frac{y_c - a}{b}$，

式中 x_t 為得克利之濃度，y_t 為檢液中得克利尖峰面積，

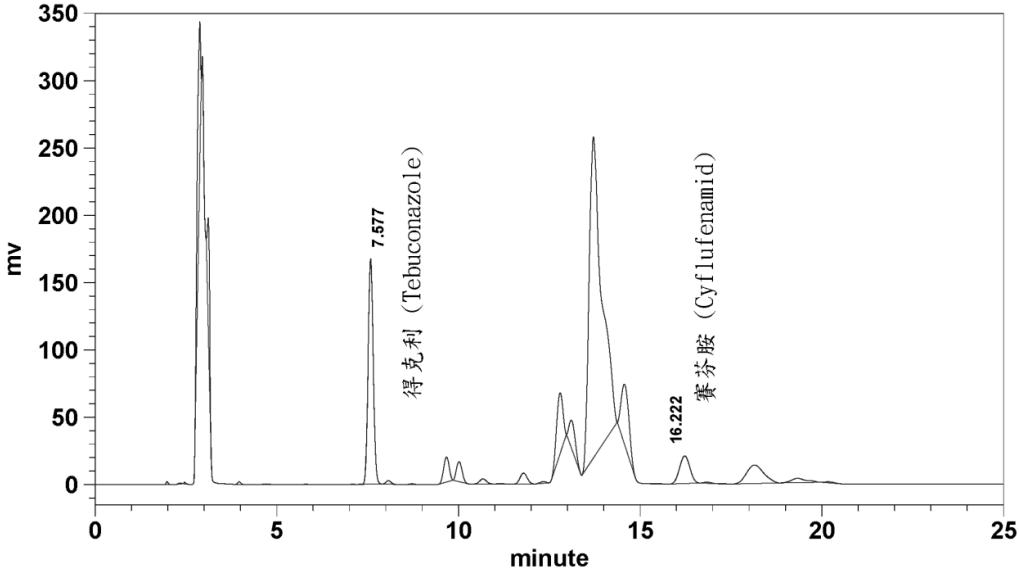
x_c 為賽芬胺之濃度，y_c 為檢液中賽芬胺尖峰面積，

並依下式計算二有效成分含量：

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. HK-149T 分析方法及驗證。惠光化學股份有限公司。1pp。
2. HK-149T 15% EC 分析方法補正說明。惠光化學股份有限公司。1pp。
3. BCPC Online Pesticide Manual. http://www.bcpc.org/page_Pesticide-Manual_100.html?name=pesticide-manual&type=page(擷取日期：2017/12/18)

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。

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 RSDr 值。例如：依 Horwitz 方程式 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$，$RSDr = RSD_R \times 0.67$)，15% 有效成分含量之樣品可接受 RSDr 值，計算如下：

    $C = 0.15$

    $RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.15)} = 2.66$

    $RSDr = 2.66 \times 0.67 = 1.78$

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。