

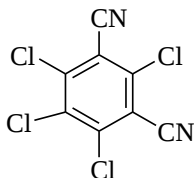
四氯右滅達樂(Chlorothalonil+Metalaxyl-M) 農藥有效成分檢驗方法草案

一、農藥結構及物理化學性質：

普通名稱：四氯異苯腈(CIPAC No.288)

化學名稱：tetrachloroisophthalonitrile (IUPAC). 2,4,5,6-tetrachloro-1,3-benzenedicarbonitrile (CA; 1897-45-6).

化學結構：



分子式： $C_8Cl_4N_2$

分子量：265.9

理化性質：

外觀：無色無味結晶體。

熔點：252.1 °C。

沸點：350°C (760 mmHg)。

蒸氣壓：0.076 mPa (25 °C)。

溶解度：水 0.81 mg/L (25 °C)。丙酮 20.9、二氯乙烷 22.4、乙酸乙酯 13.8、正庚烷 0.2、甲醇 1.7、二甲苯 74.4 (均為 g/L)。

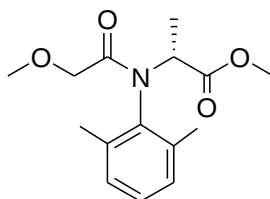
安定性：在室溫下熱安定。於水中和結晶狀態下對紫外光安定。在酸性和弱鹼性水中安定；pH 值 > 9 緩慢水解。

比重：1.732 (20 °C)。

普通名稱：右滅達樂(CIPAC No. 580)

化學名稱：methyl *N*-(methoxyacetyl)-*N*-(2,6-xylyl)-*D*-alaninate; methyl (*R*)-2-[(2,6-dimethylphenyl)methoxyacetyl]amino}propionate (IUPAC). (methyl *N*-(2,6-dimethylphenyl)-*N*-(methoxyacetyl)-*D*-alaninate (CA; 70630-17-0).

化學結構：



分子式： $C_{15}H_{21}NO_4$

分子量：279.3

理化性質：

組成：滅達樂之 (*R*) 型異構物，原體為 ≥91% 純品。

外觀：淡黃色至淡褐色黏稠液體。

熔點：-38.7 °C (玻璃軟移溫度)。

沸點：約 270 °C 分解。

蒸氣壓：3.3 mPa (25 °C)。

溶解度：水 26 g/L (25 °C)，正己烷 59 g/L。可與丙酮、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷、甲苯、正辛醇等溶混。

安定性：在酸性和中性對水解安定 (半衰期 >200 天)；在鹼中半衰期 116 天 (pH 9, 25 °C)。

比重：1.125 (20 °C)。

二、劑型：水懸劑 (SC)。

三、作用：殺菌劑。

四、分析方法：

1. 適用範圍：本方法適用於四氯異苯腈水懸劑中有效成分之定性及定量分析，右滅達樂另以鑑別試驗鑑別之。

2. 檢驗方法：氣液相層析法 (Gas liquid chromatography，簡稱 GLC)。

2.1 裝置：

2.1.1 氣液相層析儀：

2.1.1.1 檢出器：火焰離子化檢出器 (Flame ionization detector，簡稱 FID)。

2.1.1.2 層析管柱：0.25 mm × 30 m (ID × L)，DB-5MS，0.25 μm film thickness，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 四氯異苯腈 (Chlorothalonil)，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.1.2 右滅達樂 (Metalaxyl-M)，純度經標定之分析級對照用標準品。(或相符的外消旋體替代)

2.2.2 內標準品：硬脂酸甲酯 (Methyl stearate) 純度經標定之分析級試藥。

2.2.3 丙酮 (Acetone) 為分析級溶劑。

2.3 器具及材料：

2.3.1 定量瓶 10 mL、25 mL、50 mL、100 mL。

2.3.2 刻度吸管。

2.3.3 試管，附螺旋蓋及鐵氟龍 (Teflon) 墊片。

2.3.4 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 四氯異苯腈貯存標準液：

稱取約含四氯異苯腈 125±10 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 丙酮，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以丙酮定容至刻度，為 5000 μg/mL 貯存標準液。

2.4.2 右滅達樂貯存標準液：

稱取約含右滅達樂 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 50 mL 定量瓶中，加入 45 mL 丙酮，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以丙酮定容至刻度，為 500 μg/mL 貯存標準液。

2.4.3 混合貯存標準液：

精確量取 10.0 mL 之 5000 μg/mL 四氯異苯腈貯存標準液及 10.0 mL 之 500 μg/mL 右滅達樂貯存標準液，置於試管中，混合均勻，為含 2500 μg/mL 四氯異苯腈及 250 μg/mL 右滅達樂之混合貯存標準液。(適用於分析四氯異苯腈與右滅達樂為 10：1 之混合劑)

2.5 貯存內標準液 (Internal standard stock solution) 配製：

秤取約含硬脂酸甲酯 150 ± 10 mg (記錄至 0.1 mg) 之已知純度分析級內標準品，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 mL 丙酮，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以丙酮定容至刻度，為 1500 $\mu\text{g/mL}$ 貯存內標準液。

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

取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 之混合貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，各加入 2.0 mL 之 1500 $\mu\text{g/mL}$ 貯存內標準液，以丙酮稀釋定容至刻度，使成含 300 $\mu\text{g/mL}$ 內標準品之 250+25、500+50、750+75、1000+100、1250+125 $\mu\text{g/mL}$ 之四氯右滅達樂 (四氯異苯腈+右滅達樂) 混合操作標準液 (Working standard solution)。分別取 1 μL 注入氣液相層析儀分析之，分別以濃度為 x 軸、尖峰面積比為 y 軸，經迴歸分析求得二成分之標準檢量線： $y=a+bx$ ，a、b 為常數。

2.7 檢液之配製：

將檢體充分混合後，分別秤取3重複約含四氯異苯腈 75 ± 5 mg (記錄至 0.1 mg) 之樣品 (四氯異苯腈與右滅達樂為 10：1 之混合劑中同時約含 7.5 mg 右滅達樂)，置於 50 mL 定量瓶中，加入 45 mL 丙酮，以超音波振盪 5 分鐘，回至室溫，以丙酮定容至刻度，混合均勻，再取此丙酮溶液 5.0 mL 置於 10 mL 定量瓶中，加入 2.0 mL 貯存內標準液，混合均勻，以丙酮定容至刻度 (最後濃度約含 750 $\mu\text{g/mL}$ 四氯異苯腈、75 $\mu\text{g/mL}$ 右滅達樂及 300 $\mu\text{g/mL}$ 內標準品)，並以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之，作為檢液。

2.8 鑑別試驗及含量測定：

2.8.1 儀器操作條件：

2.8.1.1 溫度：

注入器：250 $^{\circ}\text{C}$ 。

層析管柱：120 $^{\circ}\text{C}$ ，持續 1 分鐘，每分鐘升溫 4 $^{\circ}\text{C}$ ，至 240 $^{\circ}\text{C}$ ，持續 2 分鐘。

檢出器：280 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.8.1.2 氣體流速：

攜帶氣體 (氮氣)：1.0 mL/min。

分流比：1 / 25。

補充氣體 (氮氣)：30 mL/min。

氬氣：40 mL/min。

空氣：400 mL/min。

2.8.2 取操作標準液及檢液各 1 μL ，分別注入氣液相層析儀，就操作標準液與檢液所得尖峰之滯留時間比較鑑別之，分別由二成分之標準檢量線計算檢液四氯異苯腈： $x_c = \frac{y_c - a}{b}$ ，及右滅達樂： $x_m = \frac{y_m - a}{b}$ ，

式中 x_c 為檢液中四氯異苯腈濃度，

y_c 為檢液之面積比 ($= \frac{\text{檢液中四氯異苯腈尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$)，

x_m 為檢液中右滅達樂濃度，

y_m 為檢液之面積比 ($= \frac{\text{檢液中右滅達樂尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$)，

並依下式計算二有效成分含量：

有效成分 (%，w/w)

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

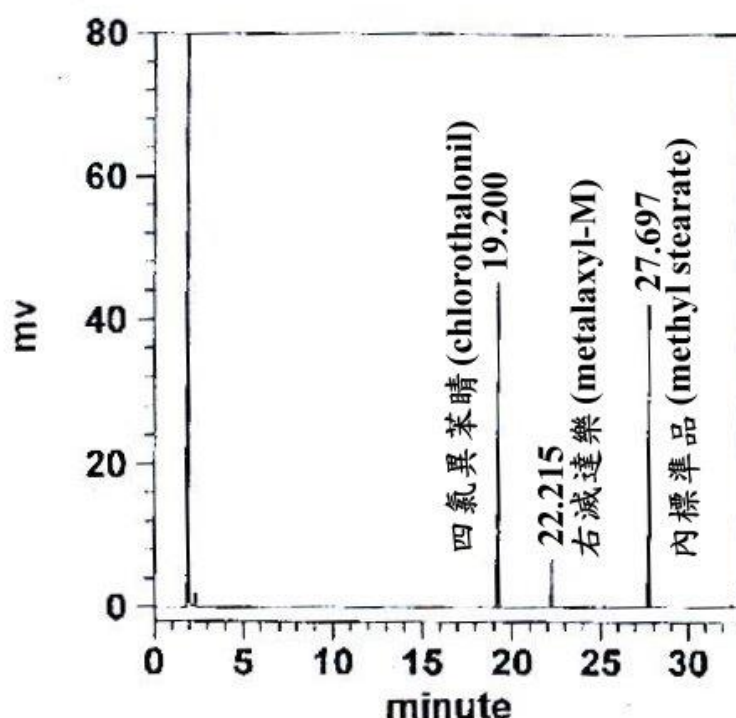
或

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

$\times \text{密度 (g/mL)} \times 1000 (\text{mL/L})$

註：樣品密度參照 CIPAC MT 3.3.2 密度瓶法 (Density bottle method) 進行，測試樣品於操作室溫之密度。

2.9 圖譜：



3. 右滅達樂鑑別試驗：

3.1 高效液相層析法 (High performance liquid chromatography，簡稱 HPLC)。

3.1.1 裝置：

3.1.1.1 高效液相層析儀：

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

3.1.1.1.2 層析管柱：4.6 mm × 250 mm (ID × L)，Chiralcel OJ，或相當等級。

3.1.1.2 超音波振盪裝置 (頻率 40-50 KHz)，振盪器。

3.1.2 試藥：

3.1.2.1 標準品：右滅達樂，純度經標定之分析級對照用標準品。

3.1.2.2 正己烷 (n-Hexane) 為 HPLC 級溶劑。

3.1.2.3 異丙醇 (2-Propanol) 為 HPLC 級溶劑。

3.1.2.4 稀釋溶劑：正己烷 + 異丙醇 (9 + 1, v/v)。

3.1.3 器具及材料：

3.1.3.1 定量瓶 50 mL、100 mL。

3.1.3.2 刻度吸管。

3.1.3.3 0.22 μm 親水性聚丙烯 (Hydrophilic polypropylene) 過濾膜。

3.1.4 對照標準液 (Reference standard solution) 配製：

秤取約含右減達樂 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 50 mL 定量瓶中，加入 45 mL 稀釋溶劑，以超音波振盪至完全溶解 (約 10 分鐘) 後，以稀釋溶劑定容至刻度 (最後濃度約含 500 µg/mL 右減達樂)，並以 0.22 µm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之，作為對照用標準液。

3.1.5 檢液之配製：

將檢體充分混合後，秤取3重複約含右減達樂 50±5 mg (記錄至 0.1 mg) 之樣品，置於 100 mL 定量瓶中，加入 10 mL 異丙醇，以超音波振盪 10 分鐘使之分散，再加入約 80 mL 正己烷，以超音波振盪 10 分鐘回至室溫，以正己烷定容至刻度 (最後濃度約含 500 µg/mL 右減達樂)，並以 0.22 µm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之，作為檢液。

3.1.6 鑑別試驗：

3.1.6.1 儀器操作條件：

3.1.6.1.1 波長：230 nm。

3.1.6.1.2 動相：正己烷 + 異丙醇 (90 + 10, v/v)。

3.1.6.1.3 流速：1.0 mL/min。

3.1.6.1.4 注入量：10 µL。

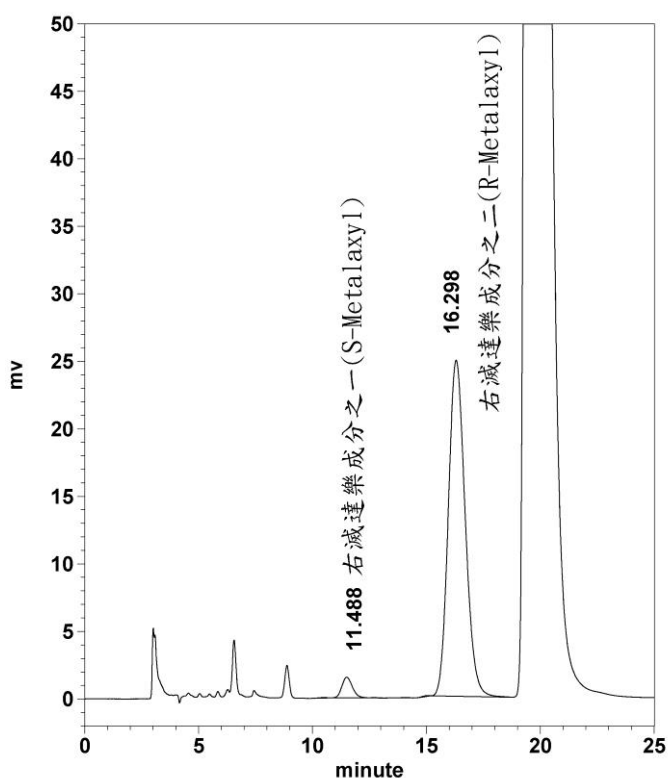
3.1.6.1.5 分析溫度：室溫。

3.1.6.2 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 (S-metalaxyl：11.5 min，R-metalaxyl：16.3 min) 以及二異構物尖峰面積依下式計算光學純度 (R-metalaxyl：≥ 93.6% e.e.) 比較鑑別之。

$$\text{Enantiomer excess (\%)} = \frac{A_R - A_S}{A_R + A_S} \times 100, \text{ } A_R \text{ 為 (R) 型異構物尖峰面積, } A_S \text{ 為 (S) 型異構物尖峰面積。}$$

型異構物尖峰面積。

3.1.7 圖譜：



五、參考文獻：

1. 滅達樂及右滅達樂(Metalaxyl and metalaxyl-M)農藥有效成分檢驗方法。行政院農業委員會 90 年 12 月 20 日(90)農糧字第 900021456 號公告。
2. P. Gut and Dr. Ph. Stampf. Analytical Method AF-1529/1. CGA329351 and Chlorothalonil in Formulation SC (040/400). Syngenta Crop Protection AG. P.9
3. MacBean C., Ed. 2012. "The Pesticide Manual", 16th ed., BCPC.

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 99~101% 之間。(感應因子 = 尖峰面積比 / 濃度比)。
- 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 99~101% 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 99~ 101% 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，依所得之標準品與內標準品尖峰面積比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.內標準液面積查核：所有添加內標準液之注入分析(除貯存內標準液外)，其內標準液面積與系統平衡測試第一重複注入內標準液面積之比值應介於 97~103% 之間。
- 10.滯留時間管制：注入之操作標準液、查核標準液及檢液，其標準品及內標準品尖峰滯留時間分別與進行系統平衡測試注入 1 之標準品及內標準品尖峰滯留時間相較，其比值應介於 98~102% 之間。
- 11.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 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$ ， $RSD_r = RSD_R \times 0.67$)，40% 有效成分含量之樣品可接受 RSD_r 值，計算如下：
 $C = 0.40$
 $RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.40)} = 2.30$
 $RSD_r = 2.30 \times 0.67 = 1.54$
- 12.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。
- 13.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。