

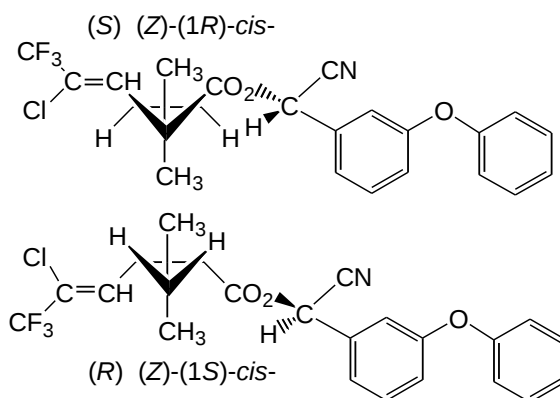
賽洛寧及伽瑪賽洛寧 (Lambda-Cyhalothrin and Gamma-Cyhalothrin) 農藥有效成分 檢驗方法草案

一、農藥結構及物理化學性質：

普通名稱：賽洛寧 (CIPAC No. 463)

化學名稱：a reaction product comprising equal quantities of (S)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (Z)-(1R,3R)-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoropropenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate and (R)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (Z)-(1S,3S)-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoropropenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate. Roth: (S)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (Z)-(1R)-cis-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoropropenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate and (R)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (Z)-(1S)-cis-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoropropenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate (1:1) (IUPAC). [1 α (S*),3 α (Z)]-($\pm$)-cyano(3-phenoxyphenyl)methyl 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate (CA; 91465-08-6).

化學結構：



分子式：C₂₃H₁₉ClF₃NO₃

分子量：449.9

理化性質：

外觀：無色固體。

熔點：49.2 °C，原體 47.5 - 48.5 °C。

蒸氣壓：2 × 10⁻⁴ mPa (20 °C)，2 × 10⁻¹ mPa (60 °C)。

密度：1.33 g/cm³ (25 °C)。

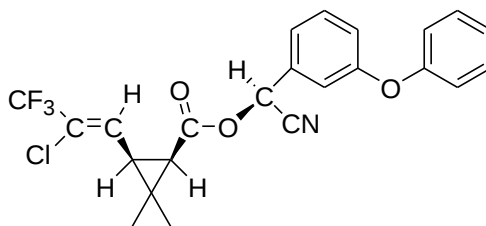
溶解度：水 0.005 mg/L (pH 6.5)，0.004 mg/L (pH 5.0)。在丙酮、甲醇、甲苯、正己烷、乙酸乙酯等溶劑中約 500 g/L(20-25 °C)。

安定性：對光安定，15 - 25 °C 貯存安定 6 個月以上。

普通名稱：伽瑪賽洛寧 (CIPAC No. 768)

化學名稱：(S)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (Z)-(1R,3R)-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate (IUPAC). [1R-[1 α (S*),3 α (Z)]]-cyano(3-phenoxyphenyl)methyl 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate (CAS; 76703-62-3).

化學結構：



分子式： $C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$

分子量：449.9

理化性質：

組成：伽瑪賽洛寧為 ((S) (Z)-(1R)-cis-) 型異構物，原體中 ((S) (Z)-(1R)-cis-) 型異構物佔 98% 以上，相關不純物 ((R) (Z)-(1S)-cis-) 型異構物不得大於 0.3%。

外觀：白色固體。

熔點：54-55 °C。

蒸氣壓： 2.59×10^{-9} mmHg (25 °C)。

溶解度：水 2.1 µg/L (20-25 °C)。丙酮 > 500、1,2-二氯乙烷 > 500、乙酸乙酯 > 500、庚烷 30.7、甲醇 138、正辛醇 36.6、對二甲苯 > 500 (均為 g/L，20-25 °C)。

安定性：對金屬和光安定。

二、劑型：可溼性粉劑 (WP)、乳劑 (EC)、膠囊懸著劑 (CS)。

三、作用：殺蟲劑。

四、分析方法：

- 適用範圍：本方法適用於賽洛寧乳劑、可溼性粉劑及伽瑪賽洛寧膠囊懸著劑中有效成分之定性及定量分析。
- 鑑別試驗：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：正相層析管柱，4.6 mm × 250 mm (ID × L)，DAICEL OD，10 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：

2.2.1.1 賽洛寧，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.1.2 伽瑪賽洛寧，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.2 正己烷 (n-Hexane) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.3 異丙醇 (Isopropanol) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.4 無水硫酸鈉 (Sodium sulfate) 為分析級試藥 (使用前放入烘箱以 100°C 烘乾脫水)。

2.2.5 氯化鈉 (Sodium chloride) 為分析級試藥。

2.2.6 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 50 mL 塑膠離心試管。

2.3.2 刻度吸管

2.3.3 陶瓷均質石(Ceramic Homogenizers)

2.3.4 緩衝混合鹽：比例為 5：1(無水硫酸鈉：氯化鈉)，以旋轉攪拌器均勻混合 1 小時後置於防潮箱備用。

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：

2.4.1 稱取一重複約含伽瑪賽洛寧 10±1 mg (記錄至 0.1 mg) 之已知純度分析級對照用標準品，置於 10 mL 定量瓶中，加入 8 mL 正己烷，以超音波振盪至完全溶解後 (約 1 分鐘)，回至室溫，以正己烷定容至刻度，為 1000 μg/mL 貯存標準液。

2.4.2 稱取一重複約含賽洛寧 20±2 mg (記錄至 0.1 mg) 之已知純度分析級對照用標準品，置於 10 mL 定量瓶中，加入 8 mL 正己烷，以超音波振盪至完全溶解後 (約 1 分鐘)，回至室溫，以正己烷定容至刻度，為 2000 μg/mL 貯存標準液。

2.5 操作標準液 (Working standard solution) 製作：

2.5.1 量取 1.0 mL 之 1000 μg/mL 伽瑪賽洛寧貯存標準液，置於 10 mL 定量瓶中，以正己烷稀釋定容至刻度，並以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之，為含 100 μg/mL 伽瑪賽洛寧操作標準液。

2.5.2 量取 1.0 mL 之 2000 μg/mL 賽洛寧貯存標準液，置於 10 mL 定量瓶中，以正己烷稀釋定容至刻度，並以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之，為含 200 μg/mL 賽洛寧操作標準液。

2.6 檢液之配製：

2.6.1 將檢體充分混合後，稱取約含伽瑪賽洛寧 2±1 mg(記錄至 0.1 mg)之樣品，置於 50 mL 塑膠離心管中，加入 5 mL 純水及陶瓷均質石 1 顆後，以試管振盪器混合 30 秒，靜置 1 分鐘。

2.6.2 加入 20 mL 正己烷後劇烈震盪 2 分鐘，再加入 5 克緩衝混合鹽，劇烈震盪 2 分鐘。

2.6.3 以離心機 1500g 離心 5 分鐘使萃取液分層，取適量上清液以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之，作為檢液(最後濃度約含 100 μg/mL 伽瑪賽洛寧)。

2.7 儀器操作條件：

2.7.1 波長：225 nm。

2.7.2 動相：正己烷+ 異丙醇 (100 + 2, v/v)。(註：所提供之動相僅適用於此一正相管柱，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。)

2.7.3 流速：1.0 mL/min。

2.7.4 注入量：10 μL。

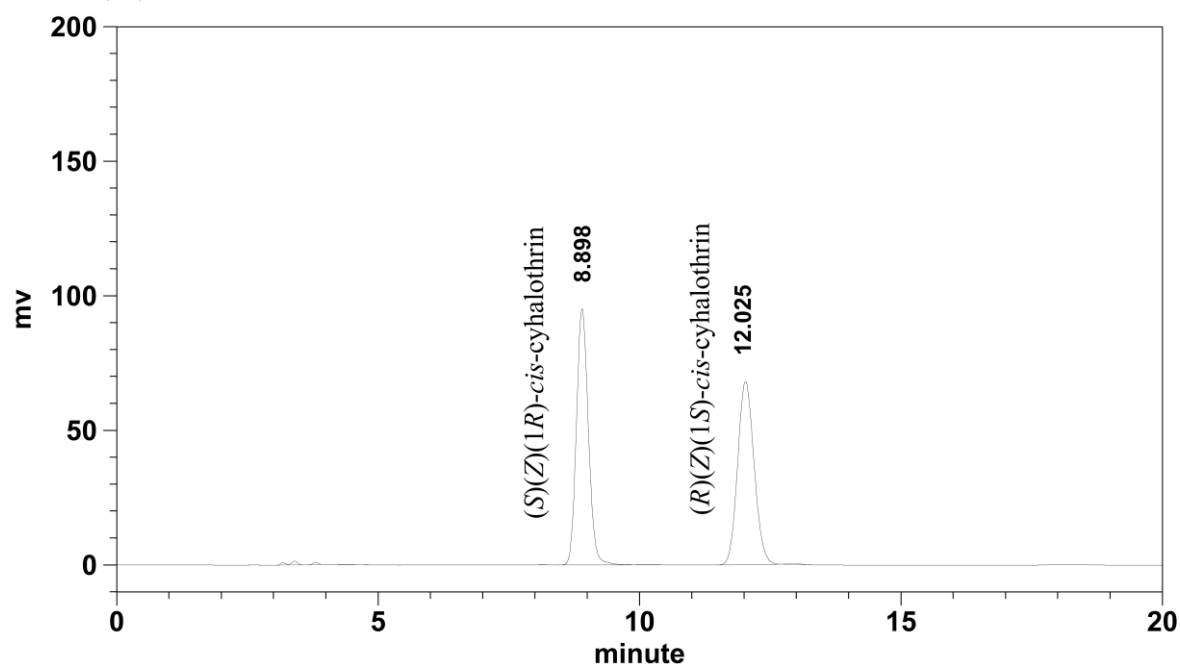
2.7.5 分析溫度：30 °C。

2.8 取操作標準液及檢液各 10 μ L，分別注入高效液相層析儀，就操作標準液所得尖峰之滯留時間 ((*S*)(*Z*)(1*R*)-*cis*-cyhalothrin [76703-62-3]：8-9min；((*R*)(*Z*)(1*S*)-*cis*-cyhalothrin [76703-65-6]：12-13min) 比較鑑別之。((*S*)(*Z*)(1*R*)-*cis*-cyhalothrin： $\geq 99.4\%$ e.e.)

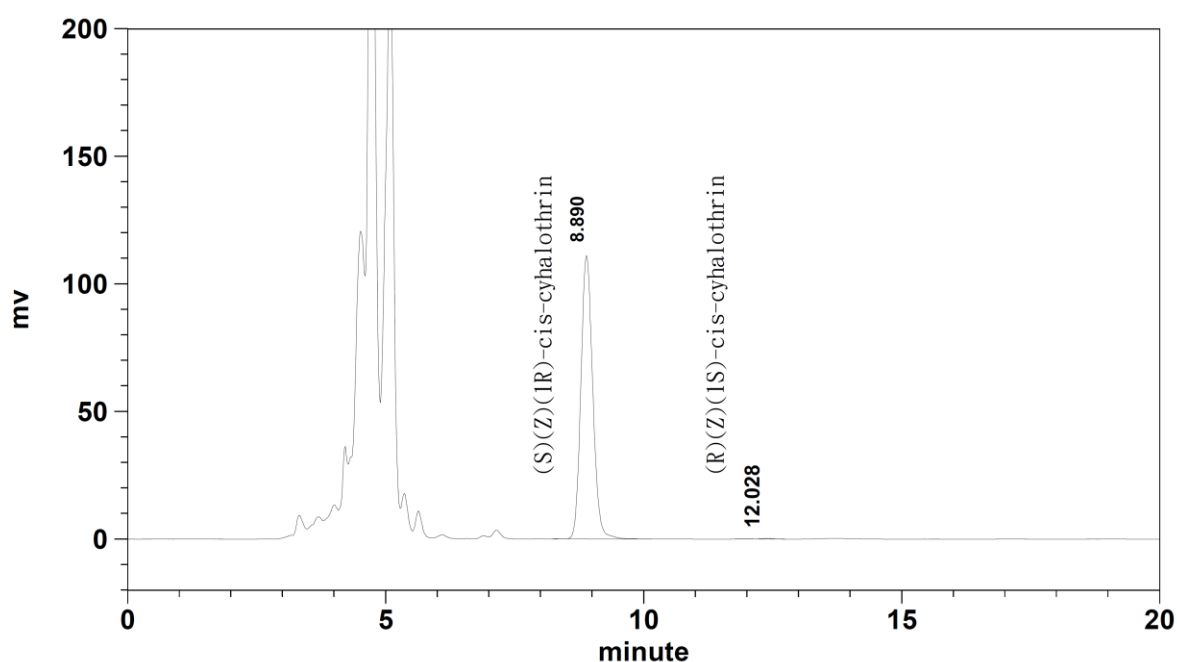
伽瑪賽洛寧之光學純度 (enantiomeric excess) =

$$\frac{(\textit{S})(\textit{Z})(1\textit{R}) - \textit{cis} - \textit{cyhalothrin} - (\textit{R})(\textit{Z})(1\textit{S}) - \textit{cis} - \textit{cyhalothrin}}{(\textit{S})(\textit{Z})(1\textit{R}) - \textit{cis} - \textit{cyhalothrin} + (\textit{R})(\textit{Z})(1\textit{S}) - \textit{cis} - \textit{cyhalothrin}} \times 100(\%)$$

2.9 圖譜：



圖一 賽洛寧參考圖譜



圖二 伽瑪賽洛寧參考圖譜

3. 含量測定：氣液相層析法 (Gas liquid chromatography，簡稱 GLC)。

3.1 裝置：

3.1.1 氣液相層析儀：

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

3.1.1.2 層析管柱：0.25 mm × 30 m (ID × L)，HP-1MS (Crosslinked methyl siloxane)，0.25 μm film thickness，融矽管柱或相當等級。

3.1.2 超音波振盪裝置 (頻率 40-50 KHz)，振盪器。

3.2 試藥：

3.2.1 標準品：賽洛寧，純度經標定之分析級對照用標準品。

3.2.2 內標準品：鄰苯二甲酸二環己酯 (Dicyclohexyl phthalate)，純度經標定之分析級試藥。

3.2.3 丙酮 (Acetone) 為分析級溶劑。

3.3 器具及材料：

3.3.1 定量瓶 10 mL、50 mL、100 mL。

3.3.2 刻度吸管。

3.3.3 0.2 μm 耐龍 (Nylon) 過濾膜。

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

稱取約含賽洛寧 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 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 1000 μg/mL 貯存標準液。

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

稱取約含鄰苯二甲酸二環己酯 130±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 1300 μg/mL 貯存內標準液。

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

取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 之 1000 μg/mL 賽洛寧貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，各加入 2.0 mL 之 1300 μg/mL 貯存內標準液，以丙酮稀釋定容至刻度，使成含 260 μg/mL 內標準品之 100、200、300、400、500 μg/mL 之賽洛寧操作標準液 (Working standard solution)。分別取 1 μL 注入氣液相層析儀分析之，以其濃度比為 x 軸、尖峰面積比為 y 軸，經迴歸分析求得標準檢量線： $y = a + bx$ ，a、b 為常數。

3.7 檢液之配製：

將檢體充分混合後，分別稱取3重複約含賽洛寧 15±1 mg (記錄至 0.1 mg) 之樣品，置於 50 mL 定量瓶中，加入 30 mL 丙酮及 10.0 mL 貯存內標準液，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 (最後濃度約含 300 μg/mL 賽洛寧及 260 μg/mL 內標準品)，並以 0.2 μm 耐龍過濾膜過濾之，作為檢液。

3.8 鑑別試驗及含量測定：

3.8.1 儀器操作條件：

3.8.1.1 溫度：

注入器：300 °C。

層析管柱：225 °C。

檢出器：300 °C。

3.8.1.2 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：30 mL/min。

空氣：300 mL/min。

3.8.2 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

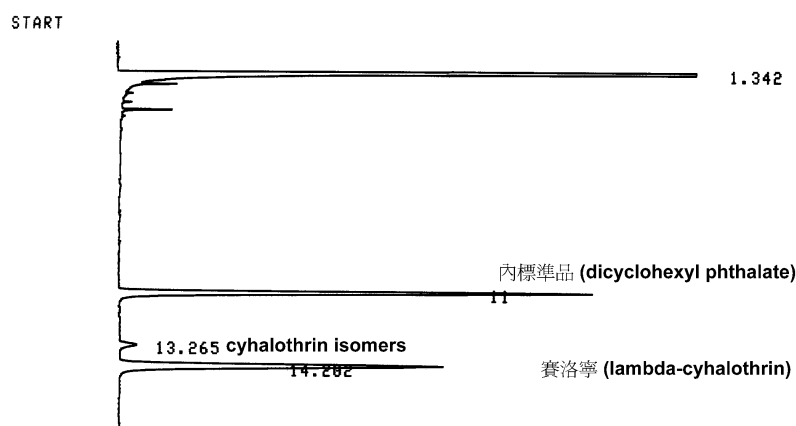
所得尖峰之滯留時間比較鑑別之，由標準檢量線計算檢液濃度： $x = \frac{y - a}{b}$ ，
式中 x 為檢液之濃度，y 為檢液之面積比 ($= \frac{\text{檢液中賽洛寧尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$)，

並依下式計算其含量：

有效成分 (%，w/w)

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

3.9 圖譜：



五、參考文獻：

1. Dobrat, W., and Martijn, A. eds. 1993. "CIPAC Handbook E, Analysis of Technical and Formulated Pesticides", Lambda-cyhalothrin/463. p.49-57. Black Bear Press Ltd., Cambridge, England.
2. Tomlin, C.D.S., Ed. 1997. "The Pesticide Manual", 11th ed., BCPC and RSC, UK.
3. Knaak JB, CC Dary, XF Zhang, RW Gerlach, R Tornero-Velez, DT Chang, R Goldsmith and JN Blancato (2012) Parameters for Pyrethroid Insecticide QSAR and PBPK/PD Models for Human Risk Assessment.
4. Payá P, M Anastassiades, D Mack, I Sigalova, B Tasdelen, J Oliva and A Barba (2007) Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 389(6) : 1697-1714.

5. 行政院農業委員會 92 年 7 月 22 日農糧字第 0920021316 號公告。賽洛寧 (lambda-Cyhalothrin) 農藥有效成分檢驗方法。

6. BCPC Online Pesticide Manual

http://pmonline.azurewebsites.net/_Main/Pesticide.aspx (擷取日期：2018/12/02)

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，其稱取量應大於 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。(僅適用於 3. 含量測定：氣液相層析法)
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 98~102% 之間。
5. 感應因子比值管制：
 - 5.1 操作標準液 (STD A-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。
 - 5.2 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 98~102% 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 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$ ， $RSD_r = RSD_R \times 0.67$)，0.5% 有效成分含量之樣品可接受 RSD_r 值，計算如下：
 $C = 0.005$
 $RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.005)} = 4.44$
 $RSD_r = 4.44 \times 0.67 = 2.97$
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。