

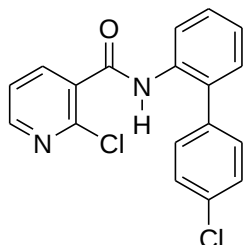
白克列 (Boscalid) 農藥有效成分檢驗方法修正規定

一、農藥結構及物理化學性質：

普通名稱：白克列 (CIPAC No. 673)

化學名稱：2-chloro-*N*-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamide (IUPAC). 2-chloro-*N*-(4'-chloro[1,1'-biphenyl]-2-yl)-3-pyridinecarboxamide (CA; 188425-85-6).

化學結構：



分子式： $C_{18}H_{12}Cl_2N_2O$

分子量：343.2

理化性質：

外觀：白色固體。

熔點：142.8-143.8 °C。

蒸氣壓： 7.2×10^{-4} mPa。

溶解度：水 4.6 mg/L (20 °C)。丙酮 160-200、正庚烷 <10、甲醇 40-50 (g/L, 20 °C)。

安定性：在水溶液中，不易光分解。在 pH 4, 5, 7, 9 下不易水解。

二、劑型：水分散性粒劑 (WG)、水懸劑 (SC)。

三、作用：殺菌劑。

四、分析方法：(方法一)

1. 適用範圍：本方法適用於白克列水分散性粒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, 3.0 mm × 250 mm (ID × L), Polaris C18-A 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：白克列, 純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.2 氰甲烷 (Acetonitrile) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.3 硫酸 (Sulfuric 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 稀釋溶劑：氰甲烷 + 去離子水 (1 + 1, v/v)。

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 0.2 μm 耐龍 (Nylon) 過濾膜。

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

秤取約含白克列 $20 \pm 5 \text{ mg}$ (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 45 mL 稀釋溶劑，以超音波振至完全溶解後 (約 10 分鐘)，回至室溫，以稀釋溶劑定容至刻度，為 400 $\mu\text{g/mL}$ 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 400 $\mu\text{g/mL}$ 白克列貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，以稀釋溶劑稀釋定容至刻度，使成含 20、40、60、80、100 $\mu\text{g/mL}$ 之白克列操作標準液 (Working standard solution)，各操作標準液以 0.2 μm 耐龍過濾膜過濾後，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 重複約含白克列 $60 \pm 5 \text{ mg}$ (記錄至 0.1 mg) 之樣品，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 mL 稀釋溶劑，以超音波振至完全溶解後 (約 10 分鐘)，回至室溫，以稀釋溶劑定容至刻度，混合均勻，再取此溶液 1.0 mL 置於 10 mL 定量瓶，以稀釋溶劑稀釋定容至刻度 (最後濃度約含 60 $\mu\text{g/mL}$ 白克列)，並以 0.2 μm 耐龍過濾膜過濾之，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：205 nm。

2.7.1.2 動相：氰甲烷 + 去離子水 + 0.5 M 硫酸 (500 + 500 + 5, 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。

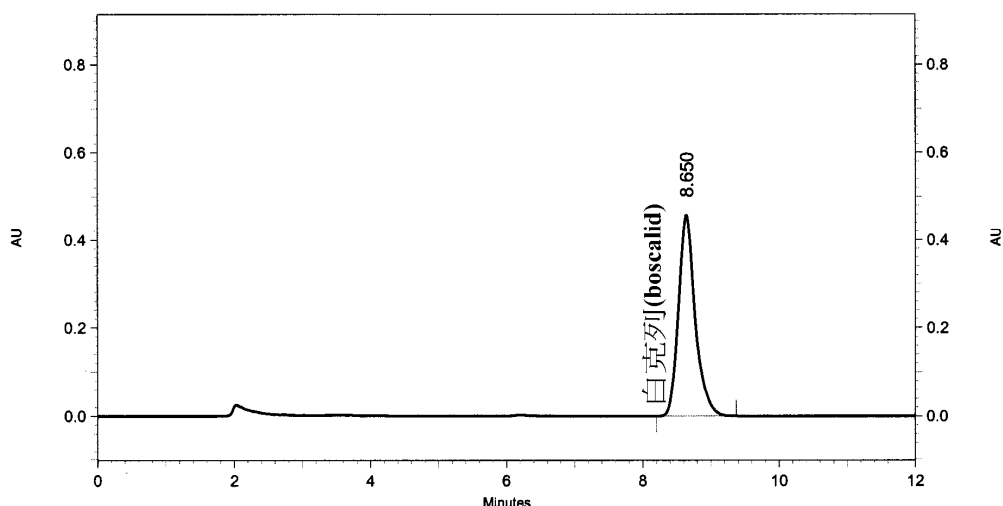
2.7.2 取操作標準液及檢液各 10 μL ，分別注入高效液相層析儀，就操作標準液與檢液所得尖峰之滯留時間比較鑑別之，由標準檢量線計算檢液濃度： $x = \frac{y - a}{b}$ ，式中 x 為檢液中白克列濃度，y 為檢液中白克列尖峰面積，並依下式

計算其含量：

有效成分 (%，w/w)

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

2.8 圖譜：



五、分析方法：(方法二)

1. 適用範圍：本方法適用於白克列水分散性粒劑及水懸劑中有效成分之定性及定量分析。

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

2.1 裝置：

2.1.1 氣相層析儀：

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)，Cp-Sil 5CB，0.25 μm film thickness，WCOT，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：白克列，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.2 內標準品：鄰苯二甲酸丁酯苯甲酯 (Benzyl butyl phthalate)，純度經標定之分析級試藥。

2.2.3 丙酮 (Acetone) 為 HPLC 級溶劑。

2.3 器具及材料：

2.3.1 定量瓶 10 mL、50 mL。

2.3.2 刻度吸管。

2.3.3 0.2 μm 耐龍 (Nylon) 過濾膜。

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

秤取約含白克列 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 10 分鐘)，回至室溫，以丙酮定容至刻度，為 1000 μg/mL 貯存標準液。

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

秤取約含鄰苯二甲酸丁酯苯甲酯 50±5 mg (記錄至 0.1 mg) 之已知純度分析級內標準品，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 1000 µg/mL 白克列貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，各加入 1.0 mL 之 1000 µg/mL 貯存內標準液，以丙酮稀釋定至刻度，使成含 100 µg/mL 內標準品之 100、200、300、400、500 µg/mL 之白克列操作標準液 (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。

2.7 檢液之配製：

將檢體充分混合後，分別秤取 3 重複約含白克列 50 ± 5 mg (記錄至 0.1 mg) 之樣品，置於 50 mL 定量瓶中，加入 1.0 mL 去離子水使其分散，再加入 45 mL 丙酮，以超音波振盪 10 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 3.0 mL 置於 10 mL 定量瓶中，加入 1.0 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 300 µg/mL 白克列及 100 µg/mL 內標準品)，並以 0.2 µm 耐龍過濾膜過濾之，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：280 °C

層析管柱：60 °C，持續 0.5 分鐘，每分鐘升溫 30 °C，至 260 °C，持續 10 分鐘。

檢出器：280 °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。

氫氣：30 mL/min。

空氣：300 mL/min。

2.8.2 取操作標準液及檢液各 1 µL，分別注入氣相層析儀，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，

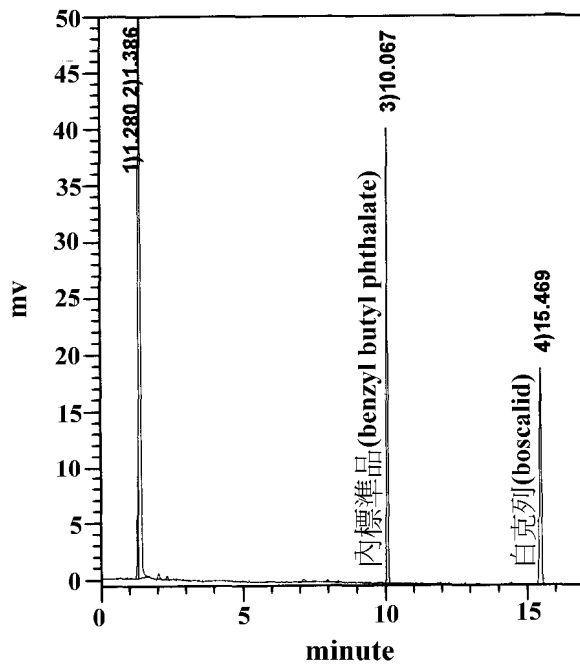
y 為檢液之面積比 ($= \frac{\text{檢液中白克列尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$)，

並依下式計算其含量：

有效成分 (%，w/w)

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

2.9 圖譜：



六、參考文獻：

1. Eisert, R. 1999. Determination of Reg. No. 300355 in tech. active ingredient by HPLC. BASF Analytical method CP-No.290/1. 11pp.
2. Tomlin, C. D. S., Ed. 2003. "The Pesticide Manual", 13th ed., BCPC and RSC, UK.
3. Ziegler. 1999. Determination of the content of the active ingredient Reg. No. 300355 in BAS 510 01 F using GC. BASF Analytical method CF-A571. 13pp.

七、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. 檢量線之線性相關係數 r^2 需達 0.999 或以上。
4. 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 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$ ， $RSD_r = RSD_R \times 0.67$)，50% 有效成分含量之樣品可接受 RSD_r 值，計算如下：

$$C = 0.50$$

$$RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.50)} = 2.22$$

$$RSD_r = 2.22 \times 0.67 = 1.49$$

5. 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。
6. 外標準法須符合：
 - 6.1 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。
 - 6.2 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。

6.3 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。

6.4 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。

7. 內標準法須符合：

7.1 系統平衡測試：重複連續注入操作標準液 (STD A-3)，其連續 2 次注入所得之標準品與內標準品尖峰滯留時間比之比值及尖峰面積比之比值，皆應介於 99 ~ 101% 之間。

7.2 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與內標準品尖峰滯留時間比之比值，應介於 99 ~ 101% 之間，其二者尖峰面積比經標準品純度與用量校正後之比值 ($\frac{A_A}{A_B} \times \frac{S_B \times P_B}{S_A \times P_A}$ ，式中 A 為尖峰面積比， S 為標準品秤取量， P 為標準品純度) 之比值，亦應介於 99 ~ 101% 之間。

7.3 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。

7.4 滯留時間管制：注入之操作標準液、查核標準液及檢液，其標準品與內標準品尖峰滯留時間比與進行系統平衡測試與標準液查核時所得之滯留時間比平均值相較，其比值應介於 99 ~ 101% 之間。