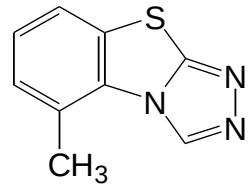
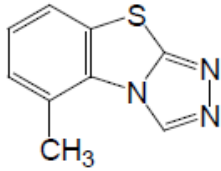


三賽唑(Tricyclazole)農藥有效成分檢驗方法修正草案對照表

修正規定	現行規定	說明
一、農藥結構及物理化學性質： 普通名稱：三賽唑 (CIPAC No. 547) 化學名稱：5-methyl-1,2,4-triazolo[3,4-<i>b</i>][1,3]benzothiazole (IUPAC). 5-methyl-1,2,4-triazolo[3,4-<i>b</i>]benzothiazole (CAS; 41814-78-2) 化學結構：  分子式：C₉H₇N₃S 分子量：189.2 理化性質： 外觀：結晶固體。 熔點：<u>184.6-187.2</u>°C。 沸點：<u>275</u>°C/<u>760 mmHg</u>。 蒸氣壓：<u>0.000586 mPa (20°C)</u>、<u>0.0014 mPa (25°C)</u>。 <u>比重：1.4 (20-25°C)</u> 溶解度：水 <u>596 mg/L (20-25°C)</u>。丙酮 <u>13.8 g/L</u>、<u>1,2-二氯乙烷 42.9 g/L</u>、<u>乙酸乙酯 4.92 g/L</u>、<u>正庚烷 0.0186 g/L</u>、<u>甲醇 26.5 g/L</u>、<u>正辛醇 7.49 g/L</u>、<u>二甲苯 4.94 g/L</u> (均為 20-25°C)。 安定性：<u>水解半衰期大於五天 (pH 4、7、9，50°C)</u>。<u>水中光分解半衰期：145 天 (pH 7，25°C)</u>。 二、劑型：可溼性粉劑 (WP)、<u>粒劑 (GR)</u>、<u>水懸劑(SC)</u>。 三、作用：殺菌劑。 四、分析方法： 1.適用範圍：本方法適用於三賽唑可溼性粉劑、<u>粒劑及水懸劑</u>中有效成分之定性及定量分析。 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)，<u>AbelBonded AB-1MS</u>，<u>0.25 μm film thickness</u>，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：三賽唑，純度經標定之分析級對照用標準品。 2.2.2 內標準品：<u>鄰苯二甲酸二丁酯 (Dibutyl phthalate)</u>，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 <u>10 mL</u>、<u>25 mL</u>、<u>50 mL</u>、<u>100 mL</u>。	一、農藥結構及物理化學性質： 普通名稱：三賽唑 化學名稱：5-methyl-1,2,4-triazolo[3,4-<i>b</i>][1,3]benzothiazole (IUPAC). 5-methyl-1,2,4-triazolo[3,4-<i>b</i>]benzothiazole (CA)₂ 化學結構：  分子式：C₉H₇N₃S 分子量：189.2 理化性質： 外觀：結晶固體。 熔點：187-188°C。 沸點：275°C。 蒸氣壓：0.027 mPa (25 °C)。 溶解度：水 1.6 g/L (25 °C)。丙酮 10.4、甲醇 25、二甲苯 2.1 μg/L，25 °C)。 安定性：在 52 °C下安定 (最高貯存溫度測試)。對紫外線較安定。 二、劑型：可溼性粉劑 (WP)。 三、作用：殺菌劑。 四、分析方法： 1. 適用範圍：本方法適用於三賽唑可溼性粉劑中有效成分之定性及定量分析。 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)，CP-sil 5CB，WCOT，融矽管柱或相當等級。 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：三賽唑，純度經標定之分析級對照用標準品。 2.2.2 內標準品：苯二甲酸二丁酯 (Dibutyl phthalate)，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 <u>5 mL</u>、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： 精確稱取已知純度之三賽唑分析級對照用標準品 50 mg (精確至 0.1 mg)，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，回至室溫，以丙酮定容至刻度，為 1000 μg/mL 貯存標準液。	現行檢驗方法僅適用於可溼性粉劑，因應市場上新增粒劑、水懸劑劑型並廣泛使用，爰將粒劑、水懸劑劑型納入，同時依據國際具公信力之檢驗機構英國作物生產學會 (the British Crop Production Council，簡稱 BCPC) 之理化資料更新物理化學性質及圖譜，增加檢驗準確度。

2.3.2 <u>螺旋蓋三角瓶 250 mL。</u> 2.3.3 <u>刻度吸管。</u> 2.3.4 <u>0.22 μm 親水性聚丙烯(Hydrophilic polypropylene)過濾膜。</u> 2.4 貯存標準液 (Standard stock solution) 配製(STD A)： 精確稱取已知純度之三賽唑分析級對照用標準品 <u>25 ± 5 mg (記錄至 0.1 mg)</u>，置於 <u>25 mL</u> 定量瓶中，加入 <u>20 mL</u> 丙酮，以超音波振盪至完全溶解後，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 stock solution) 配製： 精確稱取已知純度之鄰苯二甲酸二丁酯分析級內標準品 <u>200 ± 10 mg (記錄至 0.1 mg)</u>，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，回至室溫，以丙酮定容至刻度，為 <u>2000 μg/mL</u> 貯存內標準液。 2.6 標準檢量線 (Standard calibration curve) 製作(STD A-1 ~ STD A-5)： 取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 之 1000 μg/mL 三賽唑貯存標準液，分別置於 <u>10 mL</u> 定量瓶中，各加入 <u>1.0 mL</u> 之 <u>2000 μg/mL</u> 貯存內標準液，以丙酮稀釋定容至刻度，使成含 <u>200 μg/mL</u> 內標準品之 100、200、300、400、500 μg/mL 之三賽唑操作標準液 (Working standard solution)。各操作標準液以 <u>0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾後</u>，分別取 1 μL 注入氣液相層析儀分析之，以其濃度為 x 軸、尖峰面積比為 y 軸，經迴歸分析求得標準檢量線：y = a + b x，a、b 為常數。 2.7 檢液之配製： <u>2.7.1 可溼性粉劑、水懸劑：</u> 將檢體充分混合後，分別稱取 <u>3 重複約含 150 ± 15 mg (紀錄至 0.1 mg)三賽唑</u>之樣品，置於 <u>50 mL</u> 定量瓶中，加入 <u>40 mL</u> 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 <u>1.0 mL</u> 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 (最後約含 300 μg/mL 三賽唑及 <u>200 μg/mL</u> 內標準品)，並以 <u>0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之</u>，作為檢液。 <u>2.7.2 粒劑：</u> 將檢體充分混合後，分別稱取 <u>3 重複約含 30 ± 3 mg (紀錄至 0.1 mg) 之三賽唑</u>樣品，置於 250 mL 之螺旋蓋三角瓶中，加入 50 mL 丙酮，混合均勻後，以超音波振盪器振盪 30 分鐘，回至室溫之後，再取此丙酮溶液 <u>5.0 mL</u> 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(最後約含 300 μg/mL 三賽唑及 200 μg/mL 內標準品)，並以 <u>0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之</u>，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：260℃。 層析管柱：150℃，持續 1 分鐘，每分鐘升溫 10℃，至 260℃，持續 3 分鐘。 檢出器：270℃。 2.8.1.2 氣體流速： 攜帶氣體 (氮氣)：<u>採程式壓力控制 (Programmable pressure control，PPC)</u>，<u>固定流速 1.2 mL/min。</u> 分流比：1 / 25。 氮氣：45 mL/min。 空氣：450 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，由標準檢量線計算檢液濃度比： $x = \frac{y-a}{b}$， 式中 x 為檢液之濃度比 ($= \frac{\text{檢液中三賽唑濃度}}{\text{檢液中內標準品濃度}}$)—， y 為檢液之面積比 ($= \frac{\text{檢液中三賽唑尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$)—， 並依下式計算其含量： 有效成分 (％，克/克) =檢液濃度比 × $\frac{\text{檢液中添加之內標準品濃度 (μg/mL)} \times \text{稀釋體積 (mL)} \times \frac{1\text{g}}{10^6 \text{ μg}} \times \frac{1}{\text{檢體重 (g)}} \times 100 (\%)$ 2.9 圖譜：	2.5 貯存內標準液 (Internal standard stock solution) 配製： 精確稱取已知純度之苯二甲酸二丁酯分析級內標準品 150 mg (精確至 0.1 mg)，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，回至室溫，以丙酮定容至刻度，為 1500 μg/mL 貯存內標準液。 2.6 標準檢量線 (Standard calibration curve) 製作： 取 <u>0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL</u> 之 1000 μg/mL 三賽唑貯存標準液，分別置於 5 mL 定量瓶中，各加入 0.5 mL 之 1500 μg/mL 貯存內標準液，以丙酮稀釋定容至刻度，使成含 150 μg/mL 內標準品之 100、200、300、400、500 μg/mL 之三賽唑操作標準液 (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<u>可溼性粉劑</u>檢體充分混合後，分別稱取三重覆約含 75 mg 主成分之樣品，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 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 4.0 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 (最後約含 300 μg/mL 三賽唑及 150 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：260℃。 層析管柱：150℃，持續 1 分鐘，每分鐘升溫 10℃，至 260℃，持續 3 分鐘。 檢出器：270℃。 2.8.1.2 氣體流速： 攜帶氣體 (氮氣)：<u>採程式壓力控制 (Programmable pressure control，PPC)</u>，<u>固定流速 1.2 mL/min。</u> 分流比：1 / 25。 氮氣：45 mL/min。 空氣：450 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，由標準檢量線計算檢液濃度比： $x = \frac{y-a}{b}$， 式中 x 為檢液之濃度比 ($= \frac{\text{檢液中三賽唑濃度}}{\text{檢液中內標準品濃度}}$)—， y 為檢液之面積比 ($= \frac{\text{檢液中三賽唑尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$)—， 並依下式計算其含量： 有效成分 (％，克/克) =檢液濃度比 × $\frac{\text{檢液中添加之內標準品濃度 (μg/mL)} \times \text{稀釋體積 (mL)} \times \frac{1\text{g}}{10^6 \text{ μg}} \times \frac{1}{\text{檢體重 (g)}} \times 100 (\%)$ 2.9 圖譜：
--	--

氫氣：40 mL/min。
空氣：400 mL/min。

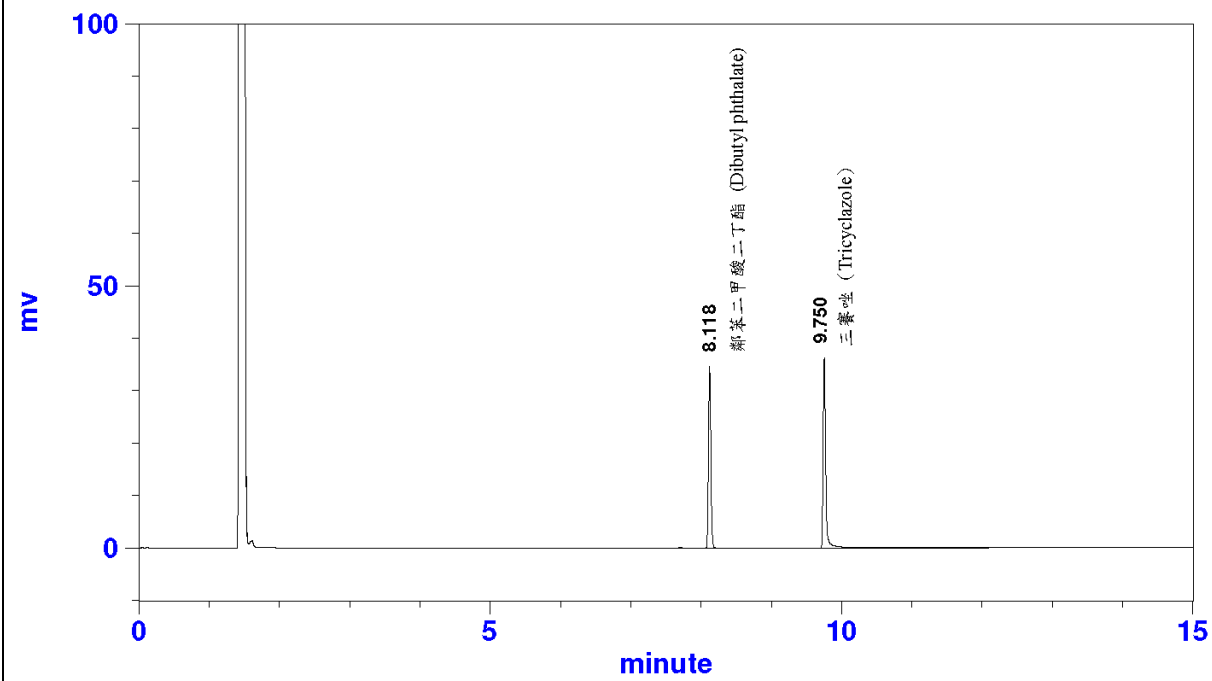
2.8.2 取操作標準液及檢液各 1 μL，分別注入氣液相層析儀，就操作標準液與檢液所得尖峰之滯留時間比較鑑別之，由標準檢量線計算檢液濃度： $x = \frac{y-a}{b}$ ，
式中 x 為檢液之濃度，

y 為檢液之面積比 ($= \frac{\text{檢液中三賽唑尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$)

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：

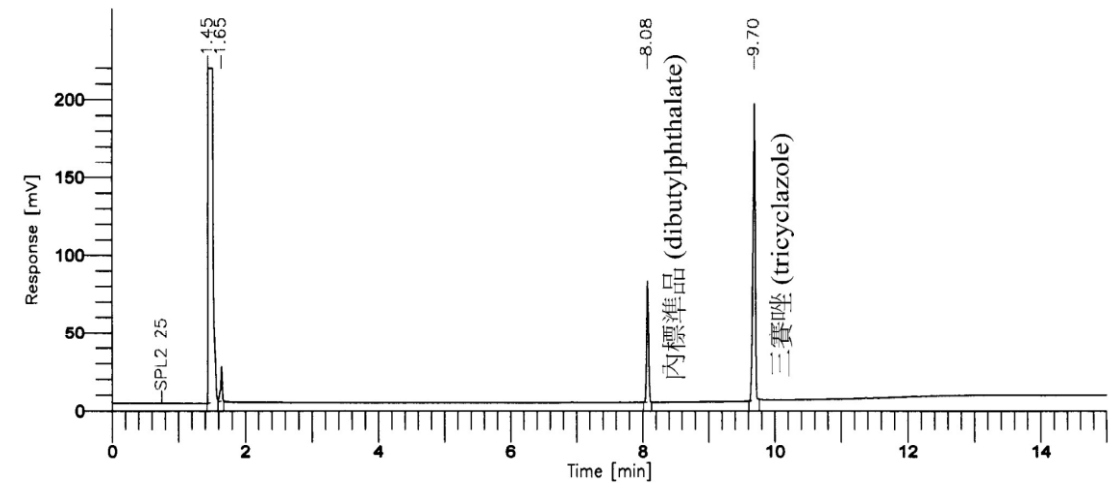


五、參考文獻：

- 1.BCPC Online Pesticide Manual. <http://pmonline.azurewebsites.net/Main/Pesticide.aspx> (擷取日期：2021/03/17)
- 2.三賽唑 (Tricyclazole) 農藥有效成分檢驗方法，行政院農業委員會 89 年 5 月 30 日農糧字第 890020475 號公告。

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 (STDB) 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 (STDB-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：



3. 參考文獻：

- (1) Tomlin, C. D. S., Ed. 1997. “The Pesticide Manual”, 11th ed., BCPC and RSC, UK.

五、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.檢量線至少包含三個不同濃度 (含) 以上標準液。其線性相關係數 (r^2) 需達 0.995 以上。
- 3.重複注入標準液之變異不可超過 1%，注入儀器之順序為標準液 1/1-標準液 2/1-檢液 1/1-檢液 2/1-標準液 1/2-標準液 2/2-檢液 1/2-檢液 2/2-標準液 1/3-標準液 2/3-檢液 1/3-檢液 2/3。
- 4.每測定 15 個樣品後，必須以另一標準液查核檢量線，以比較其感應因子與原感應因子，若其相對偏差在 10% 以內，則可使用原檢量線分析，若超過 10%，則應重新製備檢量線。
- 5.重複樣品分析時，每個樣品需做二重複。重複樣品是指經由同樣之樣品前處理及分析步驟，用來測定分析之精密度。重複樣品分析求得相對百分偏差需小於 10%。並可依 CIPAC 農藥成品分析方法確認指南中 Horwitz 方程式計算可接受之 RSD_r 值。例如 75% 之有效成分含量， $\%RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$ ， $C=0.75$ ， $RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)} = 2.09$ 是實驗室間之 CV 值。而重複性可接受之 $RSD_r = RSD_R \times 0.67 = 1.40$ 。

5.1 <u>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。</u> 5.2 <u>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。</u> 6.<u>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。</u> 7.<u>檢量線之線性相關係數平方值 r² 需達 0.999 或以上。</u> 8.<u>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。</u> 9.<u>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。</u> 10.<u>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。</u> 11.<u>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^(1-0.5logC)，RSDr=RSD_R×0.67)，41.7% 有效成分含量之樣品可接受 RSDr 值，計算如下：</u> C = 0.417 RSD_R = 2^(1-0.5log0.417) = <u>2.28</u> RSDr = <u>2.28</u> × 0.67 = <u>1.53</u> 12.<u>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。</u> 13.<u>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。</u>		
---	--	--