

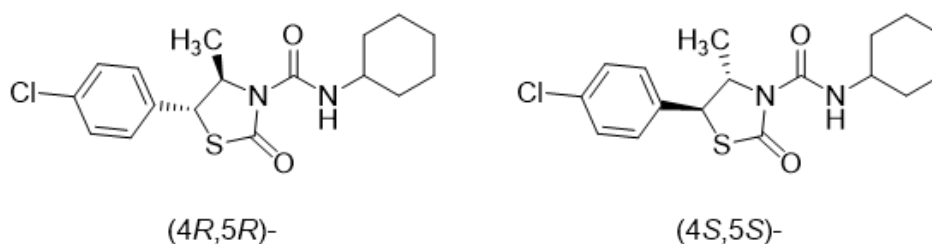
合賽多 (Hexythiazox) 農藥有效成分檢驗方法修正規定

一、農藥結構及物理化學性質：

普通名稱：合賽多 (CIPAC No.439)

化學名稱：(4*RS*5*RS*)-5-(4-chlorophenyl)-*N*-cyclohexyl-4-methyl-2-oxo-1,3-thiazolidine-3-carboxamide (IUPAC). (4*R*,5*R*)-rel-5-(4-chlorophenyl)-*N*-cyclohexyl-4-methyl-2-oxo-3-thiazolidinecarboxamide (CA;78587-05-0).

化學結構：



分子式：C₁₇H₂₁ClN₂O₂S

分子量：352.9

理化性質：

外觀：灰白色結晶固體。

熔點：105.4°C。

蒸氣壓：1.333 x 10⁻³ mPa (20°C)。

比重：1.283 (20-25°C)。

溶解度：水 0.41 mg/l (20~25 °C)。丙酮 159 g/L、氯甲烷 34.5 g/L、氯仿 1379 g/L、正己烷 4.64 g/L、甲醇 17.6 g/L、二甲苯 230 g/L (皆為 20-25 °C)。

安定性：對熱、光和水汽安定(150°C下穩定)；水溶液於光照下的半衰期為 51 天，於 pH 值 5、7、9 時安定。

二、劑型：可溼性粉劑 (WP)、乳劑 (EC)。

三、作用：殺蟎劑。

四、分析方法：(方法一)

1. 適用範圍：本方法適用於合賽多之可濕性粉劑有效成分定性及定量分析。

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 高效液相層析儀操作條件：

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：3.2 mm × 250 mm(ID×L) 5 μm，逆相層析管柱，Inertsil 5 ODS-2，或相當等級。

2.1.2 超音波振盪裝置，振盪器。

2.1.3 離心機 (Sigma 302)。

2.2 試藥：

2.2.1 標準品：合賽多，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 去離子水(18.0 MΩ.cm 以上，0.22 μm 濾膜過濾)。

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 30 mL 離心管。

2.3.4 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合賽多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，加入甲醇 40 mL，以超音波振盪 2 分鐘，振盪完全溶解後，回至室溫，以甲醇定容至刻度，相當於 1000 μg/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 1000 μg/ml 合賽多貯存標準液，分別置於 10mL 定量瓶中，並以甲醇定容至刻度，為 50、100、150、200、250μg/mL 之合賽多操作標準液 (Working standard solution)。分別取 20 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，經線性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，分別稱取 3 重複約含 15 mg 主成份之樣品，置於 30 mL 離心管中，加入 25 mL 甲醇並以超音波振盪萃取 2 分鐘後，於 25°C、3000 rpm 下，離心 5 分鐘，取上層液置於 100 mL 定量瓶中，重覆以上萃取步驟 3 次，將萃取液合併於 100 mL 定量瓶，以甲醇定容至刻度 (最後濃度約 150μg/mL)。

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：225 nm。

2.7.1.2 動相：甲醇：水 = 75：25，(V/V)。

2.7.1.3 流速：0.5 mL/min。

2.7.1.4 注入量：20 μL。

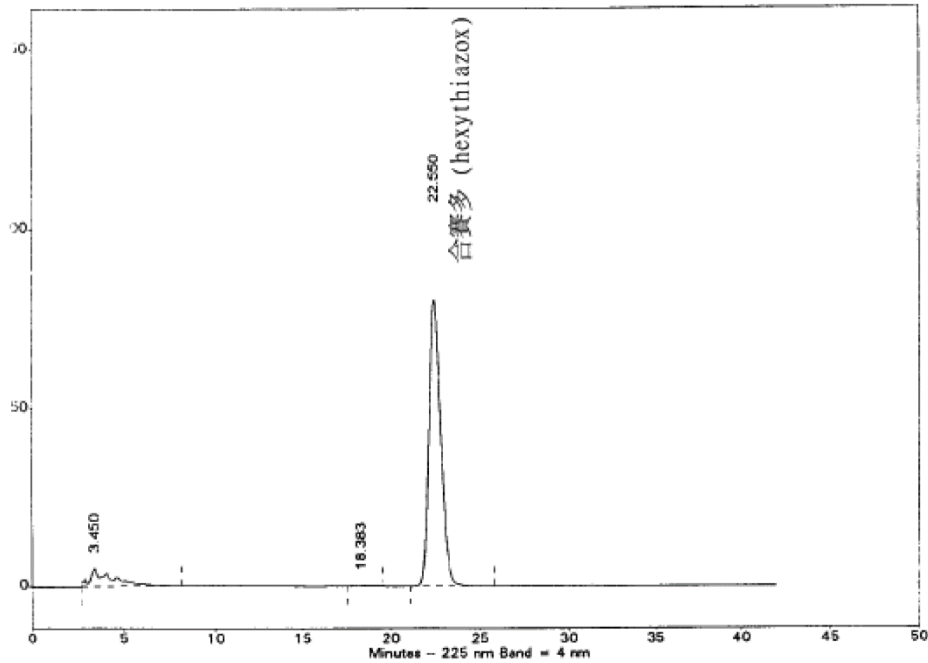
2.7.1.5 分析溫度：室溫。

2.7.2 取操作標準液及檢液各 20 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 為檢液濃度、y 為檢液尖峰面積，並依下式計算其含量：

有效成分(%，w/w)

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

2.8 圖譜：



五、分析方法：(方法二)

1. 適用範圍：本方法適用於合賽多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：Agilent, ZORBAX Eclipse XDB-C8, 4.6*250 mm(ID*L), 5 μ m 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：合賽多，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.2 內標準品：苯甲酸乙酯 (Ethyl benzoate), 純度經標定之分析級試藥。

2.2.3 氰甲烷 (Acetonitrile) 為分析級溶劑。

2.2.4 去離子水(18.0M Ω .cm 以上, 0.22 μ m 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 μ m 親水性聚丙烯過濾膜。

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

秤取約含合賽多 25 \pm 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 20 mL 氰甲烷，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以氰甲烷定容至刻度，為 1000 μ g/mL 貯存標準液。

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

秤取約含苯甲酸乙酯 100±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，加入氯甲烷 90 mL，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以氯甲烷定容至刻度，為 1000 µg/ml 貯存內標準液。

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

取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 之 1000 µg/mL 合賽多貯存標準液，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，以氯甲烷稀釋定容至刻度，使成含 100 µg/mL 內標準品之 50、100、150、200、250 µg/mL 之合賽多操作標準液 (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，經相關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 重覆約含合賽多 30±3 mg (記錄至 0.1 mg) 之樣品，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 mL 氯甲烷，以超音波振盪 10 分鐘，回至室溫，以氯甲烷定容至刻度，混合均勻，再取此氯甲烷溶液 5.0 mL 置於 10 mL 定量瓶，加入 1.0 mL 貯存內標準液，混合均勻，以氯甲烷定容至刻度 (最後濃度約含 150 µg/mL 合賽多及 100 µg/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 動相：氯甲烷：水 = 55：45，(v/v)。

2.8.1.2 流速：1.5 mL/min

2.8.1.3 波長：240nm。

2.8.1.4 注入量：10 µL。

2.8.1.5 分析溫度：40 °C。

2.8.2 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 為檢液之濃度檢液中合賽多濃度，

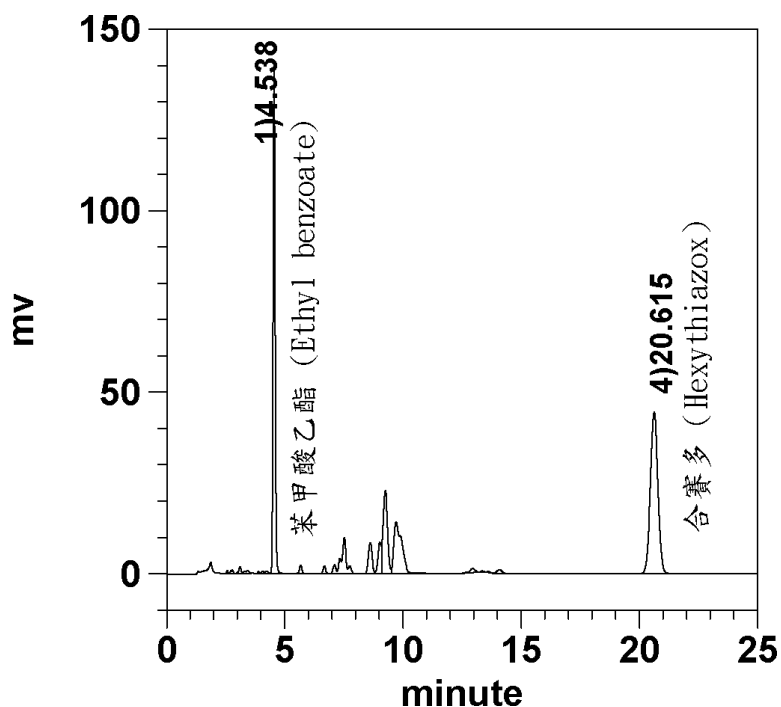
y 為檢液之面積比，計算公式為 $\frac{\text{檢液中合賽多尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$ ，

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. 合賽多 (Hexythiazox) 農藥有效成分檢驗方法。行政院農業委員會 87 年 12 月 3 日 87 農糧字第 87020766 號公告。
2. BCPC Online Pesticide Manual.
http://pmonline.azurewebsites.net/_Main/Pesticide.aspx (擷取日期：2018/04/11)
3. Nippon Soda Co., Ltd. 1987. Analytical method for hexythiazox 5% EC (Nissorun E.C. (50 g/l)). Nippon Soda Co., Ltd (RD-8735). 4 pp.

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. 建議使用不同來源或相同來源不同批號之標準品做為查核標準品，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。
3. 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 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$), $RSD_r = RSD_R \times 0.67$), 5% 有效成分含量之樣品可接受 RSD_r 值，計算如下：
- $$C = 0.05$$
- $$RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.05)} = 3.14$$
- $$RSD_r = 3.14 \times 0.67 = 2.10$$
- 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。