

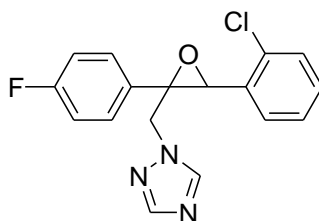
依普克敏 (Epoconazole + Pyraclostrobin) 農藥有效成分檢驗方法

一、農藥結構及物理化學性質：

普通名稱：依普座 (CIPAC No. 609)

化學名稱：(2*RS*,3*SR*)-1-[3-(2-chlorophenyl)-2,3-epoxy-2-(4-fluorophenyl)propyl]-1*H*-1,2,4-triazole (IUPAC). *cis*-1-[[3-(2-chlorophenyl)-2-(4-fluorophenyl)oxiranyl]methyl]-1*H*-1,2,4-triazole (CA; 133855-98-8).

化學結構：



分子式：C₁₇H₁₃ClFN₃O

分子量：329.8

理化性質：

組成：有效成份為 (2*R*,3*S*) 及 (2*S*,3*R*) 一對鏡像異構物。

外觀：無色結晶。

熔點：136.2-137 °C。

蒸氣壓：< 0.01 mPa (20 °C)。

溶解度：水 6.63×10^{-4} g/100 mL (20 °C)。丙酮 14.4、二氯甲烷 29.1、庚烷 0.04 (均為 g/100 mL)。

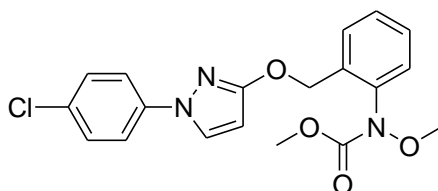
安定性：在 pH 5 和 pH 7 下 12 天內不水解。

比重：1.384(室溫)。

普通名稱：百克敏 (CIPAC No. 657)

化學名稱：methyl *N*-{2-[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]methyl}phenyl}(*N*-methoxy)carbamate (IUPAC). methyl[2-[[[1-(4-chlorophenyl)-1*H*-pyrazol-3-yl]oxy]methyl]phenyl]methoxycarbamate (CA; 175013-18-0).

化學結構：



分子式：C₁₉H₁₈ClN₃O₄

分子量：387.8

理化性質：

外觀：白色至米色結晶固體。

熔點：63.7-65.2 °C。

蒸氣壓： 2.6×10^{-5} mPa (20 °C)。

溶解度：水 1.9 mg/L (20 °C)。正庚烷 3.7、異丙醇 30.0、辛醇 24.2、橄欖油 28.0、甲醇 100.8，丙酮、乙酸乙酯、氟甲烷、二氯甲烷、甲苯皆大於 500 (均為 g/L，20 °C)。

安定性：於 pH 5-7, 25 °C 下，其安定性大於 30 天。在水中光分解半衰期 1.7 天。

比重：1.367(20 °C)。

二、劑型：濃懸乳劑 (SE)。

三、作用：殺菌劑。

四、分析方法：

1. 適用範圍：本方法適用於依普克敏濃懸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：逆相層析管柱，4.6 mm × 250 mm (ID × L)，Phenomenex，Gemini- NX C18，5 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：

2.2.1.1 百克敏 (Pyraclostrobin)，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.1.2 依普座 (Epoconazole)，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.3 氟甲烷 (Acetonitrile) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.4 冰醋酸 (Glacial acetic acid) 為分析級試藥。

2.2.5 硫酸 (Sulfuric acid) 為分析級試藥 (純度 96%，比重 1.84)。

2.2.6 去離子水 (≥18.0 MΩ-cm，經 0.2 μm 濾膜過濾)。

2.2.7 0.5 M 硫酸溶液：在 1000 mL 定量瓶中加入 500 mL 去離子水，緩緩注入 27.6 mL 硫酸，待回至室溫後用去離子水稀釋至刻度，混合均勻。

2.3 器具及材料：

2.3.1 定量瓶 10 mL、25 mL、100 mL、1000 mL。

2.3.2 刻度吸管。

2.3.3 螺旋蓋三角瓶 125 mL。

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 百克敏貯存標準液：

稱取約含百克敏 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 25 mL 定量瓶中，加入 20 mL 氟甲烷和 0.5 mL 0.5 M 硫酸，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以去離子水定容至刻度，為 1000 μg/mL 貯存標準液。

2.4.2 依普座貯存標準液：

稱取約含依普座 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 25 mL 定量瓶中，加入 20 mL 氟甲烷和 0.5 mL 0.5 M 硫酸，以超音波振

盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以去離子水定容至刻度，為 1000 $\mu\text{g/mL}$ 貯存標準液。

2.4.3 混合貯存標準液：

精確量取 15.0 mL 之 1000 $\mu\text{g/mL}$ 百克敏貯存標準液及 10.0 mL 之 1000 $\mu\text{g/mL}$ 依普座貯存標準液，置於 125 mL 螺旋蓋三角瓶中，混合均勻，為含 600 $\mu\text{g/mL}$ 百克敏及 400 $\mu\text{g/mL}$ 依普座之混合貯存標準液。(適用於分析百克敏與依普座為 3：2 之混合劑)

2.5 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，以氙甲烷稀釋定容至刻度，使成含 60+40、120+80、180+120、240+160、300+200 $\mu\text{g/mL}$ 之 依普克敏 (百克敏+依普座) 混合操作標準液 (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，分別秤取三重複約含百克敏 $8 \pm 3 \text{ mg}$ (記錄至 0.1 mg) 之樣品 (百克敏與依普座為 8.17：6 之混合劑中同時約含 6 mg 依普座)，置於 50 mL 定量瓶中，加入 10 mL 去離子水、35 mL 氙甲烷和 1 mL 0.5 M 硫酸，以超音波振盪 5 分鐘，回至室溫，以去離子水定容至刻度，混合均勻 (最後濃度約含 160 $\mu\text{g/mL}$ 百克敏和 118 $\mu\text{g/mL}$ 依普座)，並以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之，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：237 nm。

2.7.1.2 動相：氙甲烷 + 去離子水 + 冰醋酸 (750 + 250 + 1, v/v/v)。

2.7.1.3 流速：1 mL/min 維持 7.3 分，0.2 分內調升為 2 mL/min，維持 6 分，0.2 分內調降為 1 mL/min，維持 2 分。(視情況調整使有效成分滯留時間小於 7.3 分)

2.7.1.4 注入量：10 μL 。

2.7.1.5 分析溫度：40 $^{\circ}\text{C}$ 。

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，分別由二有效成分標準檢量線計算檢

液濃度： $x_p = \frac{y_p - a}{b}$ ，式中 x_p 為檢液中百克敏濃度， y_p 為檢液中百克敏尖

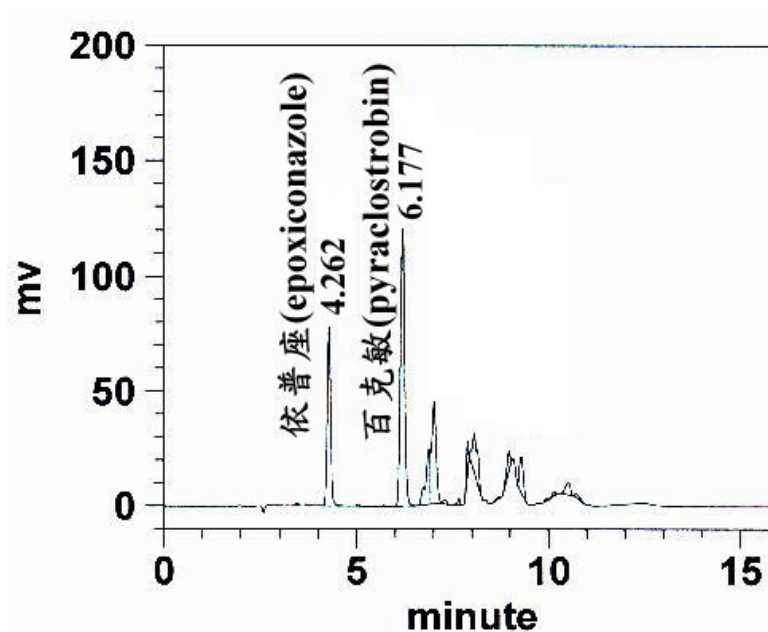
峰面積； $x_e = \frac{y_e - a}{b}$ ，式中 x_e 為檢液中依普座濃度， y_e 為檢液中依普座尖峰

面積，並依下式計算二有效成分含量：

有效成分 (%，w/w)

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

2.8 圖譜：



五、參考文獻：

1. Fries, J and M. Bohrmann. 2004. Quantitative determination of the active ingredients Pyraclostrobin and Epoxiconazole in BAS 512 05 F by HPLC. BASF Analytical Method CF-A682.18pp.
2. 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。
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 98 ~ 102% 之間。(感應因子 = 尖峰面積 / 濃度)
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：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 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：每注入三個檢液後，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。
9. 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注入 1 所得之滯留時間相較，其比值應介於 98 ~ 102% 之間。
10. 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 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$), $RSD_r = RSD_R \times 0.67$), 6% 有效成分含量之樣品可接受 RSD_r 值，計算如下：

$$C = 0.06$$

$$RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.06)} = 3.05$$

$$RSD_r = 3.05 \times 0.67 = 2.05$$

- 11.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。
- 12.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。