

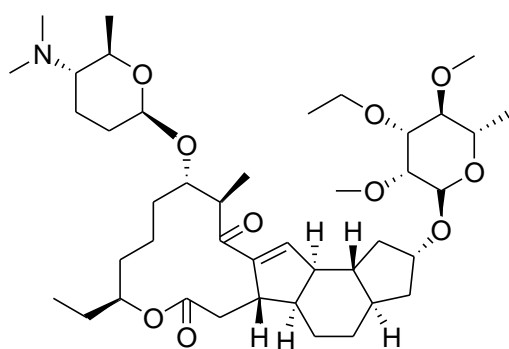
賜諾特(Spinetoram)農藥有效成分檢驗方法

一、農藥結構及物理化學性質：

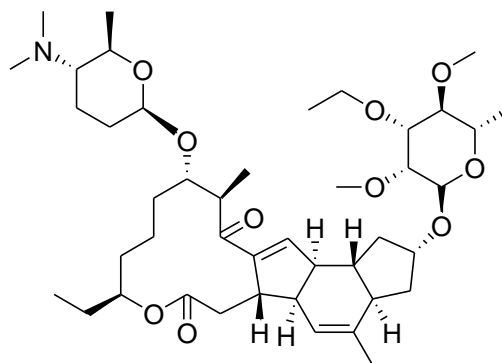
普通名稱：賜諾特 (CIPAC No.802)

化學名稱：mixture of 50-90% (2*R*,3*aR*,5*aR*,5*bS*,9*S*,13*S*,14*R*,16*aS*,16*aR*)-2-(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2,4-di-*O*-methyl- α -L-mannopyranosyloxy)-13-[(2*R*,5*S*,6*R*)-5-(dimethylamino)tetrahydro-6-methylpyran-2-yloxy]-9-ethyl-2,3,3*a*,4,5,5*a*,5*b*,6,9,10,11,12,13,14,16*a*,16*b*-hexadecahydro-14-methyl-1*H*-*as*-indaceno[3,2-*d*]oxacyclododecine-7,15-dione and 50-10% (2*R*,3*aR*,5*aS*,5*bS*,9*S*,13*S*,14*R*,16*aS*,16*bS*)-2-(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2,4-di-*O*-methyl- α -L-mannopyranosyloxy)-13-[(2*R*,5*S*,6*R*)-5-(dimethylamino)tetrahydro-6-methylpyran-2-yloxy]-9-ethyl-2,3,3*a*,5*a*,5*b*,6,9,10,11,12,13,14,16*a*,16*b*-tetradecahydro-4,14-dimethyl-1*H*-*as*-indaceno[3,2-*d*]oxacyclododecine-7,15-dione or mixture of 50-90% (1*S*,2*R*,5*R*,7*R*,9*R*,10*S*,14*R*,15*S*,19*S*)-7-(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2,4-di-*O*-methyl- α -L-mannopyranosyloxy)-15-[(2*R*,5*S*,6*R*)-5-(dimethylamino)tetrahydro-6-methylpyran-2-yloxy]-19-ethyl-14-methyl-20-oxatetracyclo[10.10.0.0^{2,10}.0^{5,9}]docos-11-ene-13,21-dione and 50-10% (1*S*,2*S*,5*R*,7*R*,9*S*,10*S*,14*R*,15*S*,19*S*)-7-(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2,4-di-*O*-methyl- α -L-mannopyranosyloxy)-15-[(2*R*,5*S*,6*R*)-5-(dimethylamino)tetrahydro-6-methylpyran-2-yloxy]-19-ethyl-4,14-dimethyl-20-oxatetracyclo[10.10.0.0^{2,10}.0^{5,9}]docosa-3,11-diene-13,21-dione (IUPAC). (2*R*,3*aR*,5*aR*,5*bS*,9*S*,13*S*,14*R*,16*aS*,16*bR*)-2-[(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2,4-di-*O*-methyl- α -L-mannopyranosyl)oxy]-13-[[2*R*,5*S*,6*R*)-5-(dimethylamino)tetrahydro-6-methyl-2*H*-pyran-2-yl]oxy]-9-ethyl-2,3,3*a*,4,5,5*a*,5*b*,6,9,10,11,12,13,14,16*a*,16*b*-hexadecahydro-14-methyl-1*H*-*as*-indaceno[3,2-*d*]oxacyclododecin-7,15-dione mixture with (2*S*,3*aR*,5*aS*,5*bS*,9*S*,13*S*,14*R*,16*aS*,16*bS*)-2-[(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2,4-di-*O*-methyl- α -L-mannopyranosyl)oxy]-13-[[2*R*,5*S*,6*R*)-5-(dimethylamino)tetrahydro-6-methyl-2*H*-pyran-2-yl]oxy]-9-ethyl-2,3,3*a*,5*a*,5*b*,6,9,10,11,12,13,14,16*a*,16*b*-tetradecahydro-4,14-dimethyl-1*H*-*as*-indaceno[3,2-*d*]oxacyclododecin-7,15-dione (CA; 187166-40-1, spinetoram J; CA; 187166-15-0, spinetoram L).

化學結構：



major component
spinetoram J



minor component
spinetoram L

分子式：C₄₂H₆₉NO₁₀ (spinetoram J)；C₄₃H₆₉NO₁₀ (spinetoram L)

分子量：748.02 (spinetoram J)；760.03 (spinetoram L)

理化性質：

組成：spinetoram J 50-90%，spinetoram L 50-10%。

外觀：米色固體。

熔點：143.4 °C (spinetoram J)；70.8 °C (spinetoram L)。

沸點：297.8 °C (spinetoram J)；290.7 °C (spinetoram L)。

蒸氣壓：5.3×10⁻² mPa (20 °C) (spinetoram J)；2.1×10⁻² m Pa (20 °C) (spinetoram L)。

溶解度：spinetoram J：水 423 (pH 5)、11.3 (pH 7)、6.27 (pH 10) (均為 mg/L，20 °C)。spinetoram L：水 1630 (pH 5)、46.7 (pH 7)、0.706 (pH 10) (均為 mg/L，20 °C)。庚烷 >61.0g/L、二甲苯>250g/L、1,2-二氯乙烷 >250g/L、甲醇>250g/L、正辛醇>132g/L、丙酮>250g/L、乙酸乙酯 >250g/L(20 °C)。

安定性：54±2°C，14 天安定。

二、劑型：水懸劑 (SC)。

三、作用：殺蟲劑。

四、分析方法：

1. 適用範圍：本方法適用於賜諾特水懸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 110A 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：賜諾特組成分spinetoram J 及 spinetoram L，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.2 內標準品：鄰苯二甲酸二丁酯 (Dibutyl phthalate) 純度經標定之分析級試藥。

2.2.3 甲醇 (Methanol) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.4 異丙醇 (Isopropanol) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.5 氰甲烷 (Acetonitrile) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.6 醋酸 (Acetic acid) 為分析級試藥。

2.2.7 乙醇胺 (Ethanolamine) 為 HPLC 級溶劑。

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

2.2.9 0.18% 乙醇胺水溶液 (pH 9.8)：量取 1.8 mL 乙醇胺，置入 1000 mL 燒杯中，加入 950 mL 去離子水，混合均勻後，以醋酸調整 pH 值為 9.8，再置入 1000 mL 定量瓶中，以去離子水定容至刻度，混合均勻備用。

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 0.22 μm 親水性聚丙烯(Hydrophilic polypropylene)過濾膜。
- 2.3.4 燒杯 1000 mL。
- 2.4 貯存標準液 (Standard stock solution) 配製：
- 2.4.1 spinetoram J 貯存標準液：
- 稱取約含 spinetoram J 62.5 ± 7 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 甲醇，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以甲醇定容至刻度，為 2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 貯存標準液。
- 2.4.2 spinetoram L 貯存標準液：
- 稱取約含 spinetoram L 25 ± 2 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 甲醇，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以甲醇定容至刻度，為 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 貯存標準液。
- 2.4.3 混合貯存標準液：
- 精確量取 10.0 mL 之 2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ spinetoram J 貯存標準液及 10.0 mL 之 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Spinetoram L 貯存標準液，置於 25 mL 定量瓶中，以甲醇定容至刻度，混合均勻，為含 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ spinetoram J 及 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ spinetoram L 之混合貯存標準液。
- 2.5 貯存內標準液 (Internal standard stock solution) 配製：
- 稱取約含鄰苯二甲酸二丁酯 200 ± 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 80 mL 甲醇，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以甲醇定容至刻度，為 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 之混合貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，各加入 1.0 mL 之 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 貯存內標準液，以甲醇稀釋定容至刻度，使成含 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 內標準品之 50+20、100+40、150+60、200+80、250+100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之賜諾特 (spinetoram J+spinetoram L) 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，分別稱取三重複約含 spinetoram J 30 ± 5 mg (記錄至 0.1 mg) 之樣品 (spinetoram J 與 spinetoram L 為 2.5 : 1 之組成中同時約含 12 mg spinetoram L)，置於 100 mL 定量瓶中，加入 10 mL 純水以及 70 mL 甲醇，以超音波振盪 5 分鐘，回至室溫，以甲醇定容至刻度，混合均勻，再取此溶液 5.0 mL 置於 10 mL 定量瓶中，加入 1.0 mL 貯存內標準液，以甲醇定容至刻度，混合均勻 (最後濃度約含 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ spinetoram J、60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ spinetoram L 及 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 波長：250 nm。
- 2.8.1.2 動相：0.18% 乙醇胺水溶液 + 氘甲烷 + 異丙醇 (25 + 45 + 30, v/v/v)。
- 2.8.1.3 流速：1.0 mL/min。
- 2.8.1.4 注入量：10 μL 。
- 2.8.1.5 分析溫度：35 $^{\circ}\text{C}$ 。

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 spinetoram J、spinetoram L 尖峰之滯留時間比較鑑別之，由標準檢量線計算檢液中 spinetoram J 濃度比： $x_J = \frac{y_J - a}{b}$ ，及 spinetoram L 濃度比：

$$x_L = \frac{y_L - a}{b}$$

式中 x_J 為檢液之濃度比(= $\frac{\text{檢液中 spinetoram J 濃度}}{\text{檢液中內標準品濃度}}$)

y_J 為檢液之面積比(= $\frac{\text{檢液中 spinetoram J 尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$)，

式中 x_L 為檢液之濃度比(= $\frac{\text{檢液中 spinetoram L 濃度}}{\text{檢液中內標準品濃度}}$)

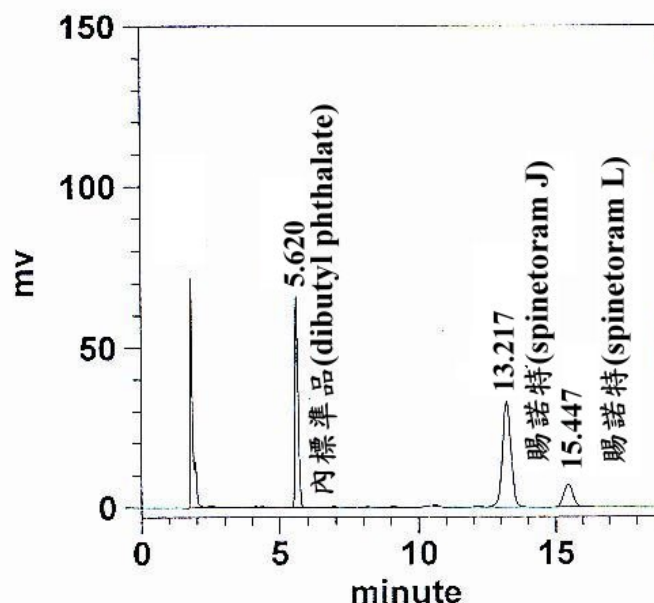
y_L 為檢液之面積比(= $\frac{\text{檢液中 spinetoram L 尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$)，

並依下式計算其含量：

有效成分 (% , w/w)

$$= \text{檢液濃度比} \times \text{檢液中添加之內標準品濃度}(\mu\text{g/mL}) \times \text{稀釋體積}(\text{mL}) \times \frac{1\text{g}}{10^6 \mu\text{g}} \times \frac{1}{\text{檢體重}(\text{g})} \times 100$$

2.9 圖譜：



五、參考文獻：

1. Curtiss Jennings and Steve Madsen. Analytical Method and Validation for the Determination of XDE-175 in GF-1587, GF-1629, and GF-1640 Formulations. Dow AgroSciences LLC. DAS-AM-05-007 . P.41
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 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 99~101% 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 99~ 101% 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 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$)， $RSD_r = RSD_R \times 0.67$)，11.7% 有效成分含量之樣品可接受 RSD_r 值，計算如下：
$$C = 0.117$$
$$RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.117)} = 2.76$$
$$RSD_r = 2.76 \times 0.67 = 1.85$$
- 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。