

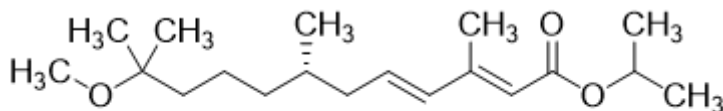
美賜平 ((S)-methoprene) 農藥有效成分檢驗方法草案

一、農藥結構及物理化學性質：

普通名稱：美賜平 (CIPAC No. 414)

化學名稱：isopropyl (*E,E*)-(*S*)-11-methoxy-3,7,11-trimethyldodeca-2,4-dienoate (IUPAC). 1-methylethyl (2*E*,4*E*,7*S*)-11-methoxy-3,7,11-trimethyl-2,4-dodecadienoate (CA; 65733-16-6).

化學結構：



(*S*)-methoprene

分子式：C₁₉H₃₄O₃

分子量：310.5

理化性質：

外觀：原體為淺黃色液體。

沸點：(*S*) 型異構物 279.9 °C / 730mmHg。

比重：0.924(20 °C)，0.921(25 °C)。

蒸氣壓：0.623 mPa (20 °C)，1.08 mPa (25 °C)。

溶解度：(*S*) 型異構物 水 0.515(mg/L, 20°C)、6.85(mg/l, 25°C)、丙酮 > 500、正己烷 > 500、甲醇 > 450(均為 g/L, 20-25°C)。

安定性：在水溶液中安定(pH7, 20°C)、在有機溶劑及酸鹼水溶液中安定，水中光分解半衰期 1 天(pH7)。

二、劑型：餌劑 (RB)。

三、作用：殺蟲劑。

四、分析方法：

1. 適用範圍：本方法適用於美賜平餌劑中有效成分之定性及定量分析。

2. 鑑別試驗：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：正相層析管柱，4.6 mm × 250 mm (ID × L)，DAICEL AD-H，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 美賜平，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.1.2 Methoprene(含(R)及(S)型異構物)，純度經標定之分析級對照用標準品。

2.2.2 正己烷(n-Hexane) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.3 異丙醇 (Isopropanol) 為 HPLC 級溶劑。

2.2.4 稀釋溶劑：正己烷+ 異丙醇 (99 + 1, v/v)。

2.3 器具及材料：

2.3.1 定量瓶 25 mL。

2.3.2 刻度吸管。

2.3.3 螺旋蓋三角瓶，250 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 秤取一重複約含美賜平 5 ± 0.5 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 稀釋溶劑，以超音波振盪至完全溶解後 (約 10 分鐘)，回至室溫，以稀釋溶劑定容至刻度，為 200 $\mu\text{g/mL}$ 貯存標準液。

2.4.2 秤取一重複約含 Methoprene 5 ± 0.5 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 稀釋溶劑，以超音波振盪至完全溶解後 (約 10 分鐘)，回至室溫，以稀釋溶劑定容至刻度，為 200 $\mu\text{g/mL}$ 貯存標準液。

2.5 檢液之配製：

將檢體充分混合後，秤取約含美賜平 5 ± 0.5 mg (記錄至 0.1 mg) 之樣品，置於 250 mL 螺旋蓋三角瓶中，加入 25 mL 稀釋溶劑，以超音波振盪至完全溶解後 (約 10 分鐘)，(最後濃度約含 200 $\mu\text{g/mL}$ 美賜平)，並以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之，作為檢液。

2.6 儀器操作條件：

2.6.1 波長：270 nm。

2.6.2 動相：正己烷+ 異丙醇 (99 + 1, v/v)。

2.6.3 流速：1.0 mL/min。

2.6.4 注入量：2 μL 。

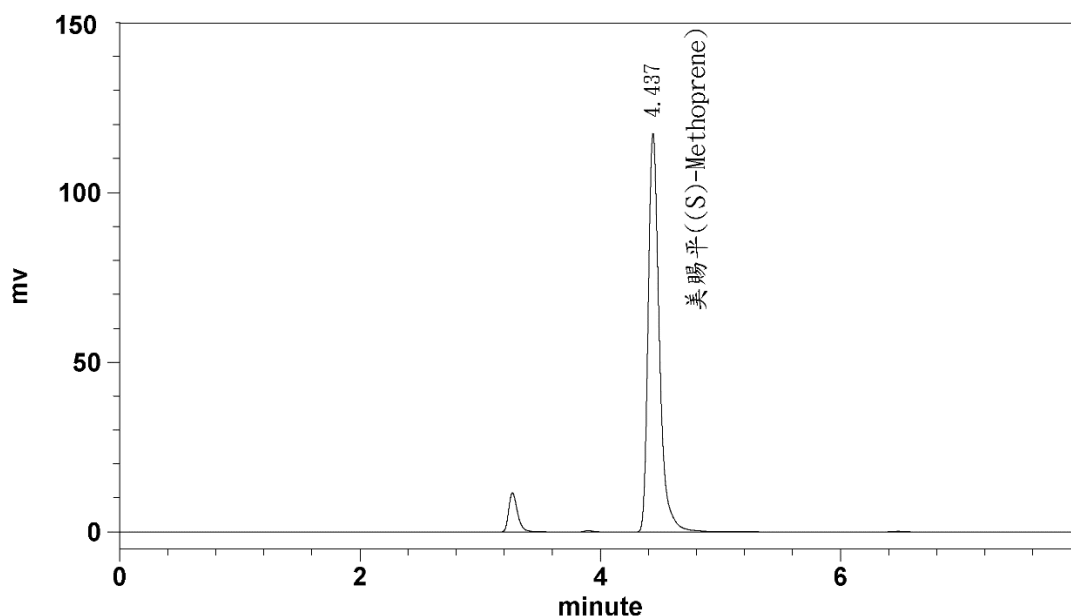
2.6.5 分析溫度：40 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.7 取操作標準液及檢液各 2 μL ，分別注入高效液相層析儀，就操作標準液所得尖峰之滯留時間 (美賜平：4.4min；(R) 型異構物：4.6min) 比較鑑別之。

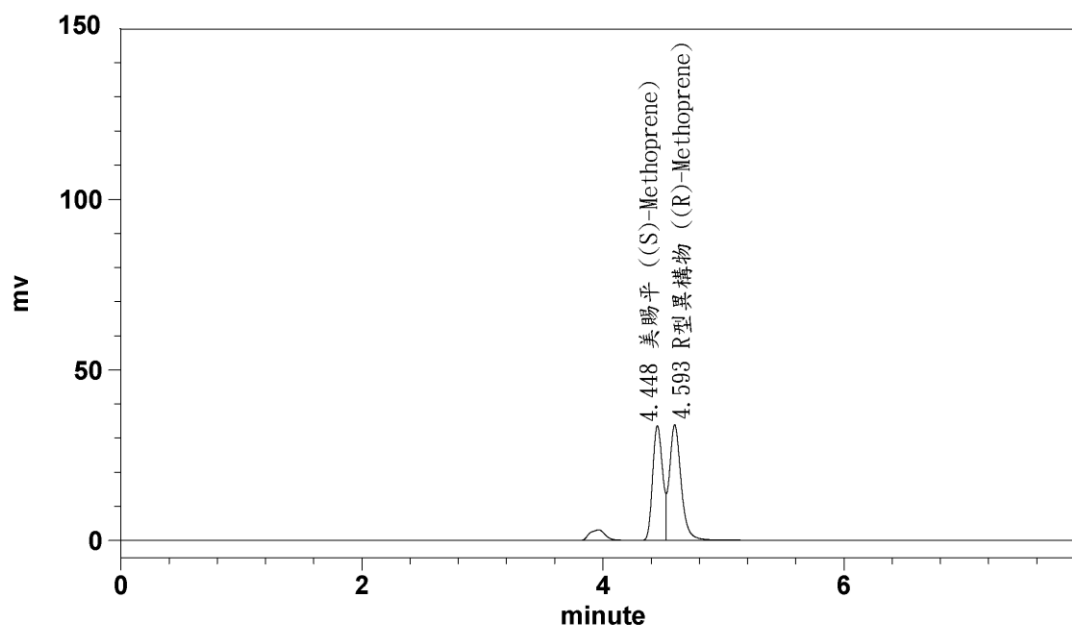
美賜平之光學純度 (enantiomeric purity) =

$$\frac{(\text{美賜平尖峰面積} - (\text{R})\text{型異構物尖峰面積})}{(\text{美賜平尖峰面積} + (\text{R})\text{型異構物尖峰面積})} \times 100(\%)$$

2.8 圖譜：



圖一 美賜平參考圖譜(約 200ppm)。



圖二 Methoprene 參考圖譜(約 200ppm)。

3. 檢驗方法：氣液相層析法 (Gas liquid chromatography，簡稱 GLC)。

3.1 裝置：

3.1.1 氣液相層析儀：

3.1.1.1 檢出器：火焰離子化檢出器 (Flame ionization detector，簡稱 FID)。

3.1.1.2 層析管柱：0.25 mm × 30 m (ID × L)，J&W DB-5MS，0.25 μm film thickness，或相當等級。

3.1.2 超音波振盪裝置 (頻率 40-50 KHz)，振盪器。

3.2 試藥：

3.2.1 標準品：美賜平，純度經標定之分析級對照用標準品。

3.2.2 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。

3.2.3 異辛烷 (Iso-octane) 為分析級溶劑。

3.3 器具及材料：

3.3.1 定量瓶 10 mL、25 mL、50 mL、100 mL。

3.3.2 刻度吸管。

3.3.3 螺旋蓋三角瓶，250 mL。

3.3.4 0.22 μm 親水性聚丙烯 (Hydrophilic polypropylene) 過濾膜。

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

秤取約含美賜平 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 異辛烷，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以異辛烷定容至刻度，為 1000 μg/mL 貯存標準液。

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

秤取約含鄰苯二甲酸二丁酯 150±15 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 90 mL 異辛烷，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以異辛烷定容至刻度，為 1500 μg/mL 貯存內標準液。

3.6 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 美賜平貯存標準液，分別置於 10 mL 定量瓶中，各加入 2.0 mL 之 1500 μg/mL 貯存內標準液，以異辛烷稀釋定容至刻度，使成含 300 μg/mL 內標準品之 100、200、300、400、500 μg/mL 之美賜平操作標準液 (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 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： $y = a + bx$ ，a、b 為常數。

3.7 檢液之配製：

將檢體充分混合後，分別秤取 3 重複約含美賜平 30 ± 3 mg 之樣品 (0.5% 餌劑取樣約 6 g，記錄至 0.01 g)，置於 250 mL 螺旋蓋三角瓶，加入 50 mL 異辛烷，旋緊螺旋蓋，以超音波振盪 20 分鐘，靜置回至室溫後，再取上清液 5.0 mL 置於 10 mL 定量瓶中，加入 2.0 mL 貯存內標準液，以異辛烷定容至刻度 (最後濃度約含 300 $\mu\text{g/mL}$ 美賜平及 300 $\mu\text{g/mL}$ 內標準品)，混合均勻，並以 0.22 μm 親水性聚丙烯過濾膜過濾之，作為檢液。

3.8 鑑別試驗及含量測定：

3.8.1 儀器操作條件：

3.8.1.1 溫度：

注入器：225 $^{\circ}\text{C}$ 。

層析管柱：210 $^{\circ}\text{C}$ 。

檢出器：230 $^{\circ}\text{C}$ 。

3.8.1.2 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：40 mL/min。

空氣：400 mL/min。

3.8.2 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，計算公式為 $\frac{\text{檢液中美賜平尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$ ，

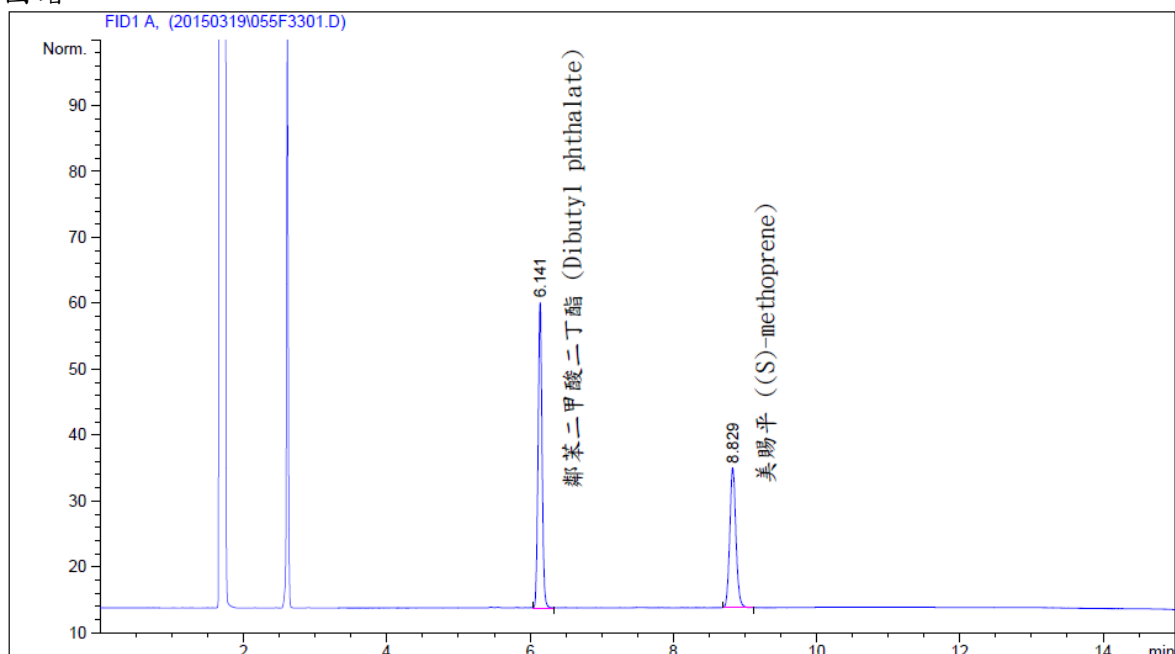
並依下式計算其含量：

有效成分 (%，w/w)

$$= \text{檢液濃度} (\mu\text{g/mL}) \times \text{稀釋體積} (\text{mL}) \times \frac{1\text{g}}{10^6 \mu\text{g}} \times \frac{1}{\text{檢體重} (\text{g})} \times \left(\frac{\text{光學純度 \% e.e.} + 100}{200} \right) \times 100(\%)$$

光學純度見 2. 鑑別試驗。

3.9 圖譜：



五、參考文獻：

1. Tomlin, C. D. S., Ed. 2003. "The Pesticide Manual", 13th ed., BCPC and RSC, UK.
2. WHO(2001) Technical(RS)-Methoprene Interim specification WHO/IS/TC/414/2001 pp.9
3. Wang I-Hsiung, Moorman Richard, Burleson Jim (2002) Isocratic reversed-phase liquid chromatographic method for the simultaneous determination of (S)-methoprene, MGK264, piperonyl butoxide, sumithrin and permethrin in pesticide formulation. pp.145-152
4. 唐慧敏, 楊淑嫻, 徐成辰(2014) 烯蟲酯原藥中 S-對映體的手性拆分及測定方法研究, 農藥科學與管理(Pesticide Science and Administration)第 35 卷第 5 期 pp.41-43
5. BCPC Online Pesticide Manual
http://www.bcpc.org/page_Pesticide-Manual_100.html?name=pesticide-manual&type=page(擷取日期：2017/01/03)
6. PPDB: Pesticide Properties DataBase
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/1662.htm>(擷取日期：2017/08/23)

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 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 ($RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$), $RSD_r = RSD_R \times 0.67$), 0.5% 有效成分含量之樣品可接受 RSD_r 值，計算如下：
 $C = 0.005$
 $RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.005)} = 4.44$
 $RSD_r = 4.44 \times 0.67 = 2.97$
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。