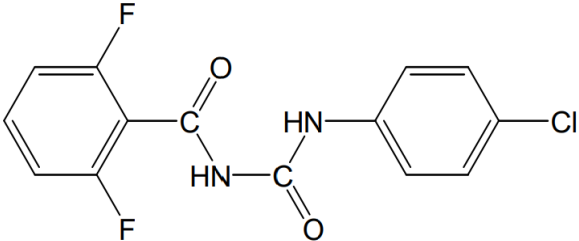
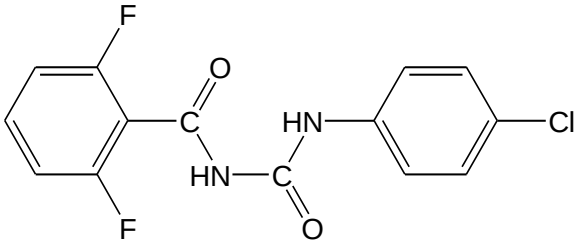


二福隆(Diflubenzuron)農藥有效成分檢驗方法修正草案對照表

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：二福隆 (CIPAC No. 339) 化學名稱：1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea (IUPAC). <i>N</i>-[[(4-chlorophenyl)amino]carbonyl]-2,6-difluorobenzamide (CAS RN: 35367-38-5) 化學結構：  分子式：C₁₄H₉ClF₂N₂O₂ 分子量：310.7 理化性質： 外觀：無色結晶固體，原體為白色至淡黃色結晶。 熔點：<u>227.6℃</u> 蒸氣壓：<u>≤0.00012 mPa (25℃)</u> 比重：<u>1.57 (20-25℃)</u> 溶解度：水 0.08 mg/L (pH 7，20-25℃)。丙酮 6.98、二氯甲烷 1.8、乙酸乙酯 <u>4.26</u>、正己烷 0.063、甲醇 1.1、甲苯 0.29 (均為 g/L，20-25℃)。 安定性：水溶液中易光分解，固體時對日光穩定。於 100℃ 下貯存 1 天，降解率小於 0.5%；50℃下貯存 7 天，降解率小於 0.5%；於水溶液中 (20℃)，半衰期：<u>>180 天 (pH 5、7)、32.5 天(pH 9)</u>。 二、劑型：可溼性粉劑 (WP)、<u>水懸劑(SC)</u>。 三、作用：殺蟲劑。 四、分析方法： 1. 適用範圍：本方法適用於二福隆可溼性粉劑、<u>水懸劑</u>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，<u>4.6</u> mm × 250 mm (ID × L)，Inertsil C8-4，<u>5 μm</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：二福隆 (<u>Diflubenzuron</u>)，純度經標定之分析級對照用標準品。 2.2.2 內標準品：<i>N</i>-甲基苯甲醯胺 (<i>N</i>-Methylbenzamide)，純度經標定之分析級試藥。 2.2.3 <u>乙腈</u> (Acetonitrile) 為 HPLC 級溶劑。	一、農藥結構及物理化學性質： 普通名稱：二福隆 (CIPAC No. 339) 化學名稱：1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea (IUPAC). <i>N</i>-[[(4-chlorophenyl)amino]carbonyl]-2,6-difluorobenzamide (CA; 35367-38-5). 化學結構：  分子式：C₁₄H₉ClF₂N₂O₂ 分子量：310.7 理化性質： 外觀：無色結晶固體，原體為白色至淡黃色結晶體。 熔點：228 °C (<u>原體 210-230 °C，分解</u>)。 蒸氣壓：1.2 × 10⁻⁴ mPa (25 °C)。 溶解度：水 0.08 mg/L (pH 7，25 °C)。甲醇 1.1、甲苯 0.29、<u>正己烷 0.063、二氯甲烷 1.8 (g/L，20 °C)</u>。 安定性：水溶液中易光分解。 二、劑型：可溼性粉劑 (WP)。 三、作用：殺蟲劑。 四、分析方法： 1. 適用範圍：本方法適用於二福隆可溼性粉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，3.2 mm × 250 mm (ID × L)，Inertsil <u>5 μm</u> C8，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：二福隆，純度經標定之分析級對照用標準品。 2.2.2 內標準品：<i>N</i>-甲基苯甲醯胺 (<i>N</i>-Methylbenzamide)，純度經標定之分析級試藥。 2.2.3 氰甲烷 (Acetonitrile) 為 HPLC 級溶劑。 2.2.4 1,4-二氧陸圀 (1,4-dioxane) 為 HPLC 級溶劑。 2.2.5 去離子水 (18.0 MΩ-cm，經 0.2 μm 濾膜過濾)。 2.2.6 稀釋溶劑：氰甲烷 + 水 (45 + 55，v/v)。 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。	現行檢驗方法僅適用於可溼性粉劑，因應市場上新增水懸劑劑型並廣泛使用，爰將水懸劑劑型納入，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。

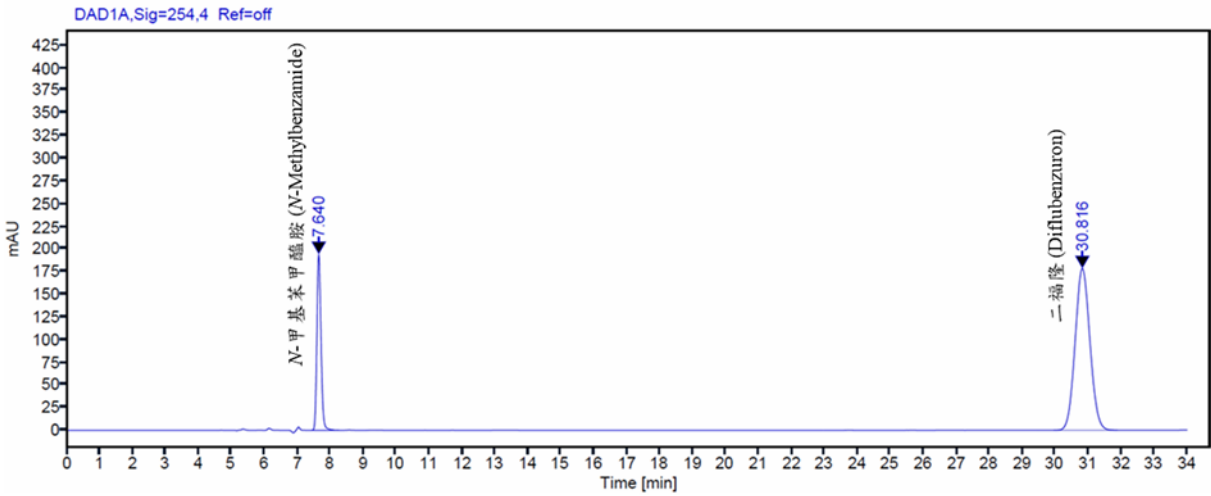
2.2.4 1,4-二氧陸園 (1,4-Dioxane) 為 HPLC 級溶劑。 2.2.5 去離子水 (≥18.0 MΩ.cm，經 0.22 μm 濾膜過濾) 。 2.2.6 稀釋溶劑：<u>乙腈+去離子水</u> (45+55，v/v)。 2.3 器具及材料： 2.3.1 <u>褐色</u> 定量瓶 10 mL、<u>25</u> mL、<u>50</u> mL。 2.3.2 刻度吸管。 2.3.3 <u>0.22 μm 親水性聚丙烯(Hydrophilic polypropylene)</u>過濾膜。 2.4 貯存標準液 (Standard stock solution) 配製： 秤取約含二福隆 <u>25</u>±5 mg (記錄至 0.1 mg) 之已知純度分析級對照用標準品，置於 <u>50</u> mL 褐色定量瓶中，加入 <u>40</u> mL 1,4-二氧陸園，以超音波振盪至完全溶解後 (約 <u>10</u> 分鐘)，回至室溫，以 1,4-二氧陸園定容至刻度，為 500 μg/mL 貯存標準液。 2.5 貯存內標準液 (Internal standard stock solution) 配製： 秤取約含 <i>N</i>-甲基苯甲醯胺 50±5 mg (記錄至 0.1 mg) 之已知純度分析級內標準品，置於 50 mL 定量瓶中，加入 <u>40 mL 乙腈</u>，以超音波振盪至完全溶解後 (約 <u>10</u> 分鐘)，回至室溫，以<u>乙腈</u>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 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 之 500 μg/mL 二福隆貯存標準液，分別置於 10 mL 褐色定量瓶中，各加入 1.0 mL 之 1000 μg/mL 貯存內標準液，以稀釋溶劑定容至刻度，使成含 100 μg/mL 內標準品之 50、75、100、125、150 μg/mL 之二福隆操作標準液(Working standard solution)，各操作標準液以 <u>0.22 μm 親水性聚丙烯</u>過濾膜過濾後，分別取 <u>10 μL</u> 注入高效液相層析儀分析之，以其濃度為 x 軸、尖峰面積<u>比</u>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，分別秤取 <u>3</u> 重複約含二福隆 <u>66.2±6.6</u> mg 之樣品 (<u>記錄至 0.1 mg</u>)，置於 100 mL <u>褐色</u> 定量瓶中，加入 90 mL 1,4-二氧陸園，以超音波振盪 <u>20</u> 分鐘，回至室溫，以 1,4-二氧陸園定容至刻度，混合均勻，再取此 1,4-二氧陸園溶液 <u>1.5</u> mL 置於 10 mL 褐色定量瓶中，加入 1.0 mL 貯存內標準液，以稀釋溶劑定容至刻度 (最後濃度約含 100 μg/mL 二福隆及 100 μg/mL 內標準品)，<u>混合均勻，並以 0.22 μm 親水性聚丙烯</u>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：254 nm。 2.8.1.2 動相：<u>乙腈 + 去離子水+ 1,4-二氧陸園 (42+48+10，v/v/v)。</u> 2.8.1.3 流速：0.5 mL/min。 2.8.1.4 注入量：<u>10</u> μL。 2.8.1.5 分析溫度：<u>40</u>°C。 2.8.2 取操作標準液及檢液各 <u>10</u> 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<u>中二福隆濃度</u>， y 為檢液之<u>尖峰面積比</u>，計算公式為 $\frac{\text{檢液中二福隆尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$	2.3.3 0.2 μm 耐龍 (Nylon) 過濾膜。 2.4 貯存標準液 (Standard stock solution) 配製： 稱取約含二福隆 50±5 mg (記錄至 0.1 mg) 之已知純度分析級對照用標準品，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 mL 1,4-二氧陸園，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以 1,4-二氧陸園定容至刻度，為 500 μg/mL 貯存標準液。 2.5 貯存內標準液 (Internal standard solution) 配製： 稱取約含<i>N</i>-甲基苯甲醯胺 50±5 mg (記錄至 0.1 mg) 之已知純度分析級內標準品，置於 50 mL 定量瓶中，加入 氘甲烷 45 mL，以超音波振盪至完全溶解後 (約 5 分鐘)，回至室溫，以 氘甲烷定容至刻度，為 1000 μg/mL 貯存內標準液。 2.6 標準檢量線 (Standard calibration curve) 製作： 取 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 之 500 μg/mL 二福隆貯存標準液，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，以稀釋溶劑定容至刻度，使成含 100 μg/mL 內標準品之 50、75、100、125、150 μg/mL 之二福隆操作標準液 (Working standard solution)，各操作標準液以 0.2 μm 耐龍過濾膜過濾後，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，分別稱取三重覆約含二福隆 50±10 mg (<u>記錄至 0.1 mg</u>) 之樣品，置於 100 mL 定量瓶中，加入 90 mL 1,4-二氧陸園，以超音波振盪 5 分鐘，回至室溫，以 1,4-二氧陸園定容至刻度，混合均勻，再取此 1,4-二氧陸園溶液 2.0 mL 置於 10 mL 定量瓶，加入 1.0 mL 貯存內標準液，以稀釋溶劑定容至刻度 (最後濃度約含 100 μg/mL 二福隆及 100 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 波長：254 nm。 2.8.1.2 動相：氘甲烷 + 水 + 1,4-二氧陸園 (45+45+10，v/v/v)。<u>注意：二福隆與其不純物 1,3-bis(4-chlorophenyl)urea 可藉調整增加動相中水之比例而得較佳之分離，2.8 圖例使用 42+48+10 (v/v/v)。</u> 2.8.1.3 流速：0.5 mL/min。 2.8.1.4 注入量：20 μL。 2.8.1.5 分析溫度：室溫。 2.8.2 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<u>比</u>：x=$\frac{y-a}{b}$， 式中 x 為檢液之濃度<u>比</u> ($=\frac{\text{檢液中二福隆濃度}}{\text{檢液中內標準品濃度}}$)， y 為檢液之面積<u>比</u> ($=\frac{\text{檢液中二福隆尖峰面積}}{\text{檢液中內標準品尖峰面積}}$)， 並依下式計算其含量： 有效成分 (% w/w)	
---	--	--

並依下式計算其含量：

有效成分 (%，w/w)

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

2.9 圖譜：



五、參考文獻：

- 1.二福隆 (Diflubenzuron) 農藥有效成分檢驗方法。農業部改制前行政院農業委員會 91 年 6 月 12 日農糧字第 0910020561 號公告。
- 2.BCPC Online Pesticide Manual.
<http://pmonline.azurewebsites.net/ Main/Pesticide.aspx> (擷取日期：2019/07/25)
- 3.Dobrat, W., and Martijn, A. eds. 1998. “CIPAC Handbook H, Analysis of Technical and Formulated Pesticides”, Diflubenzuron/399. P.141-146. Black Bear Press Ltd., Cambridge, England.

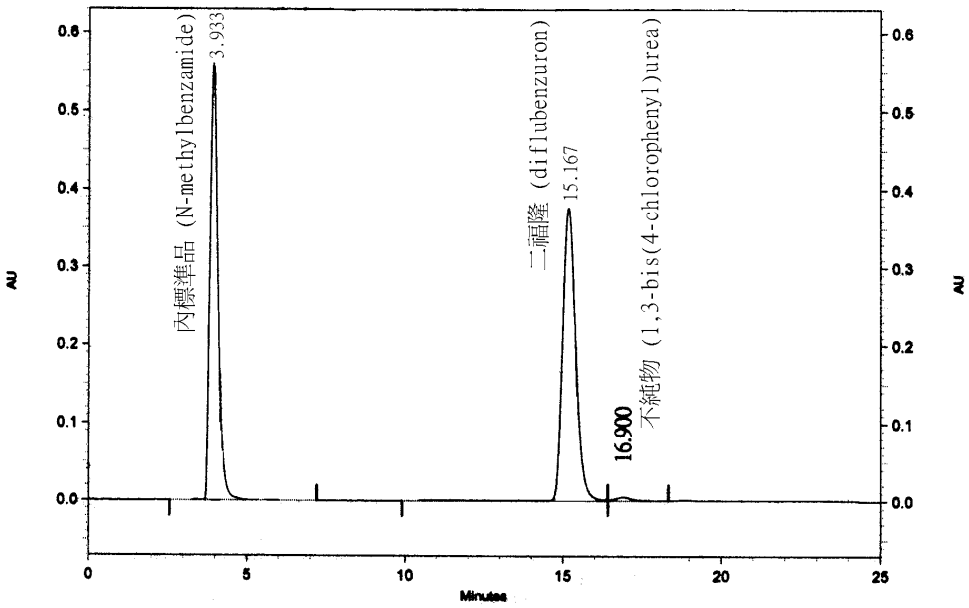
六、品質管制：

- 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 (STDA) 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 (STDA-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

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

$$\times \frac{1\text{g}}{10^6 \mu\text{g}} \times 100(\%)$$

2.8 圖譜：



五、參考文獻：

- 1.Dobrat, W., and Martijn, A. eds. 1998. “CIPAC Handbook H, Analysis of Technical and Formulated Pesticides”, Diflubenzuron/462. p.141-146. Black Bear Press Ltd., Cambridge, England.
- 2.Tomlin, C. D. S., Ed. 1997. “The Pesticide Manual”, 11th ed., BCPC and RSC, UK.

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. 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-標準液1-檢液1-檢液1-標準液2-標準液2-檢液2-檢液2-標準液3-標準液3-檢液3-檢液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 25% 之有效成分含量， $\%RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)}$ ， $C=0.25$ ， $RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.25)} = 2.46$ 是實驗室間之 CV 值。而重複性可接受之 $RSD_r = RSD_R \times 0.67 = 1.65$ 。

<u>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> <u>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。</u> <u>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。</u> <u>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 RSDr 值。例如：依 Horwitz 方程式 ($RSD_R=2^{(1-0.5\log C)}$，$RSDr=RSD_R\times 0.67$)，25%有效成分含量之樣品可接受 RSDr 值，計算如下：</u> $C = 0.25$ $RSD_R = 2^{(1-0.5\log 0.25)} = 2.46$ $RSDr = 2.46 \times 0.67 = 1.65$ <u>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。</u> <u>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。</u>		
---	--	--