

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 13262-2:2020

Xuất bản lần 1

**THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT –
PHẦN 2: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG HOẠT CHẤT
INDANOFAN BẰNG PHƯƠNG PHÁP
SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO**

*Pesticides - Part 2: Determination of indanofan content
by high performance liquid chromatographic method*

HÀ NỘI - 2020

Lời nói đầu

TCVN 13262-2 : 2020 do Cục Bảo vệ thực vật biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thuốc bảo vệ thực vật – Phần 2: Xác định hàm lượng hoạt chất indanofan bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Pesticides – Part 2: Determination of indanofan content by high-performance liquid chromatographic method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng hoạt chất indanofan trong thuốc bảo vệ thực vật bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

Thông tin giới thiệu hoạt chất indanofan xem Phụ lục A.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi (nếu có).

TCVN 4851 (ISO 3696), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*

TCVN 8050 : 2016, *Nguyên liệu và thành phẩm thuốc bảo vệ thực vật – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*

3 Nguyên tắc

Hòa tan mẫu thử chứa hoạt chất indanofan trong dung môi axetonitril sau đó được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, sử dụng cột pha đảo với detector tử ngoại (UV/VIS), ở bước sóng 254 nm và dùng phương pháp ngoại chuẩn. Kết quả định danh được xác định dựa trên sự so sánh giữa thời gian lưu của pic mẫu thử và pic chuẩn. Kết quả định lượng được xác định dựa trên sự so sánh giữa số đo diện tích của pic mẫu thử và pic chuẩn.

4 Hóa chất và thuốc thử

TCVN 13262-2 : 2020

Chỉ sử dụng các thuốc thử tinh khiết phân tích, nước ít nhất đạt loại 3 của TCVN 4851 (ISO 3696) hoặc có độ tinh khiết tương đương.

4.1 Chất chuẩn indanofan, đã biết độ tinh khiết, có giấy chứng nhận chất lượng

4.2 Axetonitril, dùng cho sắc ký lỏng

4.3 Dung dịch chuẩn làm việc

Dùng cân phân tích (5.5) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn indanofan (4.1), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức 20 ml (5.1) hòa tan và định mức đến vạch bằng axetonitril (4.2) được nồng độ khoảng 0,5 mg/ml. Đặt vào bể siêu âm (5.8) trong 5 min, lọc qua màng lọc (5.6) bằng xy ranh lọc mẫu (5.7) (nếu cần), đuổi khí trước khi bơm vào thiết bị.

CHÚ THÍCH:

- Chất chuẩn bảo quản trong tủ lạnh phải được đưa về nhiệt độ phòng trước khi cân.
- Nếu sử dụng cân có cấp chính xác 0,0001g thì lượng mẫu và chuẩn tăng lên 10 lần.
- Dung dịch chuẩn nên bảo quản ở 2 °C đến 4 °C; dung dịch chuẩn phải kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

4.4 Axit phosphoric ($H_3PO_4 \geq 85\%$)

4.5 Dung dịch pha động

Dung dịch axit phosphoric (1%): thêm 1 ml dung dịch axit phosphoric (4.4) vào cốc 1 lít (5.2) chứa sẵn 1000 ml nước, khuấy đều

Pha động : axetonitril (4.2): dung dịch axit phosphoric (1%) = 65 : 35 (theo thể tích), tỉ lệ thành phần pha động có thể thay đổi tùy theo nền mẫu và phải được đánh giá sự thay đổi này trước khi áp dụng

5 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ thông thường của phòng thử nghiệm cụ thể như sau:

5.1 Bình định mức, dung tích 20 ml, thủy tinh loại A

5.2 Cốc, dung tích 1 lít.

5.3 Màng lọc Xyranh, PTFE có kích thước lỗ 0,45 μ m.

5.4 Xyranh bơm mẫu, dung tích 50 μ l, chia vạch đến 1 μ l hoặc bơm tiêm mẫu tự động

5.5 Cân phân tích, có độ chính xác đến 0,0001 g.

5.6 Màng lọc xyranh PTFE, có kích thước lỗ 0,45 μ m, đường kính 25 mm.

5.7 Xyranh lọc mẫu, dung tích 5 ml, dùng cho màng lọc PTFE (5.6)

5.8 Bể siêu âm, tần số siêu âm từ 40 kHz đến 100 kHz

5.9 Thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao, được trang bị như sau:

- Hệ thống bơm cao áp ;
- Detector tử ngoại (UV/VIS) ;
- Buồng điều nhiệt cột tách có mức điều nhiệt tại 40 °C
- Cột sắc ký lỏng Lichrospher RP18, có chiều dài 250 mm, đường kính 4,6 mm, kích thước hạt 5 µm hoặc loại tương đương ;
- Bộ bơm mẫu tự động hoặc bơm mẫu bằng tay;
- Bộ xử lý số liệu.

5.10 Sàng rây, đường kính lỗ 0,2 mm

5.11 Máy nghiền mẫu

6 Cách tiến hành

6.1 Lấy mẫu

Tiêu chuẩn này không quy định việc lấy mẫu, nên lấy mẫu theo TCVN 12017 : 2017.

6.2 Chuẩn bị mẫu

Mẫu cần được làm đồng nhất trước khi cân: đối với mẫu dạng lỏng phải lắc đều, nếu bị đông đặc do nhiệt độ thấp cần được làm tan chảy ở nhiệt độ phòng; đối với mẫu dạng bột thì phải trộn đều, mẫu dạng hạt phải được trộn đều và nghiền rồi rây qua rây cỡ lỗ 0,2 mm (5.10).

7 Cách tiến hành

7.1 Chuẩn bị dung dịch mẫu thử

Dùng cân phân tích (5.5) cân mẫu thử có chứa khoảng 0,01 g hoạt chất indanofan, chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức 20 ml (5.1) hòa tan và định mức tới vạch bằng axetonitril (4.2). Đặt vào bể siêu âm (5.8) siêu âm 5 min, để về nhiệt độ phòng. Dùng xy ranh lọc mẫu (5.7) lọc dung dịch qua màng lọc 0,45 µm (5.3) trước khi bơm vào thiết bị.

7.2 Xác định hàm lượng hoạt chất

7.2.1 Điều kiện phân tích

- pha động: (4.5)
- bước sóng: 254 nm
- tốc độ dòng: 1 ml/min
- thể tích mẫu bơm: 5 μ l
- nhiệt độ cột: 40 °C

7.2.2 Xác định

Dùng xy ranh (5.4) bơm dung dịch chuẩn làm việc (4.3) cho đến khi số đo diện tích của pic chuẩn thay đổi không lớn hơn 1 % giữa hai lần bơm liên tiếp. Sau đó, bơm lần lượt dung dịch chuẩn làm việc (4.3) và dung dịch mẫu thử (7.1), lặp lại 2 lần (số đo diện tích và thời gian lưu của pic chuẩn thay đổi không lớn hơn 1 % so với giá trị ban đầu). Tỷ lệ diện tích pic của mẫu thử so với diện tích pic chuẩn nằm trong khoảng từ 70 % đến 130 %.

8 Tính kết quả

Hàm lượng indanofan trong mẫu, X, biểu thị bằng phần trăm (%) được tính theo công thức:

$$X(\%) = \frac{S_m \times m_c}{S_c \times m_m} \times P \quad (1)$$

Trong đó:

S_m là giá trị trung bình của số đo diện tích của pic mẫu thử;

S_c là giá trị trung bình của số đo diện tích của pic chuẩn;

m_c là khối lượng mẫu chuẩn, tính bằng gam (g);

m_m là khối lượng mẫu thử, tính bằng gam (g);

P là độ tinh khiết của chất chuẩn, tính bằng phần trăm (%);

Kết quả phép thử là giá trị trung bình các kết quả của ít nhất hai lần thử được tiến hành song song. Kết quả thử nghiệm thu được, với một chữ số sau dấu phẩy, ở mức hàm lượng >1% là 1 chữ số, ở mức từ 0 đến 1% là 2 chữ số;

- Quy đổi hàm lượng hoạt chất:

+ Đơn vị g/kg: $Y \text{ (g/kg)} = X(\%) \times 10$

Trong đó: 10: là hệ số quy đổi

X(%): kết quả tính theo công thức (1)

Y là hàm lượng indanofan trong mẫu (g/kg)

+ Đơn vị g/L: $Z \text{ (g/L)} = X(\%) \times 10 \times d$

Trong đó: 10: là hệ số qui đổi

X(%): kết quả tính theo công thức (1)

Z là hàm lượng indanofan trong mẫu (g/l)

d: khối lượng riêng của mẫu (g/ml), được xác định theo TCVN 8050 : 2016.

+ Đơn vị %(w/v): $W\%(w/v) = X(\%) \times d$

Trong đó: X(%): kết quả tính theo công thức (1)

W là hàm lượng indanofan trong mẫu (%w/v)

d: khối lượng riêng của mẫu, được xác định theo TCVN 8050 : 2016.

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết về việc nhận biết đầy đủ mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng;
- c) phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) mọi thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc những điều được coi là tự chọn, và bất kỳ chi tiết nào có ảnh hưởng tới kết quả;

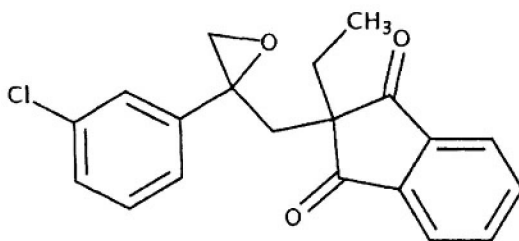
Phụ lục A

Thông tin về hoạt chất indanofan

(Tham khảo)

Giới thiệu hoạt chất indanofan

Công thức cấu tạo:



Tên hoạt chất: Indanofan

Tên hoá học (IUPAC): 3(S)-Cyano(3-phenoxyphenyl)methyl (1R,3S)-3-((1Z)-3-[(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanyl)oxy]-3-oxo-1-propen-1-yl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

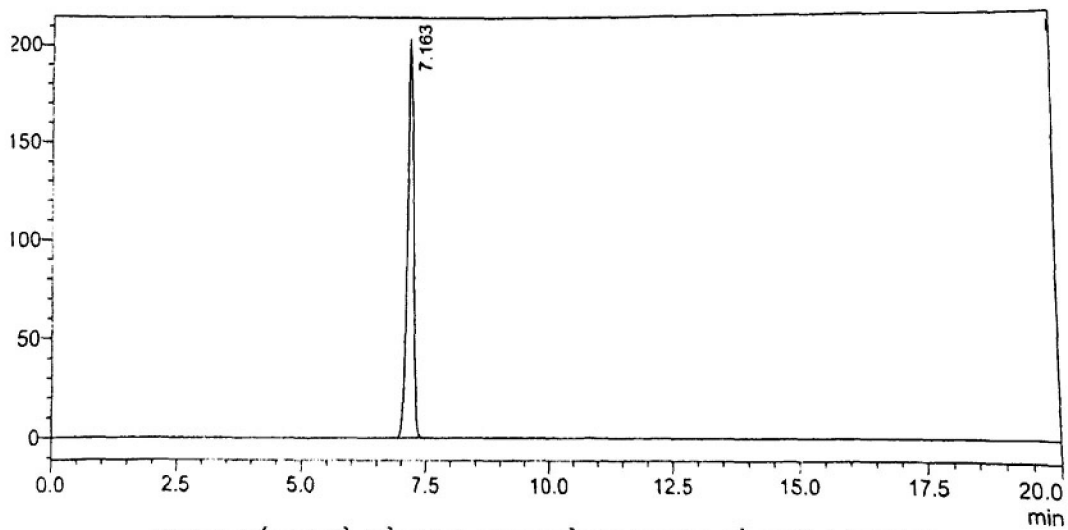
Tên CA: 2-[[2-(3-chlorophenyl)oxiranyl]methyl]-2-ethyl-1H-indene-1,3(2H)-dione

Công thức phân tử: $C_{20}H_{17}ClO_3$

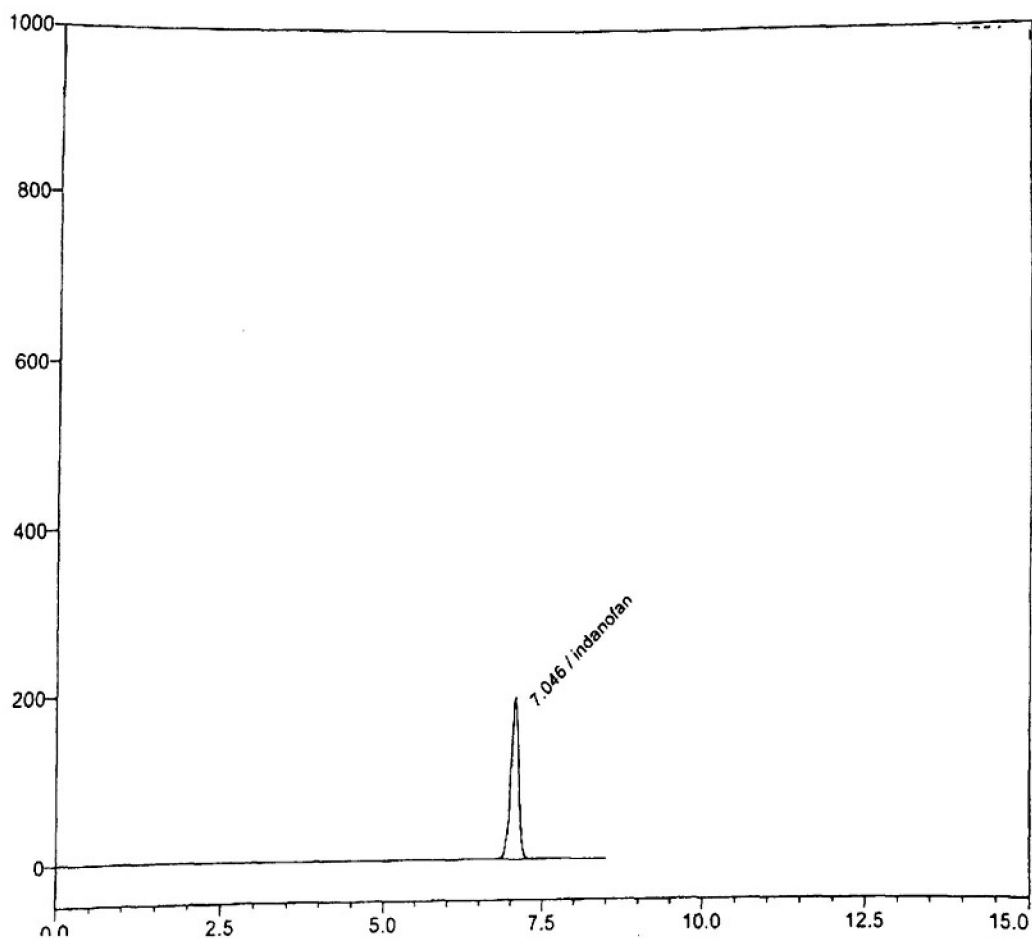
Khối lượng phân tử: 340,803 g/mol

Đối tượng mẫu phân tích: kỹ thuật và thành phẩm.

Sắc Ký đồ chuẩn và mẫu:



Hình 1: Sắc ký đồ điện hình của chuẩn indanofan nồng độ 1,0 mg/ml



Hình 2: Sắc ký đồ điện hình của mẫu indanofan nồng độ 1,0 mg/ml

TCVN 13262-2 : 2020

Hiệu suất thu hồi và giới hạn định lượng

Hiệu suất thu hồi của phương pháp: từ 98 % đến 105 %.

Giới hạn định lượng của phương pháp (LOQ): 10 mg/kg

Độ lặp lại của phương pháp, CV ≤ 5%.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN12017: 2017 *Thuốc bảo vệ thực vật - Lấy mẫu*, (2017)
 - [2] Danh mục thuốc bảo vệ thực vật được phép sử dụng ở Việt Nam
 - [3] *Manual on the development and use of FAO and WHO specification for pesticides*, (2016).
 - [4] *National Center for Biotechnology Information*, (2006).
 - [5] Margarita Stoytcheva, *pesticides strategies for pesticides analysis*, (2011).
 - [6] *Pesticide Properties DataBase*, (2019).
 - [7] S. Halde,* A. Mungantiwar, and M. Chintamaneni, *Simple- Precise and Accurate HPLC Method of Analysis for Nevirapine Suspension from Human Plasma*, (2011).
 - [8] *Sielc Technologies, Indanofan*, (2018).
 - [9] CDS Tomlin, *The Pesticide Manual*, Thirteenth Edition, (2003).
-