

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 13263-5:2020

Xuất bản lần 1

PHÂN BÓN –

PHẦN 5: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NHÓM AUXIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Fertilizers – Part 5: Determination of auxin group content by high performance liquid chromatographic method

HÀ NỘI - 2020

Lời nói đầu

TCVN 13263-5 : 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.

Phân bón – Phần 5: Xác định hàm lượng nhóm auxin bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Fertilizers – Part 5: Determination of auxin group content by high performance liquid chromatographic method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng chất điều hòa sinh trưởng nhóm auxin thực vật: indole-3-axetic acid (IAA), indole-3-butyric acid (IBA), indole-3-propionic acid (IPA), indole-3-carboxylic acid (ICA) và auxin tổng hợp: Naphthalene axetic acid (NAA), Naphthoxy axetic acid (NOA), Sodium-5-Nitroguaiacolate, Sodium-O-Nitrophenolate, Sodium-P-Nitrophenolate trong phân bón bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Thông tin giới thiệu hoạt chất nhóm auxin 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 10683: 2015, *Phân bón rắn - Phương pháp chuẩn bị mẫu để xác định các chỉ tiêu hóa học và vật lý*

3 Nguyên tắc

Các auxin trong phân bón được chiết bằng metanol. Sau đó được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sử dụng cột pha đảo với detector tử ngoại (DAD, MWD, PDA,... hoặc tương đương). Các chất được nhận biết dựa vào thời gian lưu và được xác định bằng phương pháp đường chuẩn.

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử tinh khiết phân tích, nước dùng trong quá trình phân tích đạt loại 3 của TCVN 4851 (ISO 3696) hoặc có độ tinh khiết tương đương, sau đây gọi là nước.

- 4.1 Chất chuẩn indole-3-axetic acid (IAA), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.
- 4.2 Chất chuẩn indole-3-butyric acid (IBA), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.
- 4.3 Chất chuẩn indole-3-propionic acid (IPA), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.
- 4.4 Chất chuẩn indole-3-carboxylic acid (ICA), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.
- 4.5 Chất chuẩn Naphthalene axetic acid (NAA), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.
- 4.6 Chất chuẩn Naphthoxy axetic acid (NOA), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.
- 4.7 Chất chuẩn Sodium-5-Nitroguaiaolate, đã biết hàm lượng, được chứng nhận.
- 4.8 Chất chuẩn Sodium-O-Nitrophenolate, đã biết hàm lượng, được chứng nhận..
- 4.9 Chất chuẩn Sodium-P-Nitrophenolate, đã biết hàm lượng, được chứng nhận.
- 4.10 Axetonitril (C_2H_3N), dùng cho sắc ký lỏng.
- 4.11 Metanol (CH_4O), dùng cho sắc ký lỏng.

4.12 Axit axetic băng (CH_3COOH), dùng cho sắc ký lỏng.

4.13 Dung dịch axit axetic, nồng độ khoảng 0,8%

Dùng pipet (5.3) lấy 8 ml axit axetic băng (4.12) cho vào cốc dung tích 1000 ml (5.1) có chứa sẵn 992 ml nước cất. Siêu âm 10 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.14 Dung dịch chuẩn gốc

4.14.1 Dung dịch chuẩn gốc IAA, nồng độ khoảng 1000 ppm

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn IAA (4.1), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), hòa tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.14.2 Dung dịch chuẩn gốc IBA, nồng độ khoảng 100 ppm

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn IBA (4.2), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 100 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.14.3 Dung dịch chuẩn gốc IPA, nồng độ khoảng 1000 ppm

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn IPA (4.3), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.14.4 Dung dịch chuẩn gốc ICA, nồng độ khoảng 500 ppm

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn ICA (4.4), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 20 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.14.5 Dung dịch chuẩn gốc NAA, nồng độ khoảng 1000 mg/l

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn NAA (4.5), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.14.6 Dung dịch chuẩn gốc NOA, nồng độ khoảng 1000 ppm

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn NOA (4.6), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.14.7 Dung dịch chuẩn gốc sodium-5-Nitroguaiaconate, nồng độ khoảng 500 ppm

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn sodium-5-Nitroguaiaconate (4.7), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 20 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.14.8 Dung dịch chuẩn gốc sodium-O-Nitrophenolate, nồng độ khoảng 500 ppm

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn sodium-O-Nitrophenolate (4.8), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 20 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.14.9 Dung dịch chuẩn gốc sodium-P-Nitrophenolate, nồng độ khoảng 1000 ppm

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn sodium-P-Nitrophenolate (4.9), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), hòa tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.15 Dung dịch chuẩn hỗn hợp trung gian

4.15.1 Dung dịch chuẩn hỗn hợp trung gian IAA, IBA, IPA, ICA

Dùng pipet (5.3) lấy chính xác 2 ml các dung dịch chuẩn gốc IAA (4.14.1), IBA (4.14.2), IPA (4.14.3), ICA (4.14.4) vào bình định mức dung tích 20 ml, hòa tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), lắc đều. Nồng độ các dung dịch chuẩn trung gian IAA, IBA, IPA, ICA được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1: Nồng độ tương đối các dung dịch chuẩn trung gian IAA, IBA, IPA, ICA

Dung dịch chuẩn gốc	Pipet (ml)	Bình định mức, ml	Nồng độ tương đối (ppm)
IAA	2	20	100
IBA	2		10
IPA	2		100
ICA	2		50

4.15.2 Dung dịch chuẩn hỗn hợp trung gian NAA, NOA, sodium-5-Nitroguaiacolate, sodium-O-Nitrophenolate, sodium-P-Nitrophenolate

Dùng pipet (5.3) lấy chính xác 2 ml các dung dịch chuẩn gốc NAA (4.14.5), NOA (4.14.6), sodium-5-Nitroguaiacolate (4.14.7), sodium-O-Nitrophenolate (4.14.8), sodium-P-Nitrophenolate (4.14.9) vào bình định mức dung tích 20 ml, hòa tan và định mức đến vạch bằng metanol (4.11), lắc đều. Nồng độ các dung dịch chuẩn trung gian NAA, NOA, sodium-5-Nitroguaiacolate, sodium-O-Nitrophenolate, sodium-P-Nitrophenolate được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2: Nồng độ tương đối các dung dịch chuẩn trung gian NAA, NOA, sodium-5-Nitroguaiacolate, sodium-O-Nitrophenolate, sodium-P-Nitrophenolate

Dung dịch chuẩn gốc	Pipet (ml)	Bình định mức, ml	Nồng độ tương đối (ppm)
NAA	2	20	100
NOA	2		100
sodium-5-Nitroguaiacolate	2		50
sodium-O-Nitrophenolate	2		50
sodium-P-Nitrophenolate	2		100

4.16 Dây dung dịch chuẩn làm việc

4.16.1 Dây dung dịch chuẩn làm việc IAA, IBA, IPA, ICA

Dùng pipet (5.3) lấy chính xác 0,5; 1; 2; 5; 8 ml dung dịch chuẩn trung gian IAA, IBA, IPA, ICA (4.15.1) vào lần lượt 5 bình định mức dung tích 10 ml, định mức đến vạch bằng methanol (4.11), lắc đều. Nồng độ các dung dịch chuẩn làm việc IAA, IBA, IPA, ICA được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3: Nồng độ tương đối các dung dịch chuẩn làm việc IAA, IBA, IPA, ICA

Nồng độ dung dịch chuẩn làm việc (ppm)			
IAA	IBA	IPA	ICA
5	0,5	5	2,5
10	1	10	5
20	2	20	10
50	5	50	25
80	8	80	40

4.16.2 Dây dung dịch chuẩn làm việc NAA, NOA, sodium-5-Nitroguaiacolate, sodium-O-Nitrophenolate, sodium-P-Nitrophenolate

Dùng pipet (5.3) lấy chính xác 0,5; 1; 2; 5; 8 ml dung dịch chuẩn trung gian NAA, NOA, sodium-5-Nitroguaiacolate, sodium-O-Nitrophenolate, sodium-P-Nitrophenolate (4.15.2) vào lần lượt 5 bình định mức dung tích 10 ml, định mức đến vạch bằng nước, lắc đều. Nồng độ các dung dịch chuẩn làm việc NAA, NOA, sodium-5-Nitroguaiacolate, sodium-O-Nitrophenolate, sodium-P-Nitrophenolate được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4: Nồng độ tương đối các dung dịch chuẩn làm việc NAA, NOA, sodium-5-Nitroguaiacolate, sodium-O-Nitrophenolate, sodium-P-Nitrophenolate

Nồng độ dung dịch chuẩn làm việc (ppm)				
NAA	NOA	sodium-5-Nitroguaiacolate	sodium-O-Nitrophenolate	sodium-P-Nitrophenolate
5	5	2,5	2,5	5
10	10	5	5	10
20	20	10	10	20
50	50	25	25	50
80	80	40	40	80

CHÚ THÍCH 1:

- 1) Dung dịch chuẩn được lưu giữ trong bình lối màu và bảo quản mát từ 2 °C đến 4 °C

TCVN 13263-5 : 2020

- 2) Dung dịch chuẩn gốc nên sử dụng trong vòng một tháng kể từ khi pha, dung dịch chuẩn làm việc nên dùng ngay sau khi pha loãng
- 3) Phải kiểm tra đánh giá chuẩn trước khi sử dụng
- 4) Nếu sử dụng cân có độ chính xác 0,0001 gram thì lượng cân của chuẩn và mẫu phải tăng lên 10 lần

5 Thiết bị, dụng cụ

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

- 5.1 Cốc thuỷ tinh, dung tích 50 ml; 100 ml; 1000 ml.
- 5.2 Bình định mức, dung tích 10 ml; 20 ml; 50 ml; 100 ml.
- 5.3 Pipet chia vạch, dung tích 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 5 ml; 10 ml.
- 5.4 Xyranh bơm mẫu, dung tích 50 μl , chia vạch đến 1 μl . hoặc bơm mẫu tự động
- 5.5 Màng lọc xyranh PTFE, có đường kính lỗ 0,45 μm .
- 5.6 Bè siêu âm, tần số siêu âm từ 40 kHz đến 100 kHz
- 5.7 Cân phân tích, có độ chính xác đến 0,0001 g và 0,00001 g.
- 5.9 Máy đo pH, khoảng đo pH: từ 0,0 đến 14,0, độ phân giải: 0,1 pH
- 5.10 Cối nghiền mẫu, báng sứ hoặc vật liệu tương đương

5.11 Thiết bị lọc

Dùng được cho màng lọc dung môi đường kính 13 mm, đường kính lỗ 0,45 μm để lọc pha động của HPLC

CHÚ THÍCH 2: Lọc pha động qua màng lọc trước khi dùng để kéo dài thời gian sử dụng của cột

5.12 Thiết bị sắc ký lòng hiệu năng cao, được trang bị như sau:

- Detector tử ngoại (DAD, MWD, PDA,... hoặc tương đương);
- Hệ thống bơm cao áp;
- Buồng điều nhiệt cột tách;
- Máy tích phân hoặc máy vi tính;
- Cột RP C18, dài 250 mm, đường kính 4,6 mm, cỡ hạt pha tĩnh 5 μm hoặc loại tương đương;
- Cột Chiralpak IG, dài 150 mm, đường kính 4,6 mm, cỡ hạt pha tĩnh 5 μm hoặc loại tương đương;

- Bộ bơm mẫu tự động hoặc bơm mẫu bằng tay.

6 Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

6.1 Lấy mẫu

Đối với mẫu phân bón thường, lấy mẫu theo TCVN 9486 : 2018. Đối với mẫu phân bón vi sinh, lấy mẫu theo TCVN 12105 : 2018

6.2 Chuẩn bị mẫu

- Nghiền mẫu bằng cối sứ hoặc vật liệu tương đương và trộn lại. Cần thực hiện các biện pháp như làm lạnh sơ bộ trước khi nghiền mẫu để tránh mẫu bị tiếp xúc với nhiệt độ cao trong thời gian dài.
- Chuẩn bị mẫu trong điều kiện tránh trực tiếp ánh sáng mặt trời

6.2.1 Mẫu dạng rắn

Mẫu dạng rắn được chuẩn bị theo TCVN 10683 : 2015.

6.2.2 Mẫu dạng lỏng, huyền phù

Mẫu dạng lỏng, dạng huyền phù thì phải lắc đồng nhất trước khi cân.

7 Cách tiến hành

7.1 Chuẩn bị dung dịch mẫu thử

Dùng cân phân tích (5.7) cân 02 phần mẫu thử mỗi phần mẫu khoảng 2 g, chính xác đến 0,0001 g vào cốc dung tích 50 ml (5.1), thêm 10 ml metanol (4.11). Đặt vào bể siêu âm (5.6), siêu âm 10 min, để nguội đến nhiệt độ phòng, chuyển dung dịch vào bình định mức 20 ml (5.2), tráng rửa cốc 2 lần mỗi lần 3 ml metanol (4.311), định mức đến vạch bằng dung metanol (4.11). Lọc qua màng xyranh 0,45 µm (5.5) trước khi bơm vào thiết bị.

7.2 Điều kiện phân tích

Các điều kiện vận hành sắc ký sau đây được cho là thích hợp:

7.2.1 Điều kiện phân tích nhóm IAA, IBA, IPA, ICA

Pha động: Axetonitril (4.10) : Đệm (4.13) = 20 : 80 (theo thể tích)

Cột phân tích: Cột RP C18, dài 250 mm, đường kính 4,6 mm, cỡ hạt pha tĩnh 5 µm hoặc loại tương đương

Bước sóng: 280 nm

Tốc độ dòng: 1 ml/min

Thể tích bơm mẫu: 20 μ l

Nhiệt độ buồng cột: 25 °C

7.2.2 Điều kiện phân tích nhóm NAA, NOA, sodium-5-Nitroguaiacolate, sodium-O-Nitrophenonate, sodium-P-Nitrophenolate

Tỷ lệ pha động:

t (min)	Acetonitrile (% theo thể tích)	Đệm (4.13) (% theo thể tích)
0	35	65
1	35	65
4	5	95
7	5	95
11	70	30
16	70	30
18	35	65

Cột phân tích: Cột Chiraldak IG, dài 150 mm, đường kính 4,6 mm, cỡ hạt pha tĩnh 5 μ m hoặc loại tương đương

Bước sóng: 254 nm

Tốc độ dòng: 1 ml/min

Thể tích bơm mẫu: 20 μ l

Nhiệt độ buồng cột: 25 °C

7.3 Dụng đường chuẩn

Dụng đường chuẩn của từng chất (tương quan giữa diện tích pic và nồng độ chất chuẩn) của hoạt chất tại 5 điểm có nồng độ tương ứng dung dịch chuẩn làm việc (4.16).

7.4 Xác định

Dùng xyranh (5.4) bơm 1 dung dịch chuẩn có nồng độ thấp nhất trong dãy dung dịch chuẩn làm việc (4.16) cho đến khi số đo diện tích của pic chuẩn thay đổi không lớn hơn 3 %. Sau đó, bơm lần lượt các

dung dịch chuẩn làm việc (4.16) nồng độ từ thấp đến cao và dung dịch mẫu thử (7.1). Nếu nồng độ của mẫu thử nằm ngoài đường chuẩn thì điều chỉnh bằng cách pha loãng dung dịch mẫu thử bằng metanol (4.11).

8 Tính kết quả

Hàm lượng của từng loại auxin trong mẫu, X_i , biểu thị bằng miligam trên kilogam (mg/kg), được tính theo công thức 1:

$$X_i = X_{0i} \times \frac{V}{m} \times p_i \quad (1)$$

Hàm lượng auxin tổng số trong mẫu là tổng hàm lượng các loại auxin được qui định trong mục 1, X , biểu thị bằng miligam trên kilogam (mg/kg), được tính theo công thức 2:

$$X = \frac{V}{m} (\sum X_{0i} \times P_i) \quad (2)$$

trong đó:

X_{0i} là nồng độ của các chất auxin trong mẫu tính theo đường chuẩn, tính bằng miligam trên lit (mg/l);

V là thể tích dung môi chiết mẫu mililit (ml);

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

P_i là độ tinh khiết của chất chuẩn.

Kết quả thử nghiệm thu được, lấy hai chữ số sau dấu phẩy.

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;

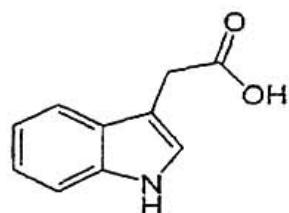
Phụ lục A

(Tham khảo)

Thông tin về hoạt chất auxin

A.1 Giới thiệu hoạt chất indole-3-acetic acid (IAA)

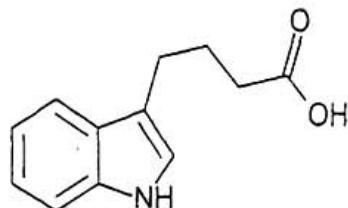
- Công thức cấu tạo:



- Tên hoạt chất: indole-3-acetic acid
- Tên hoá học: IUPAC: 2-(1H-indol-3-yl)acetic acid
- Công thức phân tử: C₁₀H₉NO₂
- Khối lượng phân tử: 175,19 g/mol
- Nhiệt độ nóng chảy: 168 °C đến 170 °C
- Độ hòa tan: Không tan trong nước; tan trong ethanol: 50 mg/ml
- Dạng bên ngoài: Chất rắn, màu trắng

A.2 Giới thiệu hoạt chất indole-3-butyric acid (IBA)

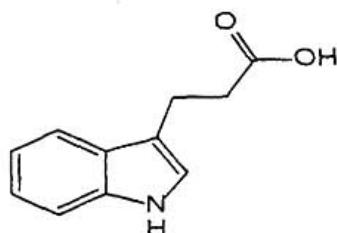
- Công thức cấu tạo:



- Tên hoạt chất: indole-3-butyric acid
- Tên hoá học: IUPAC: 4- (1H-indol-3-yl)butanoic acid
- Công thức phân tử: C₁₂H₁₃NO₂
- Khối lượng phân tử: 203,24 g/mol
- Nhiệt độ nóng chảy: 125 °C
- Dạng bên ngoài: Tinh thể, màu trắng, vàng.

A.3 Giới thiệu hoạt chất indole-3-propionic acid (IPA)

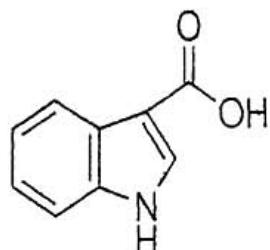
- Công thức cấu tạo:



- Tên hoạt chất: indole-3-propionic acid
- Tên hoá học: IUPAC: 3-(1H-indole-3-yl)propanoic acid
- Công thức phân tử: C₁₁H₁₁NO₂
- Khối lượng phân tử: 189,21 g/mol
- Nhiệt độ nóng chảy: 134 °C đến 135 °C

A.4 Giới thiệu hoạt chất indole-3-carboxylic acid (ICA)

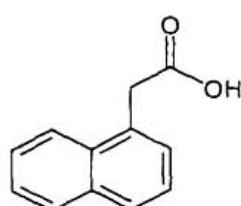
- Công thức cấu tạo:



- Tên hoạt chất: indole-3-carboxylic acid
- Tên hoá học: IUPAC: 1H-indole-3-carboxylic acid
- Công thức phân tử: C₉H₇NO₂
- Khối lượng phân tử: 161,16 g/mol

A.5 Giới thiệu hoạt chất 1-naphthaleneacetic acid (NAA)

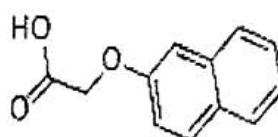
- Công thức cấu tạo:



- Tên hoạt chất: 1-naphthaleneacetic acid
- Tên hoá học: IUPAC: 2-(1-Naphthyl)acetic acid
- Công thức phân tử: C₁₂H₁₀O₂
- Khối lượng phân tử: 186,21
- Nhiệt độ nóng chảy: 135 °C
- Độ hòa tan trong nước: 420 g/ml (20 °C)
- Dạng bên ngoài: Bột, màu trắng

A.6 Giới thiệu hoạt chất 2-Naphthoxyacetic acid (NOA)

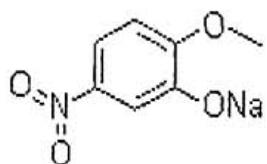
- Công thức cấu tạo:



- Tên hoạt chất: 2-Naphthoxyacetic acid
- Tên hoá học: IUPAC: (2- naphthoxy)acetic acid
- Công thức phân tử: C₁₂H₁₀O₃
- Khối lượng phân tử: 202,21
- Nhiệt độ nóng chảy: 151 °C đến 154 °C
- Độ hòa tan: Tan tốt trong alcohol, ether, axetic acid và dimethyl sulfoxide. Ít tan trong nước
- Dạng bên ngoài: Tinh thể, màu xám.

A.7 Giới thiệu hoạt chất Sodium-5-Nitroguaiacolate

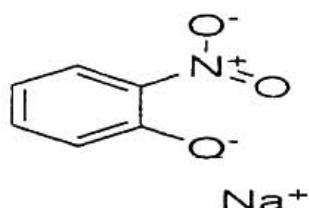
- Công thức cấu tạo:



- Tên hoạt chất: Sodium-5-Nitroguaiacolate
- Tên hoá học: IUPAC: 5-nitroguaiacol sodium salt
- Công thức phân tử: C₇H₆NNaO₄
- Khối lượng phân tử: 191,12
- Nhiệt độ sôi: 215,8 °C ở 760 mmHg
- Độ hòa tan: Tan tốt trong nước

A.8 Giới thiệu hoạt chất Sodium-O-Nitrophenolate

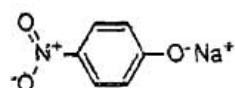
- Công thức cấu tạo:



- Tên hoạt chất: Sodium-O-Nitrophenolate
- Tên hoá học: IUPAC: sodium-2-nitrophenolate
- Công thức phân tử: $\text{C}_6\text{H}_4\text{NNaO}_3$
- Khối lượng phân tử: 161,09
- Nhiệt độ sôi: 215,8 °C ở 760 mmHg
- Độ hòa tan: Tan tốt trong nước

A.9 Giới thiệu hoạt chất Sodium-P-Nitrophenolate

- Công thức cấu tạo:



- Tên hoạt chất: Sodium-P-Nitrophenolate
- Tên hoá học: IUPAC: sodium-4-nitrophenolate
- Công thức phân tử: C₆H₄NNaO₃
- Khối lượng phân tử: 161,09
- Nhiệt độ sôi: 215,8 °C ở 760 mmHg
- Độ hòa tan: Tan tốt trong nước
- Dạng bè ngoài: Tinh thể bột màu vàng

A.10 Hiệu suất thu hồi và giới hạn định lượng

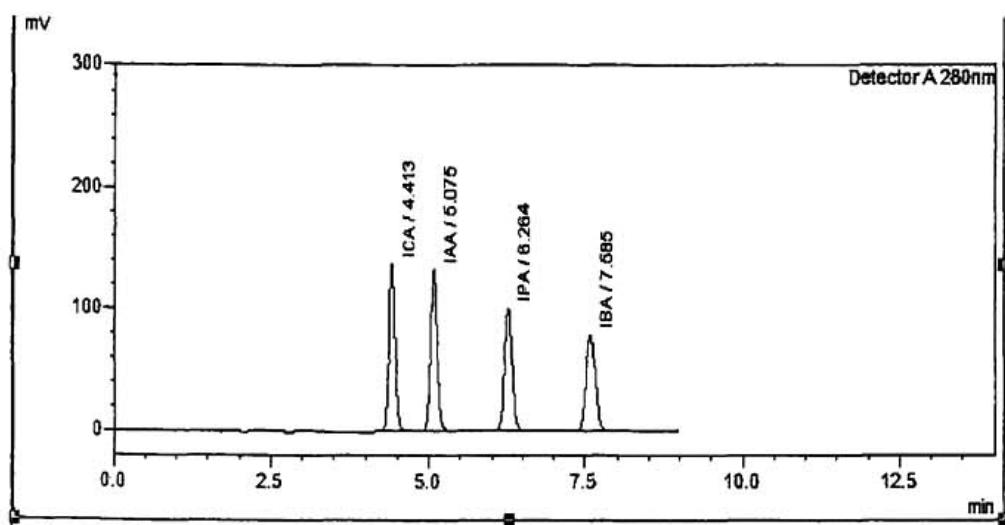
- **Hiệu suất thu hồi của phương pháp:** từ 80 % đến 110 %.
- **Giới hạn định lượng của phương pháp (LOQ):**
 - IAA: 50 mg/kg
 - IBA: 20 mg/kg
 - IPA: 50 mg/kg
 - ICA: 50 mg/kg
 - NAA: 50 mg/kg
 - NOA: 50 mg/kg
 - Sodium-5-Nitroguiaicotate: 50 mg/kg
 - Sodium-O-Nitroguiaicotate: 50 mg/kg
 - Sodium-P-Nitroguiaicotate: 50 mg/kg
- **Độ lặp lại của phương pháp, CV ≤ 5%.**

Phụ lục B

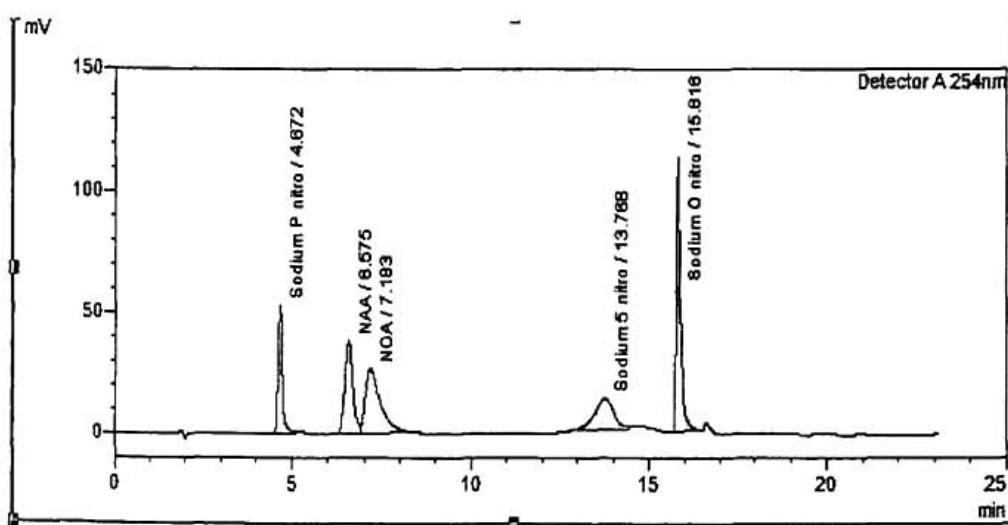
(Tham khảo)

Thông tin về sắc ký đồ diễn hình của hoạt chất auxin

- Sắc ký đồ diễn hình của nhóm auxin thực vật



- Sắc ký đồ diễn hình của nhóm auxin hóa học



Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 9486 : 2018, *Phân bón- Lấy mẫu*
 - [2] TCVN 12105 : 2018, *Phân bón vi sinh vật- Lấy mẫu*
 - [3] "Identification and quantitation of auxin in plants by liquid chromatography/electrospray ionization ion trap mas spectrometry", published online in Wiley interScience (www.interscience.wiley.com), DOI: 10.1002/rsm.3642
 - [4] "Current analytical methods for plant auxin quantification- a review", analytica Chimica Acta, journal homepage: www.elsevier.com/locate/aca
 - [5] "HPLC-based in quantification of indole-3-axetic acid in the primary root tip of maize", JNBT, Vol 3, No1, p.40-45.
-