

紫外分光光度法测定 6-苄基氨基嘌呤的含量

吴增茹^①

李长荣

(国家蔬菜系统工程中心)

(基础科学与技术学院)

摘要 本文探讨了 6-苄基氨基嘌呤的紫外分光光度分析方法,测定波长为 275 nm,在 0~9 mg·kg⁻¹ 范围内有良好的线性关系,相关系数为 0.999 7,变异系数为 0.72,用高效液相色谱法对紫外法测定样品的可靠性加以确证。

关键词 6-苄基氨基嘌呤; 细胞分裂素; 紫外分光光度法

中图分类号 O657.32

Analysis of 6-Benzylaminopurine by Ultra-Violet Spectrophotometry

Wu Zengru Li Changrong

(College of Fundamental Sciences & Technology)

Abstract A UV spectrophotometry method to determine 6-benzylaminopurine at 275 nm is described. The calibration curve is linear in the range of 0~9 mg·kg⁻¹ and the correlation coefficient is 0.999 7. The coefficient of variation is 0.72. the reliability of this method has been confirmed by using HPLC.

Key words 6-benzyl aminopurine; cytokinin; ultra-violet spectrophotometry

6-苄基氨基嘌呤(6-BA)是迄今为止人工合成细胞分裂素中较成功的一个,已广泛用于组织培养中,在农业和园艺上也有着广阔的应用前景^[1]。但以往合成 6-BA 的成本高,价格昂贵^[2,3],限制了其在生产中的应用,近年来随着合成成本的不断降低,6-BA 必将得到广泛的使用^[4,5]。本实验室采用改进的脱水法合成了 6-BA,成本低廉,6-BA 在国内尚未正式注册生产,也未见关于分析方法的专题报道。从 6-BA 的紫外光谱(图 1)可知,其在 275 nm 处有最大吸收,摩尔吸收系数 $\epsilon=1.3 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$,6-BA 这样高的摩尔吸收系数是定量分析灵敏度的基础。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

紫外光谱仪:日立 330 型紫外分光光计。

高效液相色谱仪:岛津 LC-6A 液相色谱仪。

标准品:FLUKA 试剂标示量为 99%。

样品:脱水法自制 6-BA(未重结晶)。

收稿日期: 1996-01-04

①吴增茹,北京西郊板井国家蔬菜系统工程技术研究中心,100081

其他试剂:均为市售分析纯试剂。

1.2 分析条件

吸收池:厚度为 1 cm 的石英比色池。

测定波长:275 nm。

溶液:6-BA 的 HCl 溶液($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),测定浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 左右。

参比液: $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 溶液。

1.3 操作步骤

取 6-BA 约 50 mg,精密称定,置 100 mg 容量瓶中,加 HCl($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)使其溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 1 mL 置 100 mL 容量瓶中,用 HCl($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)稀释至刻度,摇匀,在紫外分光光度计波长 275 nm 处测定吸光度。

1.4 计算

紫外分光光度法测定 6-BA 的百分含量(x)按下式计算:

$$x = \frac{A_1 \times m_2}{A_2 \times m_1} \times P \times 100\%$$

式中:

A_1 为 275 nm 处样品的吸光度

A_2 为 275 nm 处标准品的吸光度

m_1 为样品的重量(g)

m_2 为标准品的重量(g)

P 为标准品的纯度

2 结果与讨论

2.1 准确度,精密度与检出限

配制不同浓度的 6-BA 溶液,测定其吸光度,绘制标准曲线(图 2),由图可知 6-BA 的浓度与对应的吸光度成一线性关系,相关系数 $r=0.9997$ 。

同一样品不同称样量,重复用紫外分光光度法进行分析测定,7次测定,标准偏差为 0.64,变异系数为 0.72。

由标准曲线查出吸光度 0.02 对应的浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,该浓度为方法检出限。

2.2 紫外分光光度法的可靠性

用紫外分光光度法进行定量分析,虽然 6-BA 本身有特征的紫外光谱,但该方法本身并不能排除杂质紫外吸收干扰样品测定的可能性,如果在液相色谱图谱上(275 nm 紫外检测器)有杂质出峰,则该杂质的存在影响紫外分光光度法对 6-BA 的准确定量。从 6-BA 的高效液相色谱(图 3)图可以看出,样品与标准的出峰时间一致,峰形一致,样品只出一个峰,也就是说脱水法合成 6-BA 中杂质在 275 nm 没有紫外吸收,从重结晶母液中回收乙醇,所得杂质含量较高的样品进行测定,在高效液相色谱图上,同样杂质低于最小检出量,说明紫外分

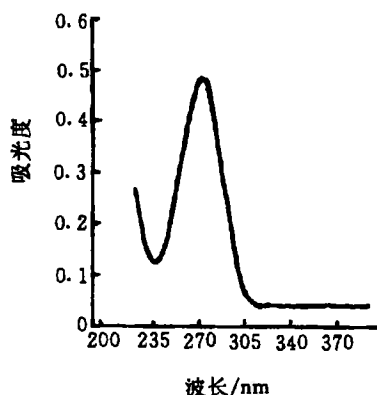


图 1 6-苄基氨基嘌呤的紫外光谱图

光光度法的测定结果是可靠的。

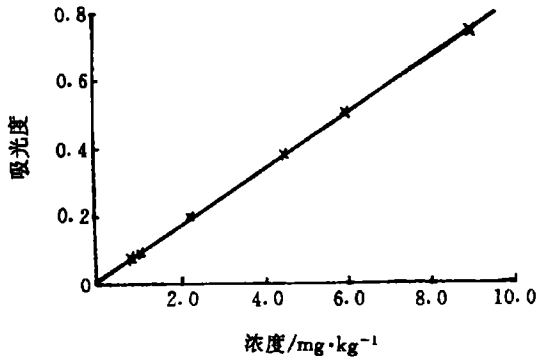


图 2 6-苄基氨基嘌呤标准曲线

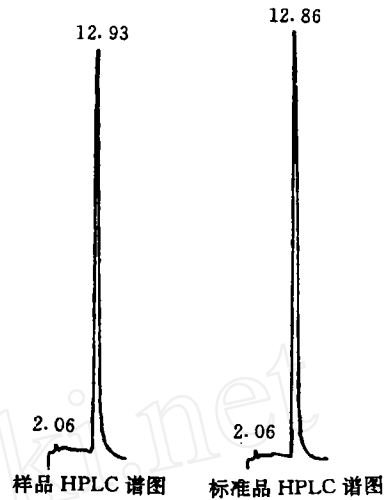


图 3 6-苄基氨基嘌呤的高效液相色谱图

2.3 紫外分光光度法与高效液相色谱法的比较

高效液相色谱法仪器昂贵,灵敏度高,适用于微量分析,对于高含量,常量样品的分析,进样误差大,精密低,操作麻烦;紫外分光光度法简便,快速,在没有干扰的情况下,误差小,精密度能达到农业生产的要求,为快速检测 6-BA 原料药质量的可靠方法。

表 1 用紫外分光光度法和 HPLC 法同时测定不同批次产品的实验数据

批次	HPLC 法测定值/%	紫外法测定值/%	批次	HPLC 法测定值/%	紫外法测定值/%
1	95.7	96.3	7	97.3	97.9
2	92.9	95.9	8	97.0	99.8
3	98.0	98.5	9	98.3	97.9
4	97.6	98.3	10	97.5	96.0
5	100.4	98.0	11	97.1	96.9
6	99.6	98.2	12	96.0	95.8

参 考 文 献

- 1 宫沢武重,本岛建治. N^6 -苄基腺嘌呤在农业和园艺上的应用. 农药译丛,1987,9(6):40~45
- 2 王植材. N^6 -苄基腺嘌呤的合成. 广东化工,1982,4:8
- 3 王植材,张景育,叶虹,吴锡深. 细胞激动素类化合物的合成及其应用. 中山大学学报(自然科学版),1978,17(2):56~64
- 4 Vasarhelyi E, Kozmoczy I, Daroczi I. High purity benzyladenine. HU37,937,1986
- 5 王植材,林电伟,郑其煌,林卓新. 固-液相转移催化法合成细胞分裂素类化合物. 中山大学学报(自然科学版),1994,33(4):53~59