

Bazı insektisit Formülasyonlarındaki Etkin Maddelerin Spektroskopik ve Kemometrik Yöntemlerle Karşılaştırmalı Miktar Tayinleri*

Murat KANBUR¹, Ali B LG L², Erdal Dinç³

¹ Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kayseri -TÜRK YE

² Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara -TÜRK YE

³ Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Ankara -TÜRK YE

Özet: Bu ara tırmayla, türev spektrofotometrisinde ivermektin (VE) analizleri 241.1 ve 250.4 nm'de, klorsulon (CLO) analizleri 230.0 nm, 234.6 nm, 239.0 ve 243.2 nm'de gerçekleştirildi. Yöntemlerin tayin aralıkları VE için 1.60 -9.60 µg/ml, CLO için 3.2-22.4 µg/ml olarak belirlendi. Türev spektrofotometrisinde piretrum (PYR) analizleri 231.4 ve 249.2 nm'de, piperonil butoksit (PBO) analizleri 240.6, 287.2 ve 304.6 nm'de yapıldı. Yöntemlerin tayin aralıkları PYR için 2 -14 µg/ml; PBO için 10-50 µg/ml olarak belirlendi. Sonuç olarak, seçilen yöntemlerin vomec -F ve AquaPy ticari formülasyonlarının analizlerinde kullanılabilmesi belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Etkin madde, insektisit formülasyon, kemometri, miktar tayini, türev spektrofotometrisi

Comparison of Quantitative Analysis in Active Components of Some Insecticide Formulations by Spectroscopic and Chemometric Methods

Summary: In this article, ivermectin (IVE) analysis using derivative spectrophotometry were made by 241.1 and 250.4 nm, whereas clorsulon (CLO) analysis were done by 230.0, 234.6, 239.0 and 243.2 nm. Determination limits of derivative spectrophotometric and chemometric techniques of IVE and CLO were found to be 1.60 -9.60 µg/ml and 3.2-22.4 µg/ml, respectively. In derivative spectrophotometry, pyrethrum (PYR) analysis were made by 231.4 and 249.2 nm, whereas piperonyl butoxide (PBO) analysis were made by 240.6, 287.2 and 304.6nm. In second derivative spectrophotometry and chemometry, for PYR and PBO determination limits were found to be 2 -14 µg/ml, 10-50 µg/ml, respectively. Consequently, chosen techniques can be successfully used for analysis of Ivomec -F and AquaPy formulations.

Key Words: Active component, insecticide formulation, chemometry, quantitative analysis, derivative spectrophotometry

Giriş

Spektrofotometrik analizlerde türev spektrofotometrisi ve kemometri gibi enstrümental ve bilgisayar destekli teknikler, ilaç formülasyonlarındaki yardımcı maddelerin olumsuz etkileri bertaraf ederek ve hiçbir ön ayırma işlemine gerek duymadan birden fazla etkin maddenin aynı ortamda analizine olanak sağlanması nedeniyle geniş ölçüde kullanım alanı bulmaktadır (2,3,5,7). Çalınan mada seçilen etkin maddeleri içeren formülasyonların analizlerinde spektrofotometri ve kemometri kullanımıyla ilgili çok fazla yayın bulunmamaktadır. Abuirjeie ve ark. (1) alletrin+PBO, EI-Din ve EI-Brashy (6) tetrametrin+PBO, Garcia ve ark. (8) da tetrametrin+PBO içeren insektisit formülasyonlarının analizinde türev spektrofotometrisini kullanmışlardır. Ülkemizde ise konuyla ilgili herhangi bir çalışmaya bulunmamaktadır. Bu ara tırmayla IVE -CLO ve PYR-PBO içeren insektisit formülasyonlarındaki

etkin maddelerin miktarlarının spektrofotometrik ve kemometrik tekniklerle yapılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalınan mada ivermektin ve klorsulon (Topkim ilaç), piretrum ve piperonil butoksit (Aventis) standartları; 7' er adet vomec F çözelti-Topkim (10 mg/ml ivermektin, 100 mg/ml klorsulon), AquaPy süspansiyon-Aventis (30 mg/ml piretrum, 150 mg/ml piperonil butoksit) insektisit formülasyonları kullanıldı. Çözücü olarak IVE-CLO analizlerinde 0.1 N metanolik HCl, diğer analizlerde metanol (Merck) kullanıldı. Analitik ölçümler Schimadzu UV -1601 spektrofotometreyle, kemometrik hesaplamalar Maple V yazılımıyla, türev spektrofotometrisi hesaplamaları Excel 2000'le, istatistiksel analizler ise SPSS 10.0 yazılımıyla gerçekleştirildi.

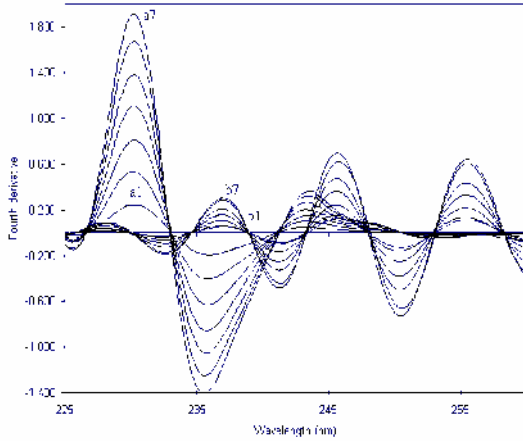
IVE-CLO

Türev spektrofotometrisi kalibrasyonları için IVE'nin 1.6-9.6 µg/ml, CLO'nun 3.2-22.4 µg/ml aralığında hazırlanan çözeltilerinin absorpsiyon spektrumları çizdirildi ve IV. türev spektrumları alındı (ekil 1, ekil 2). Etkin maddelerin birbiriyle etkileşim göstermeyen noktalarındaki (IVE'de

Geli Tarihi/Submission Date : 21.06.2004
Kabul Tarihi/Accepted Date : 03.11.2004

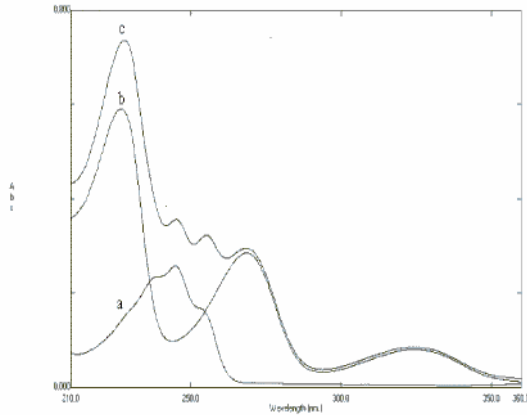
* Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir. Ara tırma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Birimi tarafından VA -01-50-06 nolu proje ile desteklenmiştir.

241.1 ve 250.4 nm, CLO'da 230.0, 234.6, 239.0 ve 243.2 nm) absorbansları okunarak, her bir nokta için kalibrasyon doğruları hazırlandı. IVE ve CLO yapay karışımları hazırlandı ve miktar tayinleri yapıldı. Kalibrasyon aralıklarında IVE-CLO içerecek şekilde hazırlanan formülasyonlardaki (vomec F) etkin madde miktarları belirlendi.



ekil 1. ivermektin (a1-a7) ve klorfenvinphos (b1-b7) kalibrasyon çözeltilerinin 0.1 N metanolik HCl'deki IV. derece türev spektrumları.

Kemometrik kalibrasyon çözeltileri (Tablo 1) hazırlandı ve bunların 220-350 nm dalga boyu aralığında 47 noktada absorbansları okundu. Bu absorbanslar CLS, PLS ve PCR algoritmalarına (4) uygulanarak, her bir tekniğin kalibrasyonları hazırlandı. Yöntem, hazırlanan yapay karışımlara ve formülasyonlara (vomec F) da uyarlandı.

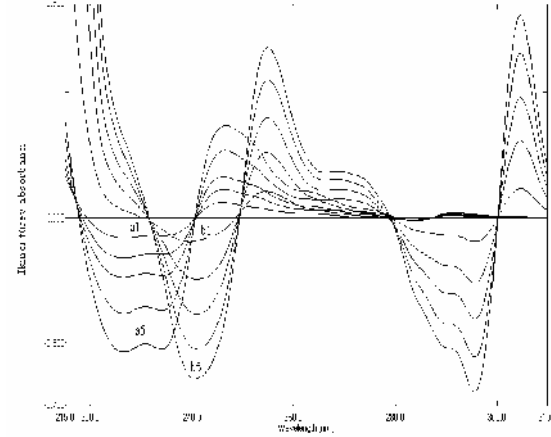


ekil 2. ivermektin (a), klorfenvinphos (b), ivermektin+klorfenvinphos karışımının (c) 0,1 N metanolik HCl'deki absorpsiyon spektrumları.

PYR-PBO

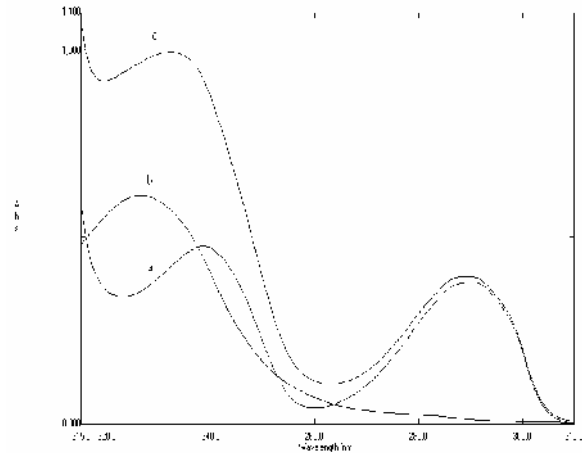
Türev spektrofotometrisi kalibrasyonları için PYR'nin 2-14 µg/ml'lik, PBO'nun 10-50 µg/ml'lik

çözeltileri hazırlanarak absorpsiyon spektrumları ve II. türev spektrumları çizdirildi (ekil 3, ekil 4). Etkin maddelerin birbiriyle etkileme göstermedikleri noktalardaki (PYR'de 231.4 ve 249.2 nm, PBO'da 240.6, 287.2 ve 304.6 nm) absorbanslar belirlenip, her bir nokta için kalibrasyonlar hazırlandı. Yapay karışımlar hazırlanıp karışımlardaki ve formülasyonlardaki (Aqua-py) etkin madde tayinleri yapıldı.



ekil 3. Piretrum (a1-a5) ve piperonil butoksit (b1-b5) kalibrasyon çözeltilerinin metanoldeki II. derece türev spektrumları.

Kemometrik hesaplamalar için kalibrasyon çözeltileri hazırlandı ve absorpsiyon spektrumları çizdirildi. 41 noktadaki ölçülerden absorbanslar CLS, PLS ve PCR algoritmalarına (4) uygulanarak, her bir tekniğin kalibrasyonları hazırlandı. Teknikler hazırlanan yapay karışımlara ve formülasyonlara (Aqua-py) uygulandı.



ekil 4. Piretrum (b), piperonil butoksit (a) ve piretrum + piperonil butoksit karışımının (c) metanoldeki absorpsiyon spektrumları.

Yöntemlerin validasyonunda korelasyon katsayısı (r), do runun e im (m) ve kesim (n) de erleri, ortalama±std sapma de erleri; kemometrik teknikler içinse bunlara ilaveten kalibrasyonun standart hatası (SEC), tayinin standart hatası (SEP) kullanıldı. Türev spektrofotometrisi ve kemometriyle elde edilen sonuçlar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılarak kar ıla tırıldı.

Bulgular

IVE-CLO

Türev spektrofotometrisi yöntemideki konsantrasyonlarının do rusal ili kili oldu u aralıklarının IVE için 1,6-9,6 µg / ml, CLO için 3,2-22,4 µg / ml oldu u; yöntemin ortalama geri kazanım de erleri IVE için 241.1 nm'de % 100.9, 250.4 nm'de % 98.9; CLO için 230.0 nm'de % 100.9, 234.6 nm'de % 101.1, 239.0 nm'de % 100.6 ve 243.2 nm'de % 99.9 oldu u belirlendi. nsektisit formülasyonlarının analizi sonucu; IVE miktarları 241.1 nm'de 9.99±0.12 mg/ml, 250.4 nm'de 9.99±0.11 mg/ml; CLO miktarları 230.0 nm'de 100.69±0.46 mg/ml, 234.6 nm'de 100.69±0.46 mg/ml, 239.0 nm'de 100.67±0.46 mg/ml, 243.2 nm'de 100.57±0.39 mg/ml olarak bulundu.

IVE'nin geri kazanım ortalaması ve standart sapması CLS'de % 99.2±0.93, PCR'de % 99.1±1.85, PLS'de % 99.0±1.86; CLO'nun geri kazanım ortalaması ve ba il standart sapması CLS'de % 100.5±1.96, PCR'de % 100.0±1.12, PLS'de 100.3±1.64 olarak belirlendi. Yöntemin Lambert-Beer kanununa uygun çalı ma aralıklarının her üç kemometrik teknikte IVE için 1,60-9,60 µg/ml, CLO için 3,2-22,4 µg/ml olarak belirlendi. nsektisit formülasyonlarındaki IVE ve CLO miktarları CLS, PCR ve PLS kalibrasyonları ile, IVE CLS'de 10.05±0.06 mg/ml, PCR'de 10.06±0.04 mg/ml, PLS'de 10.03±0.12 mg/ml ortalamayla; CLO CLS'de 100.44±0.36 mg/ml, PCR'de 100.89±0.19 mg/ml, PLS'de 100.83±0.33 mg/ml düzeylerinde tayin edildi.

PYR ve PBO

Türev spektrofotometrisinde konsantrasyonlarının do rusal ili kili oldu u aralıklarının PYR için 2,0-14,0 µg / ml, PBO için 10,0-50,0 µg / ml oldu u bulundu. Bilinen miktarlarda PYR ve PBO konularak hazırlanan kar ımlara yöntem uygulandı nda yöntemdeki ortalama geri kazanım de erleri PYR için 231.4 nm'de % 99.3, 249.2 nm'de % 100.7; PBO için 240.6 nm'de % 99.9, 287.2 nm'de % 99.3 ve 304.6 nm'de % 100.0 olarak hesaplandı. nsektisit formülasyonlarının analizi sonucu; PYR 231.4 nm'de 30.14±0.26 mg/ml, 249.2 nm'de

30.23±0.30 mg/ml; PBO 240.6 nm'de 149.34±0.18 mg/ml, 287.2 nm'de 149.46±0.18 mg/ml, 304.6 nm'de 149.88±0.30 mg/ml ortalama±standart sapmayla tayin edildi.

Yapay kar ımlara CLS, PCR ve PLS kalibrasyonları uygulandı nda, PYR'un geri kazanım de erleri ortalamasının CLS'de % 100.4, PCR'de % 99.9, PLS'de % 99.7; PBO'nun CLS'de % 99.9, PCR'de % 100.2, PLS'de % 100.1 oldu u belirlendi. Yöntemin duyarlılı ı PYR için 2-14 µg/ml, PBO için 10-50 µg/ml oldu u belirlendi. AquaPy süspansiyonundaki etkin madde miktarlarının CLS, PCR ve PLS kalibrasyonlarıyla hesaplanan aritmetik ortalama ve standart sapmaları PYR için CLS'de 30.14±0.24 mg/ml, PCR'de 30.19±0.23 mg/ml, PLS'de 30.21±0.21 mg/ml; PBO için CLS'de 149.49±0.18 mg/ml, PCR'de 149.44±0.21 mg/ml, PLS'de 149.51±0.30 mg/ml olarak belirlendi.

Tüm analiz yöntemlerinde SEP ve SEC de erlerinin dü ük, korelasyon katsayılarının 1.0000'e yakın oldu u belirlendi.

Tartı ma ve Sonuç

IVE-CLO

IVE ve CLO'nun türev spektrofotometrisiyle tayinlerinde ortalama geri kazanım ve korelasyon katsayıları kabul edilen aralıklardadır. Çalı mada IVE ve klorsulonun CLS, PCR ve PLS teknikleri için hesaplanan korelasyon katsayılarının 1.0000'e yakın olması ve SEP, SEC de erlerinin dü ük olması, IVE ve klorsulon analizlerinde kemometrik tekniklerin hassas ve güvenilir sonuçlar verdi ini göstermektedir. Çalı ılan CLS, PCR ve PLS tekniklerinin insektisit formülasyonlarına uygulanması sonucu bulunan IVE ve klorsulon de erleriyle türev spektrofotometrisiyle bulunan de erler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamı tır (p<0.05).

PYR ve PBO

PYR ve PBO yapay kar ımlarının türev spektrofotometrisi ve kemometrik tekniklerle bulunan geri kazanım de erleri, korelasyon katsayıları, SEP ve SEC de erleri incelendi inde, türev spektrofotometrisi ve CLS, PCR, PLS tekniklerinin, PYR-PBO analizlerinde kullanılabilir oldu u görülmektedir. nsektisit formülasyonlarında kemometrik tekniklerle bulunan PYR ve PBO de erleriyle, türev spektrofotometrisiyle bulunan de erler arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın bulunamaması (p<0.05) bu dü ünçeyi desteklemektedir.

Sonuç olarak vomec-F çözelti ve AquaPy süspansiyonun kalite kontrollerine yönelik yapılan rutin analizlerinde türev spektrofotometrisi ve kemometrinin kullanılabilmesi belirlendi.

Kaynaklar

1. Abuirjeie M, Abdel-Hay M.H, El-Din M.S, 1991. Zero-crossing third derivative spectrophotometry for the simultaneous determination of allethrin and piperonyl butoxide in aerosol and shampoo. *Spectrosc Lett.*, 24: 883-893.
2. Altesor C, Corbi P, Dol I, Knochen M, 1993. Application of experimental design of a multicomponent derivative spectrophotometric method. *Analyst.*, 118: 1549-1553.
3. Dinç E, 2002. Spectral analysis of benazepril hydrochloride and hydrochlorothiazide in pharmaceutical formulations by three chemometrics techniques. *Anal Lett.*, 35: 1021-1039.
4. Dinç E, Baydan E, Kanbur M, Onur F, 2002. Spectrophotometric multicomponentdetermination of sunset yellow, tartrazine and allura red in soft drink powder by double divisor -ratio spectra derivative, inverse least - squares and principal component regression methods. *Talanta.*, 58: 579-594.
5. Dinç E, Onur F, 1999. Application of the ratio spectra derivative spectrophotometry and Vierordt's method to quantitative analysis of paracetamol and metamizol in a pharmaceutical formulation. *Sci Pharm.*, 67: 57-68.
6. El-Din MS, El-Brashy A, 1990. UV-spectroscopic determination of mixtures of tetramethrin and piperonyl butoxide in pharmaceutical formulations. *Spectrosc Lett.*, 23: 899-909.
7. Garcia J.A.J, Plaza J.G, Pavon JMC, 1994. Resolution of overlapped peaks in liquid chromatography by use of derivate spectrophotometry and multivariate analysis its application in the determination of active components in insecticide formulations. *Fresen J Anal Chem.*, 349: 542-545.
8. Garcia J.A, 1992. Determination of active components in insecticide formulations by derivate ultraviolet spectrophotometry. *Anal Chim Acta.*, 268: 153-157.

Yazı ma Adresi :

Dr. Murat KANBUR
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
38090 Kocasinan/KAYSER
E-mail: kanburm@erciyes.edu.tr

