

*Bilimsel Araştırmalar*

# Menadionun Voltametrik Yöntemle İncelenmesi

Muzaffer TUNÇEL(\*)  
İnci BİRYOL(\*)

**Özet :** Bu araştırmada, etanol su (15 : 85) çözücü kullanılarak hazırlanan elektrolit çözeltisi içerisinde, platin tel elektrotlarla 150 mV/dak. potansiyel tarama hızında menadionun elektroanalitik karakteristikleri incelenmiştir. Bu koşullarda, elde edilen menadionla ilgili polarizasyon eğrileri kalitatif ve kantitatif açıdan değerlendirilmiş ve indirgenme mekanizması açıklanmaya çalışılmıştır. Kantitatif tayinlerin pH 6-8 arasında  $10^{-6}M-10^{-3}M$  aralığında % 95 güvenilirlikle yapılabileceği sonucuna varılmıştır. Polarizasyon eğrileri incelendiğinde, bazı eğrilerde iki basamak görülmüş, bundan literatürdeki diğer kinetik bileşiklerde olduğu gibi menadionun da birer elektronlu iki basamakta indirgendiği sonucu çıkarılmıştır.

## INVESTIGATION OF MENADIONE BY VOLTAMMETRIC METHOD

**Summary :** In this study, electroanalytical characteristics of menadione at 150 mV/min potential sweeping rate with platinum wire electrodes have been investigated in electrolyte solution which was prepared by using ethanol: water (15 : 85) as the solvent. Polarization curves obtained in these conditions related to menadione has been

(\*) Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Tandoğan-Ankara

evaluated qualitatively and quantitatively and reduction mechanism has been clarified. It has been concluded that quantitative determinations could be performed between pH 6-8 and the range of  $10^{-6}\text{M}$ – $10^{-3}\text{M}$  with 95 % confidence limit. In the examination of the polarization curves, two steps have been seen on some polarization curves and it was found out that menadion is reduced by transferring two electrons in two steps similar to some other quinonic structures appeared in references.

**Key Words :** Voltammetry, Stationary Platinum Electrodes Menadione Determination

## GİRİŞ

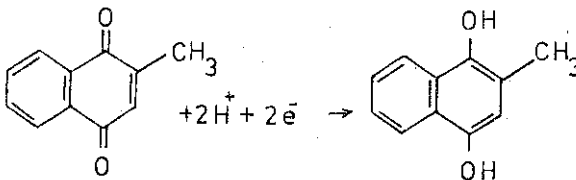
K grubu vitaminleri önemli fizyolojik ve biyolojik etkilere sahiptir. Bilinen en önemli etkileri kanın pıhtılaşma mekanizması üzerinedir. Bu nedenle farmasötik açıdan önemli bir ilaç grubunu oluştururlar(1). Kanın pıhtılaşma mekanizması üzerine etkilerine ek olarak bitkilerde fotosentez, hayvansal organizmalarda oksidatif fosforilasyonda önemli rol oynadıkları ileri sürülmektedir(2).

K grubu vitaminleri 2-metil-1,4-naftokinon'dan (Vitamin K<sub>3</sub>, menadion, menafton) türerler. Menadion diğer K grubu vitaminlerine (K<sub>1</sub> ve K<sub>2</sub> vitamini) çekirdek oluşturur. Bu

nedenle araştırmaların çoğu bu madde üzerinde yapılmakta, elde edilen bilgiler diğer üyelerine uygulanmaktadır(3).

Menadion üzerindeki elektroanalitik çalışmalar damlayan civa elektrotları kullanılarak ve susuz ortamlarda yapılmıştır (4-6). Ayrıca kulometrik ve puls polarografik yöntemler kullanılarak menadionun elektroanalitik bazı karakteristikleri de araştırılmıştır(4-7).

Bu çalışmada, platin tel elektrotlar kullanılarak voltametrik yöntemle menadionun Şema I'de görüldüğü şekilde hidrokinonik yapıya indirgenmesine bağlı olarak elektroanalitik davranışlarının araştırılması amaçlanmıştır.



Şema I

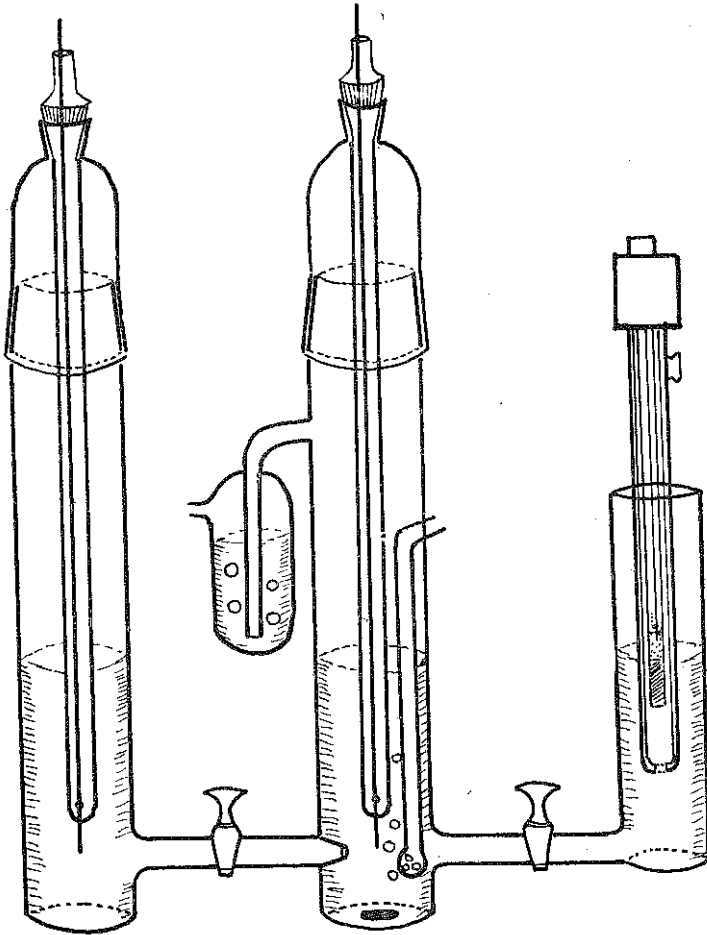
Biyolojik ortamlardaki reaksiyonların incelenmesine basamak oluşturması amacı ile çözücü olarak alkol: su (15 : 85) ve üç ayrı pH bölgesini kapsayan elektrolit çözeltileri kullanılmıştır.

### MATERYEL VE YÖNTEM

Bu araştırmada, Tacussel Firması'nın PRG-3 üç elektrotlu pota-

rografik sistemi kullanılmıştır. Bu sistem; PRT 30-01 potansiyostatı, UAP-3 kontrol birimi ve EPL-2 potansiyometrik kaydedici birimlerinden oluşmaktadır.

Elektrot ön işlemlerinde ve çözeltilerin gerilim-akım şiddeti eğrilerinin elde edilmelerinde, 30-35 ml çözelti alan üç kollu pyrex camdan yapılmış Şekil 1'deki elektroliz hücreleri kullanılmıştır.



Şekil 1. Bir voltametrik hücre

Çalışma ve karşı elektrotların yapımında Johnson Mathey and Co. Ltd. Firması'nın 0.5 mm çapında yüksek saflıktaki platin teli kullanılmıştır. Bu elektrotlar; platin telin gümüş kaynağı ile önce bakır tele tutturulması, sonra oksijen altında ısıtılarak diğer ucu rodajlı bir cam boruya kaynatılması ile hazırlanmıştır. Referans elektrot olarak Tacussel Firması'nın C-10 tipi doymuş kalomel elektrodu (DKE) kullanılmıştır.

Bütün çözeltiler iletkenlik suyu ile hazırlanmış ve kullanılan kimyasal maddelerin analitik ölçülerde saf olmalarına özen gösterilmiştir.

Deneylerde üç ayrı pH tamponu kullanılmıştır. Bunlar; pH 4.6 için  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 6.0 için  $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve pH 7.9 için  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  tamponlarıdır. Elektrolit çözeltiler 150 ml etanol, 74.55 g (1 M destek elektroliti), 40 ml tampon çözeltisinin 1000 ml ye tamamlanması ile hazırlanmıştır. (Alkol ile suyun karışması sırasındaki hacim daralması gözönüne alınmamıştır.)

### Deneysel Uygulama

Deney süresinde, elektrot yüzeyinde toplanan katı maddeler ve oksitler deney sonucunu büyük ölçüde etkilediğinden ve damlayan civa elektrodunda olduğu gibi her bir damlada elektrot yüzeyinin yenilenmesi söz konusu olmadığından, katı elektrotların bir işlemle yüzeylerinin temizlenmesi gerekmektedir.

Deneylerdeki tekrar edilebilirliğin sağlanabilmesi bu işleme bağlı olmaktadır. Araştırmalarda çeşitli ön işlem yolları önerilmektedir (8-12). Bu araştırmada elektrolitik yolla yapılan ön işlem yeğ tutulmuştur.

### Ön İşlemin Yapılışı

İçerisinde 30-35 ml 1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  çözeltisi bulunan elektroliz hücresinin birinci bölümüne yardımcı elektrot olarak platin tel, orta bölümüne platin çalışma elektrodu, üçüncü bölümüne doymuş kalomel elektrodu oturtulduktan sonra musluklar kapatılmakta ve elektrik bağlantıları yapılmaktadır. Bölmeleri birbirine bağlayan kollar arasında hava kabarcıkları kalmamasına özen gösterilmektedir. Daha sonra elektrotlar arasına gerilim uygulayarak elektrot yüzeylerinin doymuş kalomel elektroda göre, — 3000 mV da yükseltgenmesi ve — 150 mV da indirgenmesi yapılmaktadır. İndirgeme işlemi çözeltiden sürekli azot gazı geçirilirken, devreden geçen akım sıfır olana kadar sürdürülmektedir.

### Voltamogramların Kaydedilişi

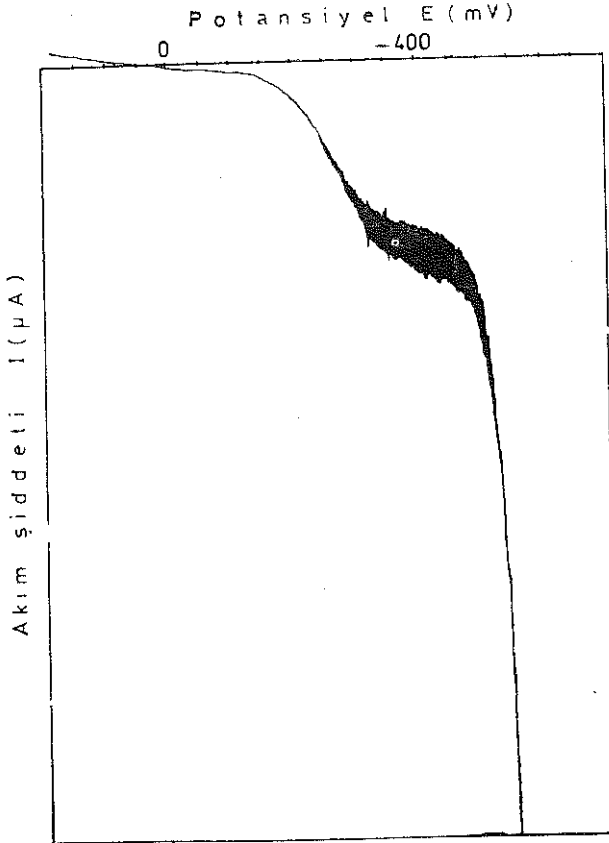
Voltamogramı kaydedilecek çözelti elektroliz hücresine konulmakta, kollar arasında hava kabarcığı kalmaması sağlanmakta ve musluklar kapatılmaktadır. Elektrotlar ön işlemde anlatıldığı gibi yerlerine oturtulduktan sonra orta bölmeden sürekli azot gazı geçirilerek çözeltideki çözünmüş oksijen gazı uzaklaştırılmaktadır. Çözelti sürekli karıştırılırken, elektrotlar arasına de-

gişen potansiyel uygulanarak kayıt yapılmaktadır.

### SONUÇ VE TARTIŞMA

Menadionun sudaki çözünürlüğü düşük olduğu için, bu madde üzerindeki araştırmalar susuz ortamda yapılmıştır (4-6). Bu araştırmada çözücü olarak etanol: su (15 : 85) karışımı kullanılmış, çözünürlük deneyleri ile menadionun bu çözücü sisteminde bütünüyle çözüldüğü saptanmıştır.

Elektrot ön işleminde, elektrolitik yolla yapılan ön işlem yeğ tutulmuş, en iyi tekraredilebilirliğin doymuş kalomel elektroda göre — 3000 mV da yükseltgeme ve — 150 mV da indirgeme ile ön işlem den geçirilmiş elektrotlarla elde edildiği bulunmuştur. Voltamogramların kaydedilişlerinde 150 mV/dak potansiyel tarama hızı kullanılmıştır. Bu koşullarda, menadionun doymuş kalomel elektroda göre elde edilmiş bir polarizasyon eğrisi Şekil 2'de verilmektedir.

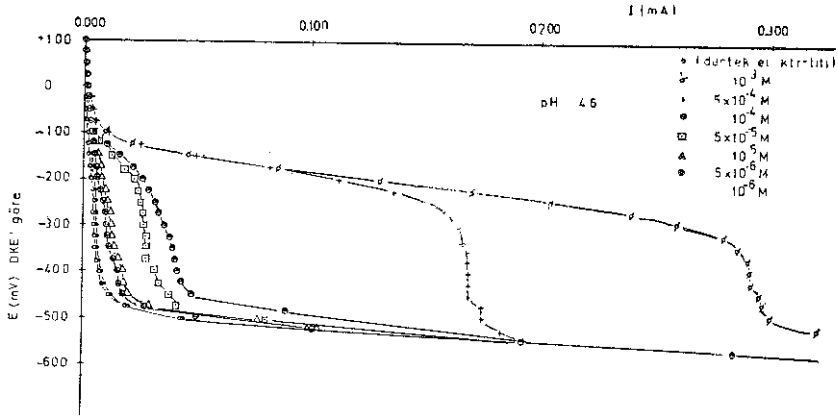


Şekil 2. Menadionun platin elektrotlarla 150 mv/dak potansiyel tarama hızında kaydedilen bir polarizasyon eğrisi.

Üç ayrı pH da yapılan voltametik çalışmalarda elde edilen eğrilerin kalitatif ve kantitatif yorumlarından aşağıdaki sonuçlar çıkmaktadır.

pH 4.6 elektroliti içerisinde elde edilen polarizasyon eğrileri Şekil 3'de görülmektedir. Bu eğrilerde, menadionun indirgenmesine kar-

şı gelen akım artışlarının -75, -125 mV dolaylarından başladığı ve -200, -300 mV dolaylarına kadar uzandığı görülmektedir. İndirgenmeyi gösteren akım artışlarının derişim arttıkça daha pozitif değerlere kaydığı ortaya çıkmaktadır. -475, -500 mV dolaylarındaki artışlar ise hidrojen çıkışı olayını göstermektedir



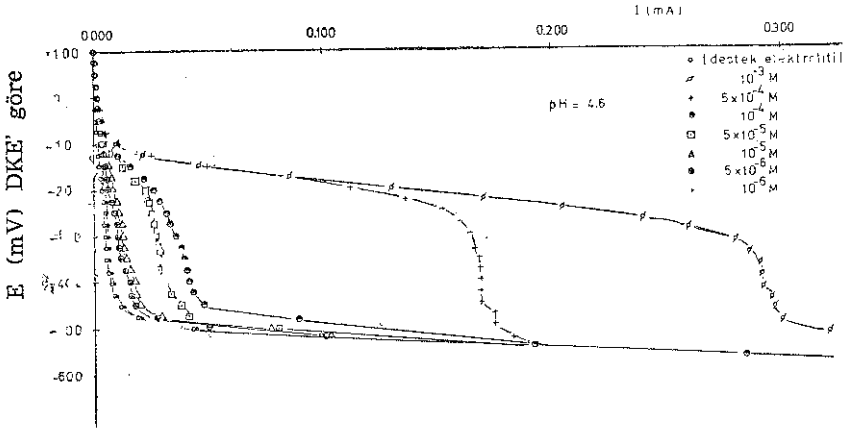
Şekil 3. pH 4.6 elektroliti içerisinde çeşitli menadion derişimlerinin voltansiyel-akım şiddeti eğrileri.

pH 6.0 tamponu içerisinde kaydedilen polarizasyon eğrileri Şekil 4'de görülmektedir. Bu eğrilerde menadionun indirgenmesine karşı gelen akım artışları -200, -250 mV dolaylarından başlamakta ve derişim arttıkça indirgenme başlangıcının biraz daha pozitif değerlere kaydığı görülmektedir. Sınır akımı bölgesinin başlangıcı -300, -400 mV dolaylarında olup bu bölge -600, -650 mV dolaylarından hidrojen çıkışı bölgesine değin sürmektedir.

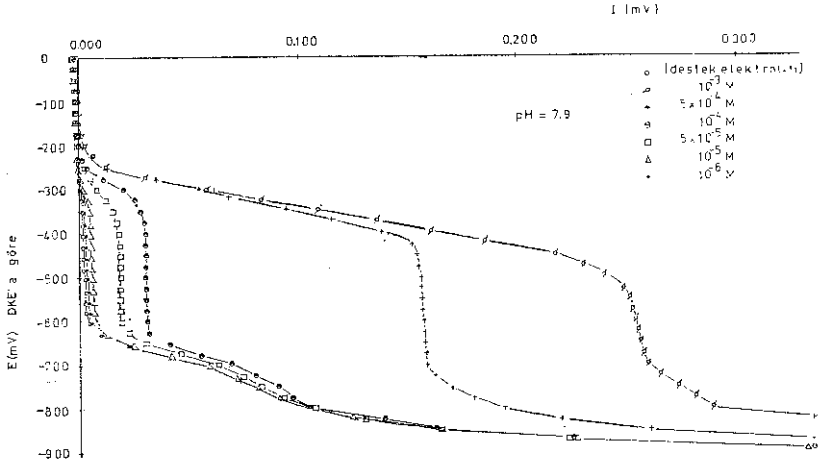
pH 7.9 elektrolit çözeltisi içerisinde elde edilen eğriler Şekil 5'de

görülmektedir. Bu eğrilerden çıkan sonuçlara göre, menadionun indirgenmesi -225, -300 mV dolaylarından başlayıp -400, -500 mV dolaylarında sınır akımına ulaşmaktadır. Bu sınır akımı bölgesi -600, -700 mV dolaylarına değin uzanmaktadır.

Çeşitli pH larda değişik konsantrasyonlarda elde edilen polarizasyon eğrilerinde sınır akımının derişimle doğrusal olarak değıştiği yani olayın bu koşullar altında difüzyon kontrollü olduğu, dolayısıyla Fick'in I. yasasına (13) uyduğu saptanmıştır.



Şekil 4. pH 6.0 elektroliti içerisinde çeşitli menadion derişimlerinin potansiyel-akım şiddeti eğrileri.



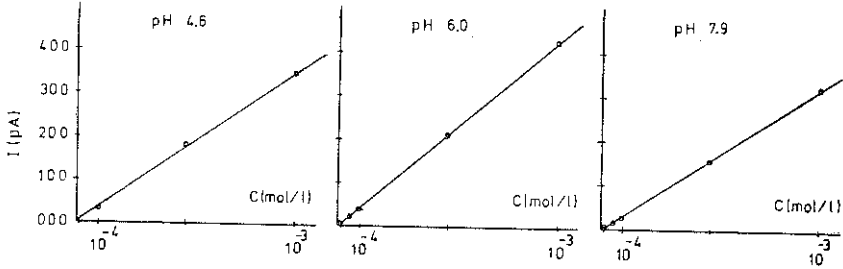
Şekil 5. pH 7.9 elektroliti içerisinde çeşitli menadion derişimlerinin potansiyel-akım şiddeti eğrileri.

Derişim-sınır akımı bağılıkları elde edilirken kullanılan sınır akımı değerleri; aynı potansiyellerdeki menadion içeren ve içermeyen elektrolit çözeltilerinden bulunan sınır akımları farklarıdır. Kuantitatif ilişkiler için pH 4.6, 4.0, 7.9 elektrolitleri içerisindeki menadi-

onla ilgili polarizasyon eğrilerinin pH 4.6 için -350 mV, pH 6 için -475, -500 mV, pH 7.9 için -525, -550 mV dolaylarındaki potansiyellerde sınır akımı değerleri okunmuş ve bu değerler Tablo 1'de toplanmıştır.

**Tablo 1** Çeşitli pH larda menadion derişimleri ve bu derişimlere karşı elde edilen sınır akımları

		C (mol/l)	$1 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-4}$	$5 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-3}$
pH	4.6		—	—	—	—	32.2	162.2	279.2
	6.0	$I_s$ ( $\mu A$ )	0.4	—	4.2	18.7	40.7	199.2	384.2
	7.9		0.2	1.1	3.5	15.0	27.7	143.2	267.2



**Şekil 6.** Çeşitli pH lardaki derişim - akım şiddeti ilişkili eğriler.

Tablo 1 değerlerinden yararlanılarak Şekil 6'daki derişim-akım şiddeti ilişkili eğriler çizilmiştir. Akım şiddeti değerleri üç deneyin ortalaması olup çok sapan değerler kullanılmamıştır.

Neden-sonuç ilişkilerine göre incelenen derişim-akım şiddeti bağılıklarının pH 4.6 elektroliti içerisinde  $10^{-4}M - 10^{-3}M$  aralığında % 90, pH 6.0 ve 7.9 elektrolitleri içerisinde  $10^{-6}M - 10^{-3}M$  aralığında % 95 güvenirlikle gerçekleştiği bulunmuştur.

Görüldüğü gibi katı platin elektrotlar kullanılarak bulunan derişim tayin aralığı damlayan civa elektrotlarla bulunan derişim tayin aralığından daha geniş olmaktadır.

(14). Bu yöntemde büyük sınır akımları elde edildiğinden düşük derişimlere karşı gelen küçük sınır akımları daha duyarlı okunabilmektedir. Tayinlerin pH 6.0 ile 7.9 arasında % 95 duyarlılıkla bulunması, en iyi pH çalışma aralığının 6-8 arasında olduğunu göstermektedir. Bu sonuç damlayan civa elektrotlarla yapılan çalışma ile paralellik göstermektedir(6). Geliştirilen yöntem menadion preparatlarına uygulanmamıştır. Menadion preparatlarında menadion tayininin bir ayırma işlemine gerek kalmadan bir çok farmasötik preparatta olduğu gibi çabukça yapılabileceği belirtilmektedir(4,15).

Menadionla ilgili polarizasyon eğrileri mekanizma açısından



incelendiğinde; pH 4.6 elektrolit çözeltisi içerisinde doymuş kalomel elektroda göre -100 mV dolayında indirgenmeye başladığı ve derişim azaldıkça indirgenme basamağının -200 mV a kaydığı Şekil 3'deki eğrilerde gözlenmektedir. İndirgenme basamakları özellikle yüksek derişimlerde iki basamaklı olmaktadır. İkinci basamak -300 mV ile -350 mV dolayından başlamakta ve iyi belirmemektedir. Buna göre menadion birer elektronlu iki basamakta indirgenmektedir. Şekil 4 ve 5 de menadionun indirgenmesi ile ilgili tek basamak görülmektedir. pH 4.6 elektroliti içerisindeki menadionun kantitatif tayininde duyarlılığın düşük bulunması bu iyi belirlememiş basamaklara bağlanabilir.

Hale ve arkadaşları(16) benzokinon, naftokinon ve antrakininonların polarografik indirgenmelerini inceleyip, indirgenme mekanizmalarını açıklamaya çalışmışlardır. Bu araştırmacılara göre: Kinonik yapı önce bir proton alıp bir katyon meydana getirmekte, sonra iki ayrı basamakta birer elektron alıp indirgenmekte, sonra yine bir proton alarak hidrokinonik yapıyı oluşturmaktadırlar. Çıkarılan sonuçlara göre, beş halkalıya kadar olan kinonların indirgenme mekanizmalarının aynı olduğu polarografik eğrilerin benzerliğine dayanılarak öne sürülmektedir. Bizim çalışmamızda da iki indirgenme basamağı görülmesi bu bulguyu desteklemektedir.

pH 6.0 ve 7.9 elektrolitleri içerisinde menadion eğrilerinde tek bir basamak iyi belirmiş olmasına karşın, enerji ilgileri dolayısı ile bir basamakta iki elektron atlama olasılığının az olduğu(17), tek dalga belirme nedeninin iki indirgenme basamağı potansiyelinin yakın olması ile tek bir basamakmış gibi görülmesiyle açıklanabilir. Süzüz ortamlarda kinonların birer elektronlu iki basamakta semikinon iyonu meydana getirerek indirgendiği ESR ölçümlerine dayanılarak öne sürülmektedir (18,19).

(Geliş Tarihi : 23.7.1984)

#### KAYNAKLAR

- 1 — Wilson, C.O., Gisvold, O., Dorge, R., «Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry», Pitman Medical Publishing Co., Ltd. London (1966).
- 2 — Powl, R., Redfearn, E., «Menachromanol Form of a Photosynthetic Bacterium», *Biochem. J.*, 102, 3C (1967).
- 3 — Watanabe, F., Takamura K., «Polarographic Behaviour of Vitamin K<sub>3</sub> in Aqueous and Alcoholic Solutions and Application to the Determination of K<sub>3</sub>», *Yakugaku Zasshi*. 96, 714 (1976).
- 4 — Jonkind, J.C., Buzza, E., «Assay of Menadion- A Polarographic Procedure», *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, 46, 214 (1957).

- 5 — Linquist, J., Ferroha, S.M., «Application of Differentiated Pulse Polarography to the Assay of K Vitamins», *Anal. yst.*, 100, 377 (1975).
- 6 — Onrust, H., Wöstmann, B., «A polarographic Determination Vitamin K<sub>3</sub> in Prepared Feed» *Recueil Trav. Chim.*, 69, 1207 (1950).
- 7 — Patriarche, G.J., Lingane, J.J., «Electrochemical Characteristics of 2-methyl-1, 4-naphthoquinone», *Anal. Chim. Acta.*, 49, 241 (1970).
- 8 — Kabasakalian, P., Mc Glotten, J., «Polarographic Oxidation of Phenothiazine Tranquillizers», *Anal. Chem.*, 31, 431 (1959).
- 9 — Adams R.N., Mc Clure, J.H., Morris, J.B., «Chronopotentiometric Studies at Solid Electrodes», *Anal. Chem.*, 30, 471 (1958).
- 10 — Eggertsen, F.T., Weiss, F.T., «Effect of Structure of Certain Amine Indicators on Oxidation Potential and Color Intensity on Oxidation», *Anal. Chem.* 28, 1000 (1956).
- 11 — Ferret, D.J., Phillips, C.S.G., «Studies in Polarography. The Rotating Electrodes», *Trans. Faraday Soc.* 51, 390 (1955).
- 12 — Jordan, J., Jawick, R.A., «Electrode Kinetics by Hydrodynamic Voltammetry Study of Ferrous Ferric, Ferrocyanide - Ferricyanide and Iodide-Iodine Systems», *Electrochimica Acta*, 6, 23 (1962).
- 13 — Meites, L., «Polarographic Techniques», Interscience Publishers, New York (1965).
- 14 — Lord, S.S., Rogers, L.B., «Polarographic Studies with Gold, Graphite and Platinum», *Anal. Chem.*, 26, 284 (1954).
- 15 — Brezina, M., Zuman, P., «Polarography in Medicine, Biochemistry and Pharmacy», Interscience Publishers, New York (1958).
- 16 — Hale, J. M., Parson, R., «Reduction of p-Quinones at a Dropping Mercury Electrode», *Trans. Faraday Soc.* 59, 1428 (1963).
- 17 — Butler, J.N., «Electrochemistry in Dimethylsulfoxide», *J. Electroanal. Chem.* 14, 39 (1967).
- 18 — Pöever, M.E., «The Role of Electron Affinity and Solvent», *J. Chem. Soc.* 4, 4544 (1962).
- 19 — Crow, D.R., Westwood, J.V., «Polarography», Methuen and Co. Ltd. London (1968).