

Forum

İleri İlaç Analiz Yöntemleri II Polarografi

Aytekın TEMİZER (*)

Farmasötik analizlerde elektrokimyasal tekniklerden olan polarografi son yıllarda artan bir şekilde önem kazanmaya başlamıştır.

Elektrolitik olarak tepkimelelere girebilen organik ve inorganik maddelerin çeşitli ortamlardaki çözeltileri, elektrotlardan birisi damlayan cıva olan bir hücrede elektroliz edildiklerinde, elde edilen akım-potansiyel eğrileri bu maddeler içinde karakteristiktir. Polarografi ilk kez 1922 yılında Çekoslovak bilim adamı Prof. Jaroslav Heyrovsky tarafından geliştirilmiş ve yapmış olduğu bu çalışmadan dolayı da kendisine 1959 Nobel Kimya ödülü verilmiştir.

Polarografinin temel çalışma elektrodu olan damlayan cıva elektrodu 0.02-0.07 mm iç çapı olan, 3-5 mm kalınlığında ve 10-20 cm boyundaki pyrex kılcalın teflon veya taygon bir plastik boru ile cıva haznesine bağlanması ile oluşturulur. Çok kısa süreler içerisinde kılcal ucunda oluşan cıva koparak yenisi oluşmaya başlar. Cıvanın devamlı damlaması ile yüzey yenilenmekte ve elektrot kirlenmesi önlenmektedir. Ayrıca yüzeyi çok küçük olduğundan mikro hücreler ile çalışılabilmekte ve elektrokimyasal değişmeye uğrayan madde miktarı çok az olduğundan tekrarlanabilirlik yüksek olmaktadır. Hücrede damlayan cıva elektrodundan başka re-

(*) H.Ü. Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Hacettepe - Ankara.

ferans elektrot ve platin elektrot da bulunmaktadır. Bu elektrotların daldırıldığı polarografik hücreye, incelenecek olan madde derişiminin en az yüz katı fazla ve eşdeğer iletkenliği yüksek olan ve «destek elektrolit» adı verilen bir tuz çözeltisi eklenmektedir. Bunun gayesi polarografide maddenin elektroda göç yollarından olup istenilmeyen konveksiyon ve iyonik göçü yok edip veya etkilerini en aza indirilerek maddenin elektroda difüzyonla ulaşmasını sağlamaktır. İçerisinde destek elektrolit ve elektrotlar bulunan hücreden azot gazı geçirerek çözünmüş olan oksijen uzaklaştırıldıktan sonra analizi yapılacak madde çözeltisinden mikrolitre düzeyinde ekleme yapılır. Tekrar çok kısa süre azot gazı geçirilerek hem maddenin karışması sağlanır, hem de madde içerisindeki çözünmüş oksijen uzaklaştırılır. Hücreye elektrotlar yardımıyla düzgün değişen bir potansiyel uygulanacak madde-

nin özelliğine göre oluşacak elektrokimyasal tepkime nedeniyle oluşan akım grafiğe geçirilir. Otomatik olarak kaydedilen bu akım-potansiyel eğrilerine «polarogram» adı verilir. Çözeltideki bileşenlerin indirgenebilme yükseltgenebilme özelliklerine göre elektroliz tepkimesi, damlayan cıva elektrodu ile çalışılabilen potansiyel aralığının (+0.4 ten -3.0 volt'a kadar) belli bir noktasında olur. Bundan dolayı polarogram çözeltideki elektroaktif maddelerin nitel ve nicel özelliklerini yansıtır. Polarografik yöntemlerin en eskisi, doğru akım polarografisidir. Gelişen elektronik sanayii ile orantılı olarak polarografik yöntemlerde de bir ilerleme olmuş, duyarlılık ve doğruluk çoğaltılmıştır. Tablo 1 de bu polarografik yöntemlerin karşılaştırılması görülmektedir:

Doğru akım polarografisinde doğruluk genelde % 1-2 ve duyarlılık ise molekül ağırlığı 100. olan maddeler

Tablo 1. Çeşitli Polarografik Yöntemlerin Karşılaştırılması

Yöntem	Tayin sınırları
Doğru akım polarografisi	$5 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3} M$
Tast polarografisi	$3 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3} M$
Puls polarografisi	$1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3} M$
Diferansiyel puls polarografisi	$5 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-4} M$
Hızlı taramalı polarografi	$5 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4} M$
Anodik sıyırma difeferansiyel puls polarografisi	$1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-6} M$

için yaklaşık 10^{-6} M (0.1 µg/ml) civarındadır. Bu duyarlık yeni gelişen polarografik yöntemlerle daha da çoğaltılmıştır. Akım karakteri katalitik nitelikteyse difüzyon kontrollü akımlardan 100 kez daha duyar sonuçlarda alınabilir. Bu değerlerle diğer aletli analiz genel duyarlık sınırlarını karşılaştırırsak: IR spektroskopisinde % 1; NMR spektroskopisinde mg/ml; HPLC de mg/ml ile µg/ml arasında; UV spektroskopisinde, toplam iyon akımlı GC-Kütle spektroskopisi çiftinde ve alev iyonizasyon detektörlü GC de µg/ml; floresans ve atomik absorpsiyon spektroskopisi ile tek ve çok iyon tayin eden GC-Kütle spektroskopisi çiftinde µg/ml ile ng/ml arasında ve elektron yakalayıcılı detektörlü GC ile alev emisyon spektroskopisinde ng/ml düzeyindedir. Bu yöntemlerde uzun ve yorucu bir ön hazırlık bulunmakta, bazılarında da özel, pahalı ve zor bulunan reaktiflere gerek duyulmaktadır. Pahalı olan bu cihazların kullanımı esnasında da sürekli olarak pahalı maddeler harcanmakta ve devamlı bakım gerekmektedir (1).

Soy gazlar dışında yaklaşık 100 elementin analizi 15 dakika içinde yapılabilir. Uygun destek elektrolit içerisinde birden çok element aynı polarogramda gösterilebilir. Eğer element sıfır değerlikte ise uygun çözücüde iyonunu elde etmek gerekir. Elementler ilaç içerisinde tayin edilebil-

diği gibi kanda, idrarda, organlarda, deride, saçta, suda, havada ve gaz içerisinde tayin edilebilir. Çözücü inorganik veya organik olabilir. Organik polarografi bir kaç yönden inorganik polarografiden ayrılır. Organik polarografide tepkimeye giren kısım molekülün sadece belirli bir elektroaktif kısmıdır. Örneğin: —CHO, —C=O, —NO₂, —N=N, gibi gruplarıdır. Damlayan cıva elektrodu üzerinde indirgenen veya yükseltgenen grupları bulunmayan maddelerin analizi ise, elektroaktif bir grubun moleküle eklenmesi ile yapılabilir. Bunun için kompleks oluşturma, nitrolama, nitrosolama, N veya S oksitleme, kondensasyon ve katılma tepkimelerinden faydalanılır (2).

Polarografinin girdiği ilk farmakope, Prof. Heyrovsky'nin editörlüğü altında hazırlanan 1954 Çekoslovak farmakopesidir. Askorbik asit, klortetrasiklin, kloramfenikol, nikotinamid, insulin ve Zn tayinleri için bu farmakopede polarografik yöntemler önerilmektedir. Ayrıca NF 1975 ve USP 1975 (XIX) da da bir çok ilaç analizleri için polarografik yöntemlerden faydalanılmaktadır. Örneğin NF de dienestrol krem ve tabletlerin, dioktil kalsiyum sulfosuksinat içindeki Bis (2-etilheksil) maleat safsızlığının, metil klortiyazit tabletlerinin ve ksilometazolin hidroklorürün tayini polarografik olarak yapılmaktadır. USP XIX da asetazolamit, azatiyoprin, klor-

tiyazit, diklorfenamit, EDTA içinde NTA safsızlığı, etakrinik asit tabletleri ve etakrinat sodyum ampulleri, metazolamit, nitrofurantoin, prokarbazin hidroklorür, timerosal ve fenilmerkuri nitrat tayinlerinde polarografik yöntemlerden faydalandığı görülmektedir.

Çözeltilerin, damlaların, şurupların, göz damlalarının ampül ve tentür içeriklerinin polarografik analizinde, numune uygun bir çözücü ile seyreltikten sonra doğrudan elektrokimyasal hücreye alınıp polarogramları çekilerek nicel ve nitel tayinleri yapılabilmektedir.

Tabletler toz haline getirildikten sonra etken madde uygun bir çözücüde çözülür. Bazen süzme işlemine gerek kalmadan süspansiyon doğrudan hücreye eklenip polarogramı alınmaktadır. Nişasta, talk, magnezyum stearat gibi bağlayıcılar genelde girişim yapmaz. Jelatin, polivinilpirolidon ve metil selüloz gibi maddeler ise adsorpsiyona neden olduklarından standart ekleme yöntemini kullanmak suretiyle etkilerinin en aza indirilmesi yoluna gidilir.

Pomat, krem, fitil ve benzeri maddelerde yağsı bileşenlerin mutlak ayrılması gerekmektedir. Bu maksatla petrol eteri, hekzan, ve eter gibi nonpolar çözücülerde uygun bir miktar madde çözülüp etken madde, uygun pH daki tampon veya asit çözeltisi ile tüketilir. Sulu faza çekilen madde doğ-

rudan polarografik hücreye alınıp polarogramı çekilir.

Sentetik ilaç analizleri yanında hayvansal ve bitkisel kökenli maddelerin de polarografik analizi yapılabilir. Ancak klasik ayırma yöntemleriye bir ön ayırım gerekmektedir. Uçucu yağların analizinde yağ, etanolde çözülüp uygun tampon çözeltide polarogramları çekilerek nicel ve nitel olarak tayin edilebilir (3,4).

Sonuç olarak :

1) Tedavide kullanılan çok miktarda maddelerin aynı zamanda elektroaktif olmaları yani indirgenebilen veya yükseltgenebilen gruplarının olması, bunların polarografik analizlerine olanak tanımaktadır. Ayrıca dolaylı polarografik yöntemlerin de kullanılmasıyla elektroinaktif moleküllerin de analizi yapılabilmektedir.

2) Farmasötik ürünlerin polarografik analizlerinde dolgu maddelerini çoğu kez ayırmak gerekmez, ki bu da işleri basitleştirip, hızlandırır.

3) Diğer yöntemlerle analizi çok zor olan renkli ve bulanık maddeler, polarografi ile kolayca analiz edilebilir.

4) İleri polarografik analiz yöntemlerinin duyarlılığı, biyolojik materyalde eser madde analiz için yeterlidir.

5) Çok az maddeye gerek bulunmakta ve analizler çok kısa

bir zaman süresi içinde tamamlanabilmektedir.

6) Akış süresince de analiz yapılabilirdiğinden, üretim kontrolü için de kullanılabilir.

7) Cihaz oldukça ucuz olup bakımı da kolaydır.

KAYNAKLAR

1. Schirren, R.E., *Modern Methods of Pharmaceutical Analysis*, Florida, CRC Press, Inc., cilt 2, s. 71, 1982.
2. Zuman, P, *Organic Polarographic Analysis*, Pergamon Press, New York, s. 185, 1964.
3. Hoffmann, H. ve Volke, J., «Polarographic Analysis in Pharmacy», Nurnberg, H.W., (ed). *Electroanalytical Chemistry*, Vol. 10, New York, John Wiley and Sons, s. 287 1974.
4. Smyth, W.F., (ed) *Polarography off Molecules of Biological Significance*, New York Academic Press, 1979.