

**PENDERIA ALIRAN TERUS KLOROKUINA DAN APLIKASINYA DALAM
KAWALAN MUTU FARMASEUTIKAL**

oleh

ZAINIHARYATI MOHD ZAIN

**Tesis diserahkan untuk memenuhi
keperluan bagi Ijazah Sarjana Sains**

Oktober 2004

PENGHARGAAN

Dengan nama Allah yang Maha Pemurah lagi Maha Penyayang. Alhamdulillah dengan izinNya jua, tesis ini dapat disempurnakan.

Jutaan terima kasih diucapkan kepada Penyelia Utama saya, Prof. Madya Bahruddin Saad atas dedikasi dan komitmen berterusan beliau membimbing saya sepanjang tempoh penyelidikan dan penulisan tesis ini.

Terima kasih juga kepada Prof. Shariff Mahsufi dari Pusat Penyelidikan Dadah Kebangsaan, USM, atas sumbangan sampel tablet dan kebenaran menggunakan peralatan di Pusat Penyelidikan tersebut. Tidak ketinggalan kepada Prof. Madya Ismail Abdul Rahman, Prof. Muhammad Idris Salleh dan Prof. Madya Norita Mohammad atas buah fikiran dan sokongan moral sepanjang tempoh penyelidikan.

Rakan-rakan di makmal penyelidikan, juruteknik dan kakitangan di Pusat Pengajian Sains Kimia, USM, terima kasih atas suasana kerja yang cukup harmoni.

Terima kasih kepada Universiti Teknologi MARA yang memberi peluang melanjutkan pengajian secara penuh masa beserta penajaan biasiswa staf.

ISI KANDUNGAN

	Mukasurat
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
SENARAI JADUAL	viii
SENARAI RAJAH	ix
SENARAI SINGKATAN	xi
BAB 1	
PENGENALAN	
1.1. Malaria	1
1.2. Klorokuina	4
1.3. Analisis Kuantitatif Klorokuina	7
1.4. Potensiometri	17
1.4.1. Penggunaan Elektrod Pemilih Ion dalam Bioperubatan	20
1.5. Analisis Suntikan Aliran	30
1.6. Ujian Pemelarutan Tablet	38
1.7. Objektif Kajian	42
BAB 2	
PEMBANGUNAN PENDERIA KLOROKUINA	
2.1. Eksperimental.	44
2.1.1. Reagen	44
2.1.2. Penyediaan Badan Elektrod dan Membran	45

2.1.3. Pembangunan Membran Elektrod Pemilih Ion Klorokuina	47
2.1.3 (a) Membran Matriks Polivinil klorida	47
2.1.3 (b) Membran Matriks Sol gel	47
2.1.3 (c) Membran Matriks Polimer Terfoto	48
2.1.4. Pencirian Sifat Elektrokimia EPI Klorokuina	50
2.1.5. Penentuan Pekali Kepilihan	50
2.1.6. Penentuan Kandungan Bahan Aktif Tablet	51
2.2. Keputusan dan Perbincangan.	53
2.2.1. Ciri Elektrokimia Elektrod.	53
2.2.2. Kepilihan Elektrod	57
2.2.3. Penentuan Sampel Tablet Klorokuina Secara Potensiometri.	59
2.3 Kesimpulan	59

BAB 3

PEMBANGUNAN KAEDAH ANALISIS SUNTIKAN ALIRAN DAN APLIKASINYA

3.1. Eksperimental	60
3.1.1. Reagen	60
3.1.2. Manifol Sistem Suntikan Alir.	61
3.1.3. Fabrikasi Membran PVC	65
3.1.4. Penyediaan Larutan Uji.	65
3.1.4 (a) 1 mM Klorokuina dalam larutan tablet sintetik	65

3.1.4 (b) 1 mM Klorokuina dalam larutan elektrolit serum sintetik	66
3.1.4 (c) 1 mM Klorokuina dalam larutan bendalir fisiologi sintetik	66
3.1.5. Penentuan Kuantitatif Tablet Klorokuina (Kaedah USP)	67
3.1.6. Ujian Pemelarutan	68
3.1.7. Kajian Perlekatan Protein Pada Permukaan Membran Penderia	70
3.2. Keputusan dan Perbincangan	71
3.2.1. Pengoptimuman sistem Analisis Suntikan Aliran.	71
3.2.2. Aplikasi Kaedah FIA bagi Analisis Kuantitatif Klorokuina.	85
3.2.3. Profil Pemelarutan	97
3.3. Kesimpulan	99
BAB 4	
CADANGAN PENYELIDIKAN LANJUTAN	100
RUJUKAN	
LAMPIRAN	

PENDERIA ALIRAN TERUS KLOOROKUINA DAN APLIKASINYA DALAM KAWALAN MUTU FARMASEUTIKAL

ABSTRAK

Elektrod pemilih ion klorokuina (salah satu dadah anti malaria) berasaskan membran polivinil klorida (PVC) telah dikaji. Bahan elektroaktif lipofilik kalium tetrakis(4-klorofenil) borat diguna sebagai penukar ion bersama dengan pemplastik samada bis (2-etilheksil) adipat (BEHA), trioktilfenilfosfat (TOPP) atau dioktilfenilfosfonat (DOPP). Semua elektrod mempamerkan ciri-ciri elektrokimia yang baik seperti gerakbalas Nernstian, pantas dan mengalami kesan gangguan yang minima terhadap ion-ion logam alkali dan alkali bumi yang diuji.

Seterusnya, membran-membran tersebut diaplikasi sebagai penderia dalam sistem analisis suntikan aliran (FIA). Selepas pengoptimuman parameter-parameter FIA, sifat kepilihan dan jangka hayat penderia-penderia tersebut dinilai. Keputusan yang memuaskan diperoleh bagi penentuan klorokuina dalam larutan sintetik yang mengandungi beberapa komponen tablet seperti glukosa, kanji, polividon, dan sellulosa serta beberapa spesies lain seperti kation, asid sitrik dan asid laktik. Penderia tersebut berjaya diguna dalam penentuan bahan aktif tablet dalam larutan tablet sintetik dan bendalir fisiologi sintetik. Aplikasi penderia dalam penentuan bahan aktif bagi penghasilan profil pemelarutan tablet dagangan turut dilaksanakan.

FLOW THROUGH CHLOROQUINE SENSOR AND ITS APPLICATIONS IN QUALITY CONTROL OF PHARMACEUTICALS

ABSTRACT

Poly(vinyl chloride) membrane electrodes that respond selectively towards the anti-malarial drug chloroquine are described. The electrodes were based on the use of the lipophilic potassium tetrakis(4-chlorophenyl) borate as ion exchanger and bis(2-ethylhexyl) adipate (BEHA), or trioctyl phenylphosphate (TOPP) or dioctylphenylphosphonate (DOPP) as plasticizing solvent mediator. All electrodes produced good quality characteristics such as Nernstian, and rapid responses, showed minimal interference by the alkaline earth metal ions tested.

The membranes were applied to a flow-through device, enabling it to function as a flow injection analysis (FIA) detector. The performance of the sensor after undergoing the FIA optimization was further evaluated for its selectivity characteristics and lifetime. Results for the determination of chloroquine in synthetic samples that contained common tablet excipients such as glucose, starch, polyvidone and cellulose, other cations, citric acid and lactic acid were generally satisfactory. The sensor was also successfully used for the determination of the active ingredients in mock tablet and synthetic physiological fluids. The application of the sensor for the determination of active ingredients the establishment of the dissolution profile of the commercial tablets were also carried out.

SENARAI JADUAL

Jadual		Mukasurat
1.1	Perbandingan masa analisis dan penilaian kos analisis dadah anti malaria.	13
2.1	Kandungan % berat (wt %) bagi membran klorokuina dengan komposisi yang berbeza.	49
2.2	Ciri elektrokimia matriks membran yang dikaji.	53
2.3	Pekali Kepilihan ($K^{pot}_{CQ,B}$) bagi elektrod yang dikaji	57
2.4	Kepekatan klokuina ditentukan secara potensiometri (n=4).	58
3.1	Parameter sistem FIA yang digunakan.	82
3.2	Bahan yang biasa diguna dalam formulasi tablet.	87
3.3	Komposisi urin dan plasma darah bagi individu normal dewasa.	88
3.4	Peratus pengurangan tinggi puncak bagi larutan 1 mM klorokuina yang mengandungi agen gangguan yang merupakan agen pengikat tablet.	90
3.5	Peratus pengurangan tinggi puncak bagi larutan 1 mM klorokuina yang mengandungi agen gangguan ion logam dan bahan organik fisiologi.	91
3.6	Peratus pemulihan klorokuina yang disediakan dalam larutan uji berikut.	92
3.7	Penentuan klorokuina di dalam tablet komersial melalui kaedah FIA dan kaedah USP.	94

SENARAI RAJAH

Rajah		Mukasurat
1.1	Struktur kimia beberapa dadah anti malaria	3
1.2	Peta dunia menunjukkan kawasan endemik rintang klorokuina .	5
1.3	Gambarajah skema sel elektrokimia bagi pengukuran potensiometri secara manual.	19
1.4	Struktur kimia blok komposit MPC-co-BMA	26
1.5	Perkembangan literatur FIA antarabangsa [83].	32
1.6	Manifol skematik analisis suntikan aliran.	33
1.7	Profil pemelarutan menentukan keberkesanan formulasi tablet.	39
1.8	Automasi ujian pemelarutan aspirin [90].	41
2.1	Badan elektrod sebelum (a) dan (b) selepas diletakkan bahan elektroaktif.	46
3.1	Manifol analisis suntikan aliran digunakan.	62
3.2	Pelan dan dongakan sel aliran terus Chemflow.	63
3.3	Badan elektrod platinum di mana penderia PVC klorokuina melapisi permukaan atas elektrod.	64
3.4	Tabung pemelarutan	69
3.5	Struktur pemplastik yang diguna dalam penderia matriks PVC	73
3.6	Jangka hayat bagi penderia yang mengandungi (♦) BEHA , (▲) TOPP dan (■) DOPP sebagai pemplastik apabila di dedah kepada pengaliran berterusan larutan penimbal asetat pH 6.5. Kepekatan klorokuina disuntik adalah 1 mM sebanyak 50 µl. Kadar alir 1.5 ml min ⁻¹ .	74

3.7	Kesan isipadu sampel terhadap tinggi puncak. (♦) 1 mM klorokuina dan (■) 10 mM klorokuina disuntik ke dalam aliran penimbal asetat pH 6.5. Kadar alir 1.5 ml min ⁻¹ .	76
3.8	Kesan terhadap tinggi puncak bagi penderia klorokuina berasaskan pemplastik BEHA apabila 50 µl, 1 mM klorokuina disuntik pada kadar alir penimbal asetat pH 6.5 yang berbeza.	78
3.9	Kesan pH terhadap tinggi puncak. 50 µl 1 mM klorokuina disuntik ke dalam aliran penimbal asetat 0.3 M dengan kadar alir 1.5 ml min ⁻¹ .	81
3.10	Keluk tentukuran tipikal. Persamaan garis lurus: $y = 33.27x - 48.89$. $r^2 = 0.9944$.	83
3.11	Puncak-puncak penentukuran sistem suntikan aliran. Suntikan 50 µl kepekatan larutan piawai klorokuina ke dalam aliran larutan penimbal asetat pH 6.5, kadar alir 1.5 ml min ⁻¹ .	84
3.12	Puncak-puncak terhasil bagi ujian gangguan. 50 µl larutan piawai 0.1 mM klorokuina disuntik diikuti 0.1 mM klorokuina di dalam (A; 4.1 mM KCl, B; 0.6 mM MgCl ₂ , C; 1.1 mM CaCl ₂ , D; 140.2 mM NaCl, E 1 mM NH ₄ Cl, F 25 mM asid laktik, G; 25 mM asid sitrik, H; 20 % w/v sellulosa, I; 25 % w/v kanji, J; 5% w/v polividon dan K; 50 % w/v glukosa) ke dalam aliran penimbal asetat pH 6.5. Kadar alir 1.5 ml min ⁻¹ .	89
3.13	Analisis pemulihan klorokuina menggunakan FIA. Penimbal asetat pH 6.5 sebagai pembawa dengan kadar alir 1.5 ml min ⁻¹ . Suntikan piawai diikuti larutan uji (a: tablet sintetik, b: elektrolit serum sintetik, c: bendalir fisiologi sintetik)	93
3.14	Mikrograf SEM (pembesaran 1000 x) menunjukkan kerosakan permukaan membran penderia setelah terdedah kepada darah selama empat jam.	96
3.15	Profil pemelarutan dua jenis tablet dagangan yang diperoleh dari sistem suntikan alir dibina.	98

SENARAI SINGKATAN

AAS	Spektroskopi Penyerapan Atom
BEHA	Bis-(2-etilheksil)adipat
BIA	Analisis suntikan bermanik
BMA	n-butylmetakrilat
BP	Farmakopea British
CE	Elektroforesis rerambut
CNT	Nanotiub karbon
CTA	Sellulosa triasetat
DEDMS	Dietoksisilana
DNNS	Dinonilnaftalena sulfonat
EPI	Elektrod pemilih ion
FIA	Analisis suntikan aliran
GC	Kromatografi gas
GC-MS	Kromatografi gas spektroskopi jisim
HPLC	Kromatografi cecair berprestasi tinggi.
ICP MS	Spektroskopi jisim plasma berganding secara aruhan spektroskopi jisim.
LOV	Makmal atas injap
MPC	2-metakrililoksietilfosfonilkolin
PEO	Poli(etilina oksida)
PU	Poliuretana
PVC	Poli vinil klorida
RIA	Cerakin radio
SIA	Analisis suntikan turutan
TEOS	Tetraetoksisilana
USP	Farmakopea Amerika Syarikat
UV	Ultra lembayung

WHO	Kesatuan kesehatan sedunia.
μ FIA	Analisis suntikan aliran mikro
TOPP	Trioktilfenilfosfat
DOPP	Dioktilfenilfosfat
KTpCIPB	Kalium tetrakis (4-klorofenil)borat
HDDA	Heksadiol diakrilat
n-BA	n-butylakrilat
THF	Tetrahidrofuran
SEM	Mikroskopi pengimbasan elektron

BAB 1

PENGENALAN

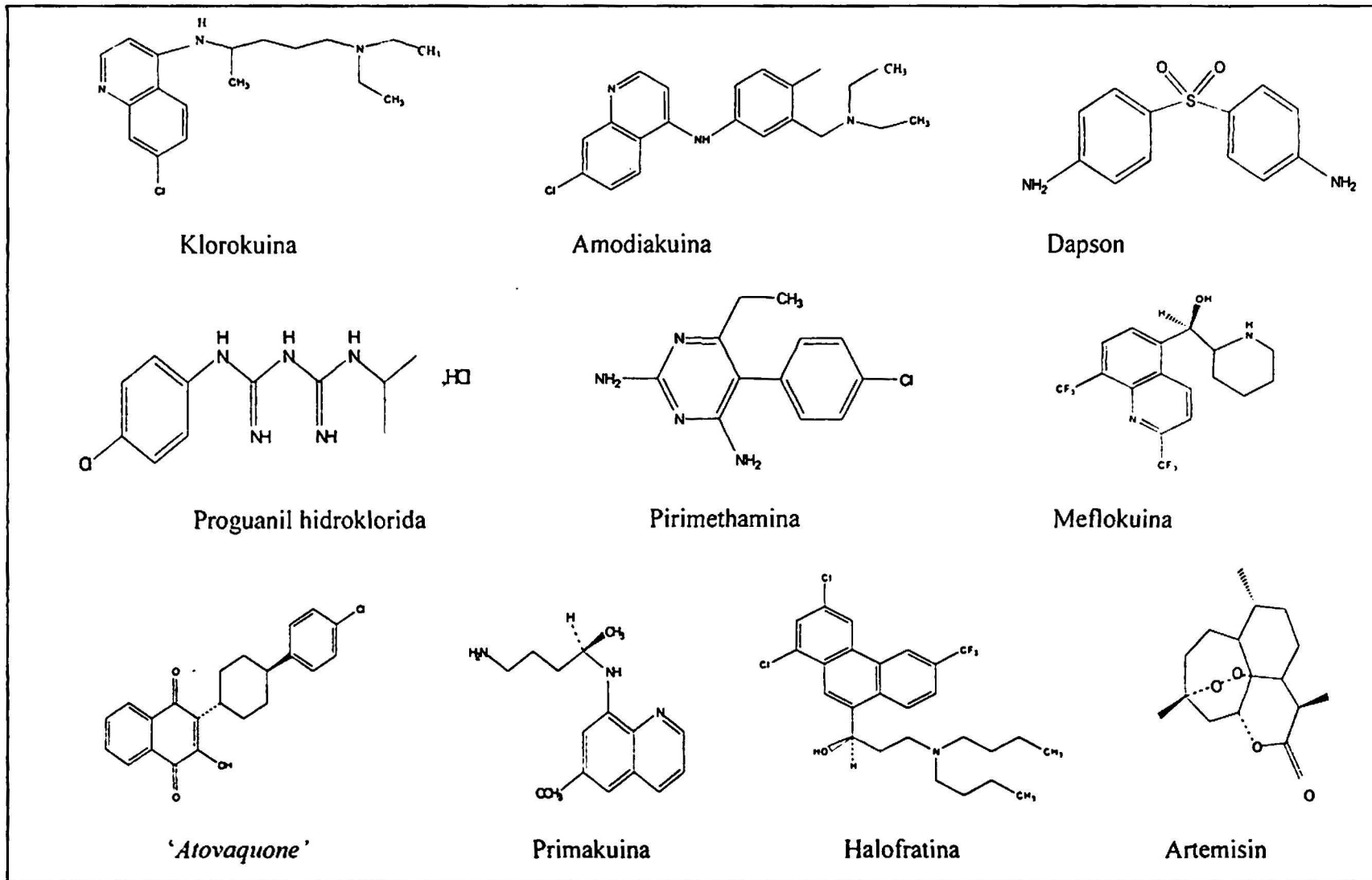
1.1 MALARIA

Malaria adalah jangkitan antara empat spesies protozoa *Plasmodium*, *Plasmodium Falciparum*, *P. Vivax*, *P ovale* dan *P. malariae* dalam sistem imunisasi manusia. Jangkitan malaria pada manusia dicirikan dengan demam panas, anemia, penggelembungan limpa dan pigmentasi tisu. Kesatuan Kesihatan Sedunia (WHO), melaporkan kes malaria adalah dari 300 hingga 500 juta setahun dan meragut hingga 1.5 juta nyawa di seluruh dunia [1]. Laporan mengenai malaria banyak berlaku di Amerika Tengah, Amerika Selatan, Haiti, Republik Dominikan, Afrika, India, Asia Tenggara, Timur Tengah dan Oceania.

Jangkitan malaria pada manusia berlaku apabila vektor bagi parasit tersebut iaitu nyamuk *Anopheles Gambiae* menyuntik manusia [2]. Nyamuk tersebut menghisap darah manusia yang telah mempunyai protozoa dalam saluran darah. Pemiakan parasit tersebut berlaku di dalam sistem nyamuk selama lebih seminggu, sebelum nyamuk tersebut menyuntik parasit yang matang kepada individu yang lain. Parasit malaria di bawa terus ke hati manusia untuk terus membiak. Pada tahap ini, individu yang disuntik parasit malaria itu masih lagi segar. Apabila parasit menyerang sel darah merah, ia akan membiak dan terus mengganda, mengakibatkan sel darah merah itu

pecah lalu membebaskan jutaan parasit ke dalam saluran darah untuk menyerang sel darah merah yang lain. Toksin parasit mula dirasai apabila individu merasai demam panas, demam bersela, mengigil, pening kepala, sakit sendi dan sakit otot. Muntah-muntah serta cirit birit juga mungkin berlaku. Tanda lain termasuk anaemia dan demam kuning yang berpunca dari kekurangan sel darah merah. Jika seseorang diserangi parasit *Plasmodium falciparum* tanpa mendapat rawatan segera, individu tersebut akan mengalami kégagalan fungsi buah pinggang, koma atau meninggal dunia.

Diagnosa penyakit malaria adalah melalui pengenalan protozoa dalam sampel darah pesakit menggunakan mikroskop. Pemberian rawatan penyakit malaria dilakukan mengikut jenis protozoa, endemik pesakit dijangkiti, umur pesakit dan keseriusan jangkitan protozoa. Dadah yang disyorkan bagi jangkitan yang serius adalah klorokuina, namun dalam endemik yang mempunyai kerintangan terhadap klorokuina, disyorkan menggunakan dadah "*artemether-lumefrantine*", meflokuina, "*atovaquone-proguanil*", primakuina dan halofrantrina [3]. Namun, kos rawatan bagi dadah yang disarankan itu adalah dalam lingkungan US\$5.00 hingga US\$50.00 [3]. Bagi negara Afrika dan kebanyakan negara membangun, harga ubat yang mahal menjadi halangan penggunaan dadah berkenaan. Dadah yang lebih mampu dibeli adalah campuran klorokuina bersama sulfodoksina-pirimethamina (SP), amodiakuina (secara tunggal atau bersama SP) dan kloroproguanil-dapson. Kombinasi artemisin (*'artemisin combination therapy'*) adalah pilihan yang terbaik, tetapi pengenalannya ke benua Afrika dan negara Asia Tenggara menimbulkan masalah logistik [3]. Struktur kimia beberapa dadah anti malaria ditunjukkan pada Rajah 1.1.

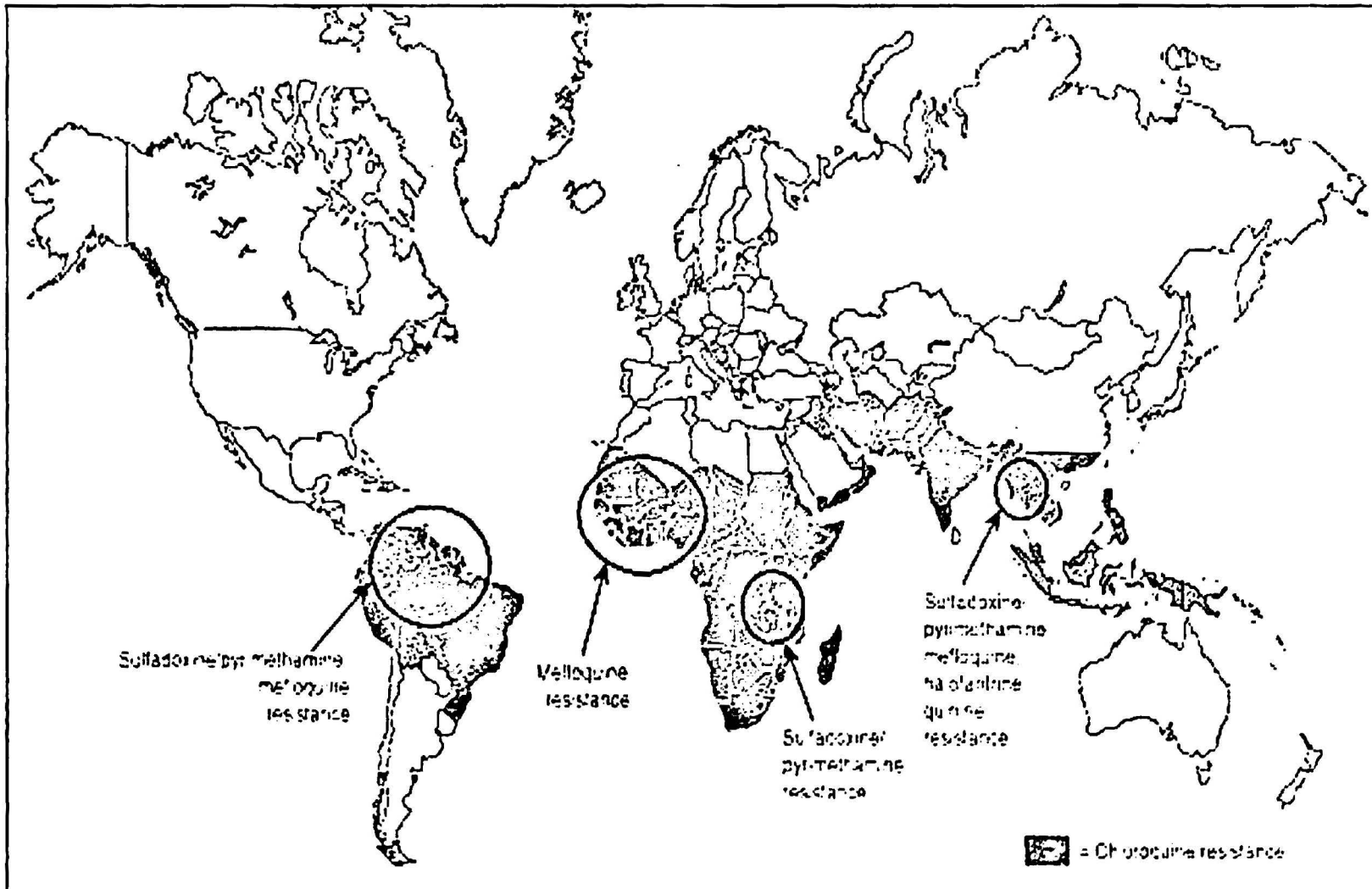


Rajah 1.1. Struktur kimia beberapa dadah anti malaria [4,5].

1.2 KLOOROKUINA

Klorokuina adalah dadah anti malaria yang pertama disintesis oleh ahli kimia Jerman pada tahun 1934 [6]. Penggunaan awal klorokuina bagi rawatan kes malaria adalah oleh tentera Jerman yang bertugas di Afrika Utara semasa Perang Dunia Kedua. Klorokuina juga turut digunakan sebagai anti protozoa, merawat *amebiasis* dan sebagai anti rheumatik merawat penyakit *arthritis* dan *lupus* [7].

Sehingga kini, penggunaan klorokuina masih lagi luas di luar kawasan endemik rintang klorokuina kerana harganya yang murah dan mudah diperoleh. Rintang klorokuina bermaksud pesakit yang diberi dos klorokuina tidak sembuh dari penyakit tersebut dan mati akibat malaria. Justeru, dos klorokuina tersebut tidak mampu merencat perkembangan parasit plasmodium yang menyerang sel darah merah manusia. Rajah 1.2 menunjukkan kawasan endemik rintang klorokuina dan dadah anti malaria yang lain. Fenomena ini diperhati tertumpu di sekitar Amerika Selatan, Afrika, Asia Tengah dan Asia Tenggara.



Rajah 1.2. Peta dunia menunjukkan kawasan endemik rintang klorokuina [8].

Sebab musabab fenomena rintangan terhadap klorokuina masih kabur dan dipantau serius oleh pihak Kesatuan Kesihatan Sedunia (WHO). Maka, ini membuka ruang pembahasan saintifik yang luas bagi mendalami punca sebenar fenomena di atas. Penggunaan klorokuina dibawah tahap piawaian Farmakopea antarabangsa adalah antara faktor penyumbang terhadap fenomena tersebut. Paul Newton dan rakan-rakan menganalisa kandungan bahan aktif dadah anti malaria di Cambodia, Laos, Thailand dan Vietnam [9]. Mereka mendapati kebanyakan dadah tersebut tidak mempunyai bahan aktif. Pusat Kawalan Kualiti Ubat-Ubatan, Potchefstroom, Afrika Selatan dengan kerjasama WHO pula, telah menganalisis sampel klorokuina untuk mengetahui kandungan bahan aktif dan profil pemelarutan dari enam negara di Afrika. Bagi semua negeri tersebut, hanya 58% sampel sahaja mempunyai nilai bahan aktif yang diterima [10]. Kebanyakan negara miskin dan membangun mengamalkan prosedur persediaan dadah dan ubat-ubatan yang tidak cekap.

Di Malaysia, Malaria menunjukkan peningkatan pada awal 1990-an. Kemuncak kes iaitu sebanyak 2.99/1000 penduduk berlaku pada tahun 1994. Walau bagaimanapun, laporan kes menurun secara mendadak pada tahun 1998. Kajian pada tahun 1996 mencatatkan 54 % kes rawatan klorokuina, rintang terhadap dadah tersebut [11].

1.3. ANALISIS KUANTITATIF KLOROKUINA

Dokumentasi utama metodologi analisis kuantitatif klorokuina di dalam bahan farmasuetik tercatat di Farmakopea British (BP) dan Farmakopea Amerika Syarikat (USP). BP menggariskan kaedah titrimetri yang melibatkan prosedur pengekstrakan berulang klorokuina menggunakan eter dalam medium bes natrium hidroksida [4]. USP pula menggariskan pengekstrakan tablet klorokuina menggunakan kloroform dalam medium ammonium hidroksida [5]. Bes berlebihan dineutral semula dengan asid hidroklorik. Seterusnya, penentuan kuantitatif dilakukan menggunakan spektrofotometer ultra lembayung pada jarak gelombang 343 nm [4,5].

Walaupun kaedah ini tidak menggunakan peralatan yang mahal, namun tataranya agak payah dan mengambil masa yang lama. Maka dengan itu, beberapa penyelidikan dan pembangunan tatarana analisis kuantitatif klorokuina telah dilaksanakan.

Pelbagai reagen dan ion pasangan diguna dalam kuantitatif menggunakan spektrofotometer ultra lembayung (UV). Antaranya tindakbalas klorokuina dengan bromofenol biru, quinon, iodin, ammonium molibdenat, tungstofosfat dan tetrafenilborat serta aminatetratiosianatokromat dan kobalt tiosianat [12]. Oleh kerana kebanyakan tindakbalas penunjuk itu tidak memilih, maka pengekstrakan berulang menggunakan pelarut organik yang meruap bagi tablet klorokuina perlu dilakukan terlebih dahulu. Shaban *et.al* telah membangunkan kaedah spektrofotometri UV berdasarkan pembentukan pasangan ion diantara klorokuina dengan kompleks molibdenum (V)

tiosianat selepas pengekstrakan dengan metilina klorida [13]. Pengekstrakan pasangan ion tersebut dilakukan dalam medium 2.0 M asid hidroklorik. Penyerapan maksimum bagi larutan sampel berlaku dengan kehadiran 20% ammonium molibdenat. Pendekatan pembentukan pasangan ion klorokuina dengan 7,7,8,8-tetrasianoquinodimetana juga dilapor [14]. Kaedah tersebut membentuk anion radikal yang sangat berwarna.

Analisis menggunakan kaedah pendarfluor bergantung kepada pengenalan beberapa ciri struktur sebatian, maka dengan itu kaedah ini lebih spesifik daripada spektroskopi UV. Klorokuina merupakan terbitan kumpulan 4-quinolin dan mempunyai struktur yang aktif secara pendarfluor. Brodie *et.al* melaporkan buat pertama kali identifikasi dan analisis klorokuina menggunakan kaedah pendarfluor, namun kaedahnya tidak begitu peka dan tidak memilih [15]. Beliau juga tidak memisahkan klorokuina dari metabolitnya. McChesney *et.al* pula melakukan modifikasi terhadap cerakin tersebut, pun begitu ia masih tidak spesifik bagi klorokuina [16].

Metabolit utama bagi klorokuina adalah sebatian desetilklorokuina. Metabolit ini terkandung sebanyak 23 % dari hasil buangan manusia berbanding klorokuina sebanyak 70 %. Selain dari desetilklorokuina, bisdesetilklorokuina sebanyak 1-2 % dan terbitan asid karboksilik klorokuina juga sebanyak 1-2 %. Pemulihan harian klorokuina dari hasil buangan selepas pengambilan 24 jam, adalah sebanyak 66 %. 10 % terkandung dalam najis manakala 56 % dalam air kencing. Pengambilan 310 mg dos harian klorokuina selama 2 minggu memberi kepekatan klorokuina dalam plasma sebanyak 125 ng ml⁻¹ [16].

Rubin *et.al.* berjaya menganalisis klorokuina dari metabolitnya menggunakan kaedah pendarfluor. Namun, bacaan klorokuina pada pH (11.8-13.0) tidak menghasilkan keamatan pendarfluor yang tertinggi, mengakibatkan kaedahnya kurang peka [17]. Schulman dan Young membuktikan bahawa keamatan pendarfluor dipengaruhi oleh pH media. pH optimum bagi keamatan pendarfluor bagi analisis klorokuina adalah dalam julat pH 9.8-10.0 [18]. Frisk-Holmberg mengubah cerakin tersebut dengan menggunakan pelarut etilena diklorida serta campuran 10% sodium klorida dan 1.0 M natrium hidroksida semasa proses pengekstrakan. Fasa organik tersebut dibasuh pada pH 8.0 dan diekstrak kembali dengan asid. Fasa akuas yang terbentuk dialkalkan kepada pH 9.7 dan dikesan secara pendarfluor. Had pengesanan dilaporkan adalah 10 ng ml^{-1} dengan 95% pemulihan [19]. Adelusi dan Salako menggunakan dietil eter sebagai pelarut. Kebolehulangan yang tinggi dan had pengesanan kurang dari 10 ng ml^{-1} dilaporkan [20]. Kaedah pengekstrakan berganda ini meningkatkan hasil pengekstrakan sebanyak 87%. Idowu pula menggunakan etilkloroformat sebagai pelarut, namun had pengesanan yang dilaporkan ialah 150 ng ml^{-1} sahaja [21].

Kaedah kromatografi gas(GC) dengan tahap kepekaan 5 ng ml^{-1} telah dibangun bagi penentuan klorokuina oleh Holtzman [22]. Fasa pegun yang digunakan adalah neopentilglukol suksinat (1%) diatas penyokong Gas-Chrom P(mesh 100/200). Masa penahanan adalah 8 minit [22]. Klorokuina adalah sebatian yang mempunyai kumpulan terminal amina primer, maka adalah sukar untuk dianalisis menggunakan GC. Justeru, sebatian itu perlu diterbitkan kepada eter mono- atau bis-trimetilsilil. Satu kaedah

kromatografi gas juga telah dilaporkan oleh Churchill *et.al* [23]. GC model Hewlett-Packard 5880A dengan pengesanan pemilih nitrogen ('*nitrogen selective detector*') diguna bagi analisis terbitan pentafloropropionil klorokuina tersebut. Had pengesanan bagi klorokuina melalui kaedah dibangun beliau adalah 5 ng ml⁻¹.

Analisis larutan tablet klorokuina mahupun metabolit klorokuina menggunakan kaedah kromatografi cecair prestasi tinggi (HPLC) mempunyai kelebihan ke atas kromatografi gas (GC). Kaedah GC memerlukan sampel yang stabil pada suhu tinggi dan meruap. HPLC fasa terbalik adalah kaedah yang paling popular dalam analisis klorokuina bagi farmaseutikal [24-31] mahupun dalam bidang farmasi klinikal [33-44]. Fasa gerak tipikal adalah pelarut berkutub seperti air dengan campuran pelarut seperti metanol [24] dan asetonitril [26,30]. Larutan penimbal seperti asid asetik [24] dan asid ortofosforik [25] ditambah bagi kawalan pH dalam medium asidik. Agen ion pasangan seperti trietilamina [24] dan ammonium format [27] membantu mengawal masa penahanan dan penambahbaikan puncak. Turus yang direka khusus bagi pemisahan sebatian alkali seperti C₁₈ Lichrosper amat baik bagi pemisahan klorokuina dalam sampel larutan [27].

Dalam gerak mod fasa terbalik, teknik elusi kecerunan sesuai diaplikasikan. Hill *et.al* menggunakan elusi kecerunan pelarut dimana kepekatan pelarut ditingkatkan dalam masa yang tertentu. Hasilnya, beliau memperoleh puncak yang lebih tajam berbanding dengan analisis tanpa perubahan kepekatan fasa pembawa [25]. Paci *et.al* melaporkan bahawa, peningkatan kadar alir seiring dengan kepekatan fasa pembawa berjaya memisahkan klorokuina dengan proguanil secara serentak [27]. Namun begitu, teknik

isokratik juga mampu memisahkan klorokuina, primakuina dan bulakuina [28] secara serentak dengan masa penahanan yang lebih cepat berbanding sistem dwi-kecerunan yang dilakukan oleh Paci *et.al* sebelum ini.

Bagi menentukan ketulenan sebatian, pemisahan campuran enantiomer adalah perlu kerana sesetengah enantiomer mempamerkan keaktifan farmokologi yang berbeza [32]. Enantiomer mempunyai sifat fizikal yang serupa tetapi resolusi optik yang berbeza. Tanda positif dan negatif membezakan putaran optikal sebatian. Pemisahan kedua isomer ini adalah penting bagi menjamin mutu dadah yang baru diformulasi. Kaedah pemisahan HPLC secara isokratik mampu mengasingkan enantiomer klorokuina menggunakan turus Progel-TSK Heparin-5PW (7.5 cm x 7.5 mm i.d). Heparin diguna sebagai agen pemisah kiral. Ciri anionik heparin meningkatkan kegerakan elektroforetik yang bertentangan dengan arus elektroosmotik [30].

Analisis klorokuina dan metabolitnya dalam sampel biologi yang dilapor diambil dari sampel darah [33,41], plasma [33,36,38,39,43], eritrosit [36], serum [34,39,41] dan urin [33,35,43]. Kesemua pemisahan HPLC bagi sampel biologi mengguna fasa terbalik. Teknik fasa terbalik sangat sesuai bagi analisis sampel yang kompleks. Had pengesanan klorokuina dalam sampel biologi kebanyakannya bernilai 5 ng ml⁻¹ sehingga 10 ng ml⁻¹. Brown melaporkan had pengesanan terendah iaitu 2 ng ml⁻¹ dalam sampel urin [44]. Namun masa penahanan ialah 18 minit. Sampel biologi tersebut perlu melalui proses pembersihan sampel terlebih dahulu. Hanya Jean *et.al* yang mengaplikasikan kaedah pengekstrakan fasa pepejal menggunakan katrij Bond Elut C₈ [36]. Nyata sekali

pengekstrakan fasa pepejal memudahkan analisis. Selain daripada itu, teknik emparan dalam pelarut organik adalah kelaziman para penyelidik dengan supernatan dari emparan itu kemudiannya disuntik ke dalam turus HPLC.

Penggunaan larutan piawai dalaman seperti papavarine hidroklorida [39], hidrosiklorokuina [40] dan 2,3-diaminophtalin [42] meningkatkan kejituan analisis. Larutan piawai dalaman mengurangkan kesan kehilangan jisim dari pencairan sampel dan perubahan dalam keadaan analisis. Seperti analisis larutan klorokuina, kehadiran ion lawan seperti perklorat [43] dan asid heptansulfonik [38] memberi isyarat puncak yang lebih tajam. Teknik elusi kecerunan kepekatan pelarut mampu memisahkan 24 sebatian dadah termasuk klorokuina dari serum pesakit yang menerima rawatan *rheumatoid arthristis* [35].

Pemisahan lebih dari satu sebatian memerlukan pengesanan puncak yang baik. Penggunaan spectrometer UV sinar diode (*Diode array UV spectrometre*) memberi kejituan puncak. Pengesan sinar diode digunakan oleh Pirkko [35] dan Tracqui [41] bagi analisis klorokuina dari sampel biologi. Bagi analisis klorokuina dalam sampel farmaseutik pula, Paci [27] dan Dwivedi [28] menggunakan pengesan UV sinar diode. Penyelidik yang lain menggunakan pengesan UV dengan jarak gelombang di antara 215 nm sehingga 343 nm

Kebelakangan ini, teknologi elektroforesis rerambut (CE) mula mendapat tempat di hati ahli kimia analisis. Berpandukan Jadual 1.1, kaedah ini menawarkan pengurangan kos

sebanyak 80 % dibanding dengan kaedah HPLC. Masa analisis menggunakan CE pula dapat dijimatkan. Teknologi elektroporesis rerambut mula mendapat tempat kerana pembangunan kaedah analisis yang singkat, kurang penjanaan bahan buangan organik dan kos operasi yang lebih rendah berbanding kaedah HPLC. Namun, kaedah elektroporesis rerambut memerlukan penyediaan sampel yang teliti serta kos penyelenggaraan peralatan yang lebih mahal.

Jadual 1.1. Perbandingan Masa Analisis dan Penilaian Kos Analisis Dadah Anti Malaria [45].

Kos dan masa analisis	Metodologi	HPLC	CE
Kos per analisis(US \$)	Turus	150-450	10-100
	Bil. Kegunaan	100-500	40-200
	Pelarut dan reagen	40-200	4.0-50
	Buangan pelarut	30-400	0.5-10
	Kos Total (per sampel)	2.0-5.0	0.5-1.0
Masa untuk analisis(min)	'Set-up' peralatan	30-60	15-45
	Penyediaan sampel	10-30	0-30
	Pengoperasian	15-30	10-60
	Total	55-120	30-120

Teknik pemisahan elektroforesis rerambut (CE) diguna oleh penyelidik bagi menentukan ketulenan formulasi tablet klorokuina [46,47] dan pemisahan enantiomer klorokuina [48-51]. Ng *et.al* menyuntik sampel larutan klorokuina secara hidrodinamik ke dalam medium penimbal fosfat pH 7.5. Medium pemisahan tersebut turut ditambah dengan 25 mM tampan borat dan 9 mM tetra ammonium bromida. Tetra ammonium bromida bertindak sebagai fasa pseudo pegun. Komplek klorokuinaborat dikesan menggunakan pengesan UV pada 240 nm [46]. Taylor pula memperkenalkan analisis sampel larutan klorokuina secara elektrokinetik ke dalam medium penimbal fosfat (pH 2) menggunakan asid fosforik. Had pengesanan dilapor ialah 150 ngml⁻¹ melalui pengesan UV pada 254 nm [47]. Pada tahun 1995, Taylor dan Reid membangunkan kaedah analisis klorokuina bagi sampel biologikal iaitu urin. Analisis suntikan elektrokinetik yang dibangun kurang sesuai berbanding kaedah kromatografi turus cecair fasa terbalik dari sudut kejituan analisis [52]. Walaupun begitu, pembangunan teknik elektroforesis rerambut adalah jauh lebih mudah.

Pemisahan elektroforesis enantiomer klorokuina berjaya dilakukan dengan penambahan agen pemilih kiral. Agen tersebut adalah seperti polisakarida neutral iaitu heparin [48], sulfobutyleter- β -siklodextrin [49], β -siklodextrin tersulfat [50] dan hidroksipropil- γ -siklodextrin [51]. Pemisahan enantiomer dilakukan dalam medium penimbal fosfat berasid. Pengesanan enantiomer dilakukan menggunakan pengesan UV dari jarak gelombang 200 nm sehingga 254 nm.

Pembangunan analisis klorokuina yang cepat dan jitu diperlukan terutama bagi kes kematian samada keracunan atau bunuh diri. Ini adalah kerana, klorokuina dengan julat (0.02 – 0.5mg l⁻¹) adalah penawar manakala julat (0.5 – 1.0mg l⁻¹) menjadi racun [53]. Thomas melaporkan analisis sampel darah, urin dan jus gastrik bagi mangsa keracunan klorokuina menggunakan kromatografi gas-spektroskopi jisim (GC-MS) [53]. Kaedah ini melibatkan langkah pembersihan yang kompleks. Masa penahanan 4.2 minit dilapor dari kuantiti sampel yang sedikit. Kaedah yang dibangun sesuai bagi kes kecemasan.

Analisis menggunakan teknik radioimmunocerakin (RIA) pula lebih menjurus dalam bidang farmakokinetik walaupun kaedah ini juga sesuai bagi analisis kuantitatif dadah. Kaedah RIA mampu memberi analisis yang sangat memilih dengan tahap kepekaan sehingga paras femtomol (10⁻¹⁵ mol). Sebagai contoh, had pengesanan klorokuina dalam cecair renal dan badan tikus yang dijalankan oleh Musabayane *et al* mencapai 0.5 femtomol⁻¹ [54]. Namun, kaedah RIA melibatkan penggunaan dan proses pelupusan bahan radioaktif.

Penggunaan spektroskopi penyerapan atom (AAS) telah dilapor oleh Alaa *et.al* untuk penentuan klorokuina dalam sampel tablet [55]. Walaupun had pengesanan bagi sampel tablet klorokuina dilapor adalah 0.155 mg, tetapi analisis ke atas klorokuina perlu melalui proses penggabungan ion klorokuina dengan sebatian [Cd²⁺,Co²⁺,Mn²⁺ dan Zn²⁺]thiosianida, ammonium reinekat dan sodium kobaltinitril.

Pembangunan kaedah kimia pendar cahaya yang diintegrasikan dengan analisis suntikan aliran memberi had pengesanan $8.6 \times 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$. Julat analisis dari 3.0×10^{-7} sehingga $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$. Pakuan sampel klorokuina ke dalam urin memberi purata peratus pemulihan sebanyak 102%. Pendar cahaya klorokuina yang berkesan diperoleh dari klorokuina dalam medium asid sulfurik-nitrit-hidrogen peroksida [14].

Kaedah elektrod pemilih ion (EPI) merupakan suatu pilihan analisis kuantitatif yang sangat menarik. Selain pembinaan membran elektrod yang pantas, pembangunan kaedah analisis yang lebih cepat dan mudah, peralatan terbabit mudah alih dan kos operasi yang murah [56]. Elektrod pemilih klorokuina yang dilaporkan, antaranya ialah membran elektrod yang mengandungi klorokuina-dinonilnafatalena sulfonat (DNNS) sebagai bahan elektroaktif dan 2-nitrofenil oktiletter sebagai bahan pemplastik oleh Cosofret *et.al* [57]. Sodium tetrafenilborat sebagai bahan elektroaktif dan trioktil fosfat sebagai bahan pemplastik telah dilaporkan oleh Saad *et.al* [58]. Namun kedua-dua membran tersebut diguna dalam analisis tablet klorokuina secara manual sahaja.

Keistimewaan penderia ion perlu dieksploitasi bagi tujuan pengautomasian. Bagaimanapun, binaan elektrod yang digunakan oleh mereka masih menggunakan larutan elektrolit dalaman. Walaupun elektrod membran cecair lebih peka terhadap sekitaran larutan berbanding elektrod keadaan pepejal, namun penggunaannya agak terbatas [59]. Biasanya, elektrod membran cecair tidak tahan suhu lebih dari 50°C untuk memastikan penukar ion dalam membran tidak mengalami larut resap ke dalam larutan uji [12]. Analisis tablet klorokuina telah dilaporkan oleh Hassan dan Ahmed

[12] melalui kaedah suntikan aliran. Penderia ini mempunyai kepekaan dan kejituan yang baik, namun jangka hayat penderia tidak dilapor.

1.4 POTENSIOMETRI

Elektrod pemilih ion mengukur keupayaan ion analit dengan menggunakan suatu membran yang mempunyai bahan elektroaktif di dalamnya. Penderia potensiometri bertindak terhadap perubahan daya gerak elektrik (d.g.e) dibawah arus sifar. Membran tersebut dijadikan memilih terhadap sesuatu ion dan keupayaannya bergantung dengan keaktifan ion tertentu. Maka, analisis terhadap suatu monoion atau dwiion dapat dilakukan. Skematik peralatan penderia potensiometri atau elektrod pemilih ion ditunjukkan pada Rajah 1.3.

Peralatan yang digunakan merangkumi elektrod pemilih ion, elektrod rujukan dan pengukur keupayaan meter milivolt. Bahan elektroaktif di dalam membran elektrod pemilih ion adalah samaada jenis neutral atau bercas. Hubungan di antara keaktifan ion dan keupayaan elektrod diberi oleh persamaan 1.1, iaitu Persamaan Nernst.

$$E = E^0 \pm \left(\frac{2.303RT}{nF} \right) \log a \quad (1.1)$$

yang mana,

E adalah kemampuan dalam unit milivolt (mV) yang dihasilkan diantara elektrod pemilih ion terhadap elektrod rujukan,

E^0 adalah kemampuan malar dicirikan oleh sesuatu pasangan EPI dan elektrod rujukan,

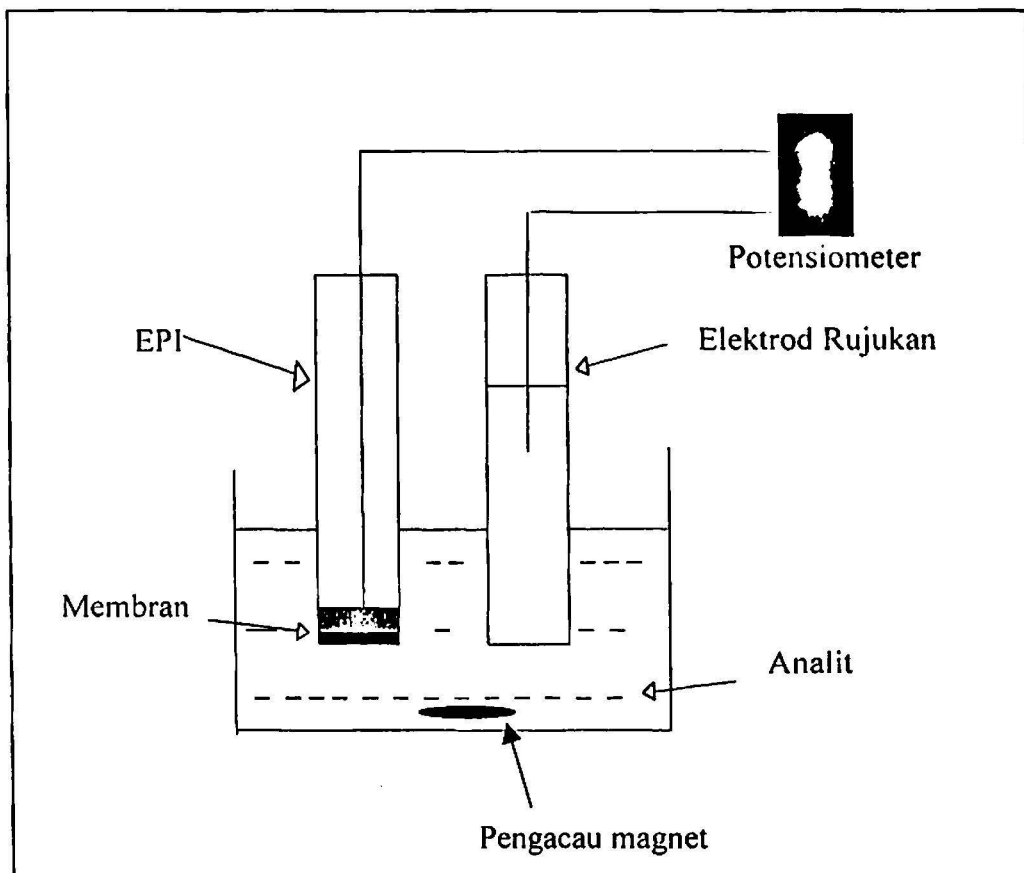
R adalah pemalar gas iaitu $8.314 \text{ J}^{-1} \text{ mol}^{-1}$,

T adalah suhu mutlak,

n adalah cas ion dengan tanda positif atau negatif,

F adalah pemalar Faraday iaitu 96,500 Coulumb dan

a adalah keaktifan ion diukur.



Rajah 1.3. Gambarajah skema sel elektrokimia bagi pengukuran potensiometri secara manual.

1.4.1. PEGGUNAAN EPI DALAM BIOPERUBATAN

Penggunaan elektrod pemilih ion(EPI) sebagai penderia kimia adalah luas. EPI adalah peralatan analisis rutin terutama dalam bidang kawalan proses, diagnostik klinikal dan penyelidikan sains alam sekitar. Analisis klinikal menggunakan EPI digunakan bagi memantau kandungan elektrolit badan (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , H^+ dan Cl^-) dan gas terlarut (P_{O_2} dan P_{CO_2}) dalam sampel darah, serum, plasma dan urin. Elektrod pemilih ion sesuai bagi analisis klinikal, kerana EPI mempunyai ciri kepilihan yang tinggi dan gerak balas elektrik pantas. Penderia klinikal kini, dilengkapi dengan sistem litar terkamir dalam saiz yang kecil. Rekabentuk katrij pakai buang EPI boleh mengurangkan kos analisis sampel klinikal. Pasaran EPI dalam bidang analisis *in vivo* klinikal di Amerika Syarikat mencecah 800 juta dolar setahun [61], mengatasi permintaan EPI dalam bidang analisis persekitaran dan kawalan proses. Kecemerlangan EPI dalam analisis klinikal adalah kerana ia mampu memberi keputusan secara spontan dan kos penyelenggaraan peralatan yang kurang.

Fabrikasi elektrod mikro potensiometri dan aplikasinya secara *in vivo* perlu mematuhi dua syarat. Pertama, penderia tersebut mesti mesra bio, iaitu memberi kesan yang minima terhadap persekitaran *in vivo*. Kedua, persekitaran *in vivo* tidak mengugat ciri elektrokimia EPI. Fenomena seperti penjerapan protein, pelekatan di atas permukaan penderia, penggelembungan membran dan pembentukan sel fibrius perlu diambil perhatian.

Disebalik kesesuaian EPI untuk mengesan pelbagai jenis ion, EPI yang kebanyakannya dibina menggunakan membran polimer poli vinilklorida (PVC), mempunyai beberapa kelemahan. Apabila membran PVC diaplikasikan kepada sampel bioperubatan seperti darah, plasma, urin dan organ dalaman dalam jangka masa lebih dari dua minggu, terdapat kesan penjerapan protein di permukaan membran [62]. Selain itu, membran PVC senang tanggal dari permukaan prob penderia. Pemplastik yang digunakan dalam fabrikasi membran dilapor mengalami larut resap ke dalam analit. Larut resap pemplastik mengakibatkan kesan penggelembungan membran. Kerosakan membran dapat diatasi dengan pelbagai strategi. Strategi tersebut diantaranya ialah, pengubahsuaian bahan matriks membran penderia, pemberian dadah (contohnya heparin) bagi mengurangkan kesan penggelembungan, optimasi topografi permukaan penderia dan saiz elektrod mini.

Cadangan penggunaan poliuretana (PU) sebagai alternatif matriks EPI telah berlaku lebih 2 dekad lalu. Namun penggunaan PU adalah pada tahap eksperimental sahaja. Cha et. al mengkaji penggunaan poliuretana alifatik ("Tocoplex") dan getah silikon (polidimetilsiloksana) dan membandingkan penggunaan matriks ini dengan matriks PVC [63]. Nyata sekali kedua-dua bahan alternatif tersebut mengurangkan pelekatan protein pada membran EPI. Pemerhatian ini dilakukan melalui ujian pelekatan protein menggunakan pengesan radio surihan ('*radiotracer*'). Keluasan pelekatan protein pada permukaan PVC terhidrat ialah 0.65 pmolcm^{-2} manakala bagi matriks poliuretana ialah 0.40 pmolcm^{-2} dan matrix getah silikon pula adalah 0.35 pmolcm^{-2} . Kesan pelekatan protein didapati sangat kurang pada permukaan getah silikon polidimetilsiloksana.

Membran poliuretana dan getah silikon mempunyai ciri perlekatan ke atas permukaan silikon nitrida yang lebih baik dari PVC. Namun dengan penambahan silikon tetraklorida semasa fabrikasi membran PVC, ia mampu meningkatkan daya lekatan membran [63].

Lindner *et. al* telah membuat pemerhatian terhadap kesan pengurangan kandungan pempplastik pada membran EPI berasaskan poliurethane (Tocoplex). Kesan ini berkait dengan pengurangan kesan penggelembungan bagi membran yang disusuk di bawah kulit [64]. Cecilia *et.al* pula melaporkan pembinaan membran EPI intraarteri ("*intraarterial*") bagi pesakit kardiovaskular menggunakan PU Tocoplex yang dilapisi dengan poli(etilina oksida), PEO. Hasil dari mikrograf pengimbasan elektron, gabungan kedua bahan ini didapati boleh mengurangkan kesan pelekatan platlet darah pada permukaan membran. Keputusan gerakbalas potensiometri ion lebih kurang sama dengan membran yang dibina dari PVC dan Tocoplex sahaja [64]. Jelas bahawa, penggunaan polyuretana mampu mengatasi masalah kerosakan bio.

Selain daripada kesan pelekatan potein, keupayaan daya lekatan membran pada permukaan cip atau prob elektrod juga menjadi syarat penting bagi penderia. Bahan getah silikon mempunyai daya lekatan pada elektrod fabrikasi planar seperti cip. Silikon tervulkan suhu bilik ("*RTV silicone rubber*") mempamerkan jangka hayat lebih dari 3 minggu berbanding dengan matriks PVC [65]. Membran floropolisiloksana yang bebas pempplastik menunjukkan kesan perlekatan yang lebih baik dari PVC dengan jangka hayat membran menjangkau 3 bulan [66].

Heng dan Hall menyediakan penderia ion Na^+ dan K^+ dari polimer n-butylakrilat tanpa pemplastik. Namun, pendedahan penderia di dalam sampel darah memberi anjakan keupayaan tetapi boleh diguna semula apabila penderia direndam selama 12 jam di dalam larutan 0.1 M NaCl [67].

Heparin merupakan bahan kimia yang disuntik ke dalam saluran darah bagi analisis elektrod secara *in vivo*. Heparin adalah polisakarida linear yang mempunyai keaktifan antibeku (sebagai mangkin dalam pengikatan trombin dan antitrombin yang mencegah penukaran fibrinogen kepada fibrin) [68]. Kaedah ini mudah kerana tidak perlu melakukan pengubahsuaian terhadap membran elektrod tetapi kurang baik bagi pesakit. Seterusnya, pesakit perlu menjalani rawatan heparin. Jika tidak, heparin akan mengakibatkan kesan komplikasi terhadap kesihatan pesakit. Justeru itu, heparin telah ditemplat pada pelbagai permukaan biomaterial seperti poliuretana, polisterina, polipropilin dan blok kopolimer poli(dimetilsiloksana)-poli(etilin oksida) bagi meningkatkan kesan mesra bio semasa implantasi elektrod *in vivo*.

Brooks *et al* telah melaporkan penderia yang menggunakan PVC yang mana di atasnya diselaputi dengan lapisan sellulosa triasetat (CTA). Heparin diikat secara kovalen pada CTA kerana, PVC tidak boleh berikatan dengan heparin. Kepekaan membran yang diperoleh ialah 52 mV dekad⁻¹ terhadap ion kalium dengan julat linear yang pendek iaitu 1×10^{-4} M sehingga 1×10^{-2} M sahaja. Pelekatan protein dikaji menggunakan faktor

perencanaan koagulasi darah, Xa [68]. Melalui pemerhatian beliau, membran tersebut mempunyai ciri mesra bio.

Kaedah sol gel telah menarik minat penyelidik merekabentuk membran EPI menggunakan bahan takorganik dan komposit organik-takorganik sebagai satu alternatif matriks membran EPI. Bahan sol gel mempunyai kestabilan fizikal yang tinggi dan lengai secara kimia [69]. Berbanding dengan penggunaan bahan polimer, proses sol gel menawarkan fleksibiliti dari segi kepelbagaian bahan yang dihasilkan. Proses sol gel menawarkan kaedah yang lebih mudah bagi pemegunan reagen di dalam hos yang stabil. Pemerangkapan molekul bio di dalam matriks sol gel turut diaplikasi sebagai penderia.

Kimura *et. al* telah membangunkan membran EPI bagi ion Na^+ dan ion K^+ berasaskan matriks sol gel. Mereka mencampurkan dietoksisilana (DEDMS) dan tetraetoksisilana (TEOS) dalam nisbah DEDMS:TEOS, 1:3. Bis (eter mahkota) digunakan sebagai bahan elektroaktif bagi membran Na^+ dan valinomisin bagi membran K^+ . Penggunaan politiofin sebagai elektrolit pepejal dalaman membantu meningkatkan had pengesanan dan kestabilan. Namun, julat linear yang diperolehi tidak begitu luas iaitu sekitar 1×10^{-4} M sehingga 1×10^{-1} M sahaja. Ketebalan membran adalah $100 \mu\text{m}$. Prestasi elektrokimia membran sol gel dipengaruhi oleh ketebalan membran. Ciri trombogenik membran diperhati melalui mikrograf pengimbasan elektron. Permukaan membran sol gel menunjukkan 99% pengurangan pelekatan platelet darah berbanding matriks PVC.