

OTIMIZAÇÃO DE MATRIZES DE BIOMATERIAIS COMPÓSITOS UTILIZADOS NA ODONTOLOGIA ATRAVÉS DO ESTUDO DE HPLC¹

Hendrika Manuella Boonen von Randow de Mattos²
Raúl Ernesto López Palacio³

Resumo

A Cromatografia Líquida de Alta Performance (CLAP/HPLC) apresenta-se como uma técnica especialmente usada no estudo, na identificação e na quantificação dos polímeros e dos monômeros. Esta técnica permite o estudo de diferentes monômeros na composição, uma vez que os resultados são oferecidos no formulário separados de cada dos componentes de uma mistura, na função das características do espectro UV de absorção e do tempo de drenagem do solvente. O trabalho visa o estudo cinético de um sistema monomérico, na maneira da aquisição da tecnologia para a realização de biomateriais compostos usados na odontologia. Desta maneira, o estudo foi dirigido na determinação das condições do trabalho do HPLC. Foram estudados a longitude de onda de absorção dos monômeros e o tempo da retenção. As amostras usadas eram soluções dos monômeros no solvente escolhido: acetonitrila. As amostras foram preparadas em concentrações de 0,1, 0,01 e 0,001. Os espectros tinham mostrado que toda a absorção dos reagentes estava compreendida entre 200 e 300nm, deixando uma janela do trabalho para cada dos componentes. Os resultados sugeriram que 15 minutos eram suficientes para retenção.

Palavras-chave: Biomateriais; HPLC; Monômeros.

OPTIMIZATION OF THE DENTAL COMPOSITE MONOMERIC FORMULATION. HPLC STUDY

Abstract

The high pressure liquid chromatography (HPLC) presents as one especially interesting technique used on the study, identification and quantification of polymers and monomers. This technique permits the study of different monomers composition because the results are offered of the separate form of each one of the one mixture components, in function of the characteristics of the absorption UV spectrum and the time of draining of the solvent. The present work is inserted on the scientific initiation project that aims at the kinetic study of a monomeric system, on the way of acquisition of the technology for the attainment of dental composite biomateriais. In this way, the work was directed on the determination of the HPLC work conditions. The studied were the monomers wave longitude of absorption and the retention time. The samples used were solutions of the monomers components on acetonitrile solvent. The samples prepared were 0.1, 0.01 and 0.001 monomer concentration. The gotten specters had shown that all the reagents present absorption raised in the 200-300nm zone, leaving a window of work for each one of the components. The results suggested that 15 minutes was the sufficient retention time.

Key words: Biomaterials; HPLC; Monomers.

¹ *Contribuição técnica ao 62º Congresso Anual da ABM – Internacional, 23 a 27 de julho de 2007, Vitória – ES, Brasil.*

² *Estudante do 9º período de Engenharia Metalúrgica e de Materiais na Universidade Estadual do Norte Fluminense; Bolsista do CNPq. hendrikaboonen@gmail.com*

³ *Professor e Orientador na Universidade Estadual do Norte Fluminense. relp@uenf.br*

1 INTRODUÇÃO

Os materiais poliméricos são utilizados desde há várias décadas em distintas aplicações na odontologia moderna, chegando a ser indispensáveis para lograr uma alta qualidade nos serviços. Entre estes materiais poliméricos encontram-se os destinados a obturações dentares, geralmente formulados a base de monômeros acrílicos e uma carga de material inorgânico. Este tipo de biomaterial é conhecido como resinas compostas ou simplesmente compósitos.^[1] Os biomateriais são substâncias sintéticas ou naturais utilizadas para substituir partes do organismo humano ou para funcionar em contato íntimo com tecidos vivos.

Do ponto de vista formal, um biomaterial pode ser definido como sendo uma substância ou combinação de substâncias, de natureza sintética ou natural, que pode ser utilizado por um período de tempo, para melhorar, aumentar ou substituir, parcial ou inteiramente tecidos ou órgãos.^[1]

O êxito de um biomaterial no corpo depende de vários fatores, podendo-se destacar:

- propriedades físicas, químicas, biológicas e mecânicas do material;
- desenho do dispositivo implantado.

Em muitas aplicações médicas utilizam-se materiais conjugados ou compósitos, nos quais se incluem partículas ou fibras tenazes numa matriz polimérica, com o objetivo de aumentar a dureza, a resistência mecânica, o tempo de fadiga, e outras propriedades. Sendo o comportamento mecânico a principal desvantagem ao serem comparados ao desempenho das amalgamas e demais materiais metálicos utilizados na odontologia. Contudo, características como estética, baixa toxicidade e proteção do tecido dentário fortalecem a teoria que considera os biomateriais compostos como os substitutos naturais de todos os “metais odontológicos”.

Nos últimos anos, o desenvolvimento de novos materiais para a odontologia não pode ser considerado marcante, se comparamos esse parâmetro com os inumeráveis esforços que estão sendo realizados no campo do melhoramento dos materiais já existentes. Especial destaque para os trabalhos apontados no desenvolvimento de novas formulações de compósitos dentários a serem usados como obturantes e braquetes ortodônticas.

Nesse sentido, a caracterização da matriz monomérica adquire uma especial importância e se apresenta como um dos caminhos a serem seguidos na obtenção de biomateriais compósitos mecanicamente mais eficientes. O estudo e otimização de parâmetros como composição, porcentagem da polimerização e a quantidade de monômero residual possibilitarão a aquisição da tecnologia de obtenção de polímeros termofixos a serem utilizadas na obtenção de biomateriais cada vez mais eficientes.

Embora os biomateriais compósitos sejam amplamente utilizados e pesquisados a nível internacional, a experiência brasileira se limita a aplicação dos materiais importados, impedindo o desenvolvimento brasileiro nessa lucrativa área da ciência.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Embora possa ser corretamente apontada como uma das técnicas de análise de menor complexidade, é preciso adquirir experiência e conhecimento para o correto manuseio do equipamento. Nesse sentido a primeira fase de esta etapa foi dirigida na aquisição do conhecimento e habilidades necessárias para o trabalho com o equipamento. A realização do cromatograma e do espectro de absorção das substâncias puras e das misturas se apresentam como as tarefas conclusivas desta primeira fase do projeto assim descrito:

- Interação com o equipamento de HPLC (LaChrom – Merk Hitachi) por meio de seus manuais.^(2,3)

- Estreitamento da relação com o método de HPLC por meio de livros dirigidos ao assunto.^(4,5)

Dessa forma elaborei um pequeno manual para as operações básicas do aparelho de HPLC para posteriores operadores.

2.1 Reagentes

Na formulação da fase monomérica foram utilizados os seguintes reagentes:

Tabela 1. Reagentes.

2-(dimetilamino)etil metacrilato	Acelerador	DAEM	Sigma
Dimetacrilato de TrietileneGlicol	Solvente	DMTTEG	Sigma
Camforquinona	Iniciador	HCl	Fluka
1-fenil-propano diona	Iniciador	FPD	Fluka

2.2 Metodologia para a Otimização dos Parâmetros para a Detecção por UV dos Reagentes

A etapa de obtenção dos parâmetros para a realização dos cromatogramas consistiu em:

1- Na realização dos ensaios de solubilidade, para a determinação da fase móbil a ser utilizada, foram adicionadas várias gotas dos reagentes num volumétrico com 10 ml de solvente. A seleção dos solventes está relacionada com as características da coluna a ser utilizada no ensaio cromatográfico, como resultado os solventes utilizados foram a acetona e a acetonitrila.

2- Determinação da região de absorção dos reagentes de interesse. Após a seleção do solvente, as soluções preparadas foram utilizadas para a determinação do espectro de absorção na região da radiação ultravioleta, pois o detector do HPLC existente no laboratório é sensível nessa região. O espectrofotômetro utilizado foi o existente no laboratório do LCQUI do CCT.

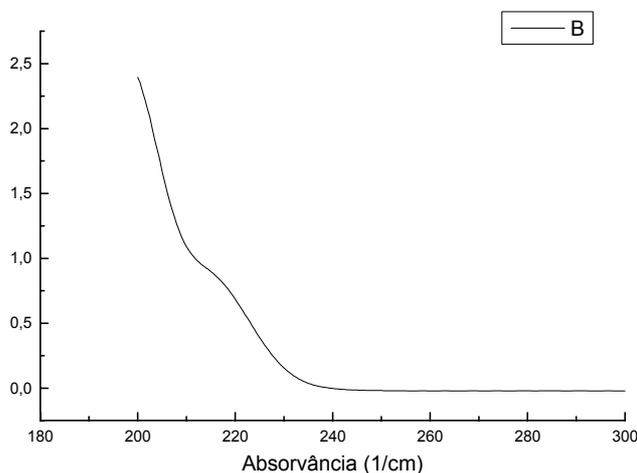
3 RESULTADOS

3.1 Ensaio de Solubilidade

Os ensaios realizados com todos os reagentes permitiram afirmar que todos são solúveis tanto em acetona como em acetonitrila. Nesta etapa foram obtidas soluções homogêneas de concentrações diferentes. Dessa forma para a seleção do solvente passou-se a utilizar critérios mais técnicos, para o qual foram consultadas as recomendações apontadas no catálogo do equipamento. Dito isso, o solvente selecionado foi a acetonitrila.

3.2. Determinação da Região de Absorção dos Reagentes de Interesse

Utilizando as soluções resultantes do estudo anterior, passou-se à etapa de determinação dos espectros ultravioleta dos reagentes pelo espectrofotômetro e obtivemos as curvas de absorção. Na Figura 1 apresenta-se o espectro de absorção da acetonitrila na região ultravioleta.

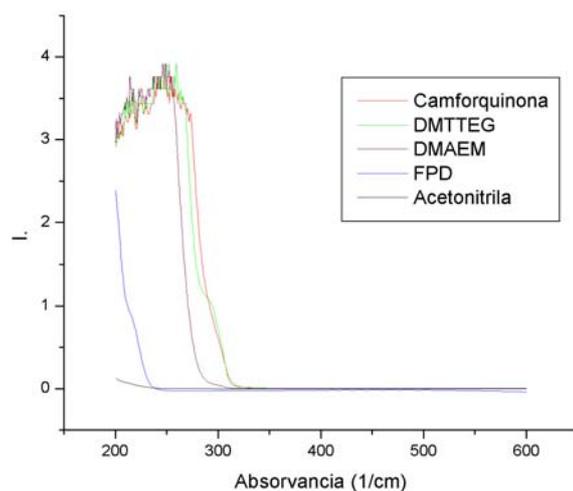


Fonte: Espectrofotômetro do LCQUI/UENF.

Figura 1: Faixa de absorção da acetonitrila

A interpretação do espectro demonstra a acetonitrila não absorve a radiação no intervalo de 600 até 270. Esse resultado permite afirmar que a acetonitrila apresenta-se como um solvente ideal para o estudo cromatográfico, com detector UV, de amostras que absorvam na região acima dos 260 cm^{-1} . Dessa forma, para evitar a interferência do solvente nos estudos determinou-se os 260 cm^{-1} como o limite inferior de trabalho do detector UV.

Na Figura 2 apresentam-se os espectros de absorção dos diferentes reagentes em estudo.



Fonte: Espectrofotômetro do LCQUI/UENF.

Figura 2: Comparativo das faixas de absorção dos reagentes e do solvente.

Dessa forma, sabemos as zonas de absorção dos reagentes em questão que apresentam-se na Tabela 2. A partir daí injetamos as amostras preparadas no HPLC e obtemos os picos de absorção característicos, tempo de escoamento, relação concentração/intensidade, grau de polimerização, quantidade de polímero resultante, substância limitante, mecanismo de reação entre outros se apresentam como os de maior importância no estudo do processo de polimerização e de otimização da formulação monomérica a ser utilizada em compósitos odontológicos. Para a injeção de amostras no HPLC, primeiramente temos que purgá-lo, ou seja, certificar-nos de que não há bolhas de ar ou alguma contaminação no equipamento. Este procedimento deve ser feito sempre antes das operações.

Tabela 2. Zonas de Absorção.

Componete	Faixa de absorção
2-(dimetilamino)etil metacrilato	200 até 300 nm
3-(trimetoxilil)propil metacrilato	200 até 315 nm
Dimetacrilato de Trietilene Glicol	200 até 305 nm
Camforquinona	220 até 320 nm
1-fenil-propano diona	240 até 360 nm
Acetonitrila (solvente)	200 até 239 nm

A primeira tentativa de obter os espectros dos reagentes não apresentou o resultado esperado: o equipamento utilizado mostrou intensidades negativas e outras aberrações. As causas mais prováveis seriam a polimerização dos monômeros, pois estes são muito sensíveis a luz, e podem ter sido expostos de maneira no transporte até o laboratório LCQUI, ou algum problema operacional ou técnico do equipamento utilizado. No entanto não houveram mais problemas quando insistimos com outros reagentes, acrescentados posteriormente no plano, obtivemos assim, espectros aceitáveis e caracterizados pelas curvas mostradas na Figura 2.

4 CONCLUSÃO

As zonas de absorção do espectro UV dos reagentes listados, são parecidas e curtas. Apesar disso teremos uma faixa suficiente de trabalho com o solvente, uma vez a acetonitrila absorve de 200 a 239 nm e os reagentes apresentam uma faixa disponível após os 239 nm. Dessa forma escolheremos um comprimento de onda de 240 a 305 nm para que possamos abranger todos os alcances dos reagentes, fugir da zona de absorção do solvente e padronizar os cromatogramas em um só comprimento.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Prof. Rubén Jesus Sanchez Rodrigues pelo apoio no estudo do equipamento, ao CNPq pela bolsa concedida e a FAPERJ pelo apoio financeiro nas pesquisas desenvolvidas no laboratório.

REFERÊNCIAS

- 1 BARBOSA, Luiz Cláudio de Almeida. *Introdução à Química Orgânica*. Ed. UFV, 2004, São Paulo.
- 2 HITACHI, *Instruction Manual (Model L-7100 Pump)*, HITACHI, 1994, Japão.
- 3 HITACHI, *Instruction Manual (Model L-7400 UV Detector)*, HITACHI, 1994, Japão.
- 4 QUATTROCCHI, Oscar Alberto; ANDRIZZI, Sara Albelaira; LABA, Raúl Felipe. *Introducción a la HPLC – Aplicación y Práctica*. Ed. MERCK, 1992, Buenos Aires (Argentina).
- 5 PASCH, Harald; TRATHNIGG, Bernd. *HPLC of Polimers*. Ed. Springer, 1998, Alemanha.
- 6 LÓPEZ PALACIO, R. E. *DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: Otimização da formulação e avaliação físico-mecânica de biomateriais compósitos para obturações odontológicas*. DEMA, FEM, UNICAMP.--Campinas, SP: [s.n.], BAE I881o, 1998.
- 7 LÓPEZ PALACIO, R. E. *TESE DE DOUTORADO : Biomateriais compósitos de alto desempenho para à odontologia- Obtenção e caracterização físico mecânica e biológica*. DEMA, FEM, UNICAMP.--Campinas, SP: [s.n.], BAE L881bc, 2003.