

MODELO DE CALIBRAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE METILMETACRILATO EM SOLUÇÃO AQUOSA UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO ULTRAVIOLETA

Albano Porto da Cunha Jr.* e Vicente de Paula Prisco da Cunha

Faculdades de Ciências da Saúde, Universidade do Vale do Paraíba, Av. Shishima Hifumi, 2911, 12244-000 São José dos Campos - SP

Landulfo Silveira Jr. e Aírton Abrahão Martin

Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, Av. Shishima Hifumi, 2911, 12244-000 São José dos Campos - SP

Recebido em 9/1/03; aceito em 7/4/03

CALIBRATION MODEL OF METHYLMETACRYLATE CONCENTRATION IN AQUEOUS SOLUTION USING ULTRAVIOLET ABSORPTION SPECTROSCOPY. Dilutions of methylmetacrylate ranging between 1 and 50 ppm were obtained from a stock solution of 1 ml of monomer in 100 ml of deionised water, and were analyzed by an absorption spectrophotometer in the UV-visible. Absorbance values were used to develop a calibration model based on the PLS, with the aim to determine new sample concentrations. The number of latent variables used was 6, with the standard errors of calibration and prediction found to be 0,048 ml/100 ml and 0,058 ml/100 ml. The calibration model was successfully used to calculate the concentration of monomer released in water, where complete dentures were kept for one hour after polymerization.

Keywords: methylmetacrylate; ultraviolet absorption spectroscopy; partial least squares.

INTRODUÇÃO

O metilmetacrilato (MMA), comumente denominado monômero, é um líquido incolor componente do sistema pó:líquido das resinas acrílicas de uso odontológico. Estas resinas acrílicas são utilizadas em uma série de procedimentos odontológicos e também médicos, dentre os quais cimento ósseo, reparos e reembasamentos de próteses e aparelhos ortodônticos^{1,2}, confecção de bases para próteses totais, próteses oculares, faciais e cranianas³, lentes de contato⁴, guia cirúrgico em próteses imediatas⁵, moldeiras e coroas provisórias⁶. Como o processo de polimerização raramente é completo, quantidades variadas de MMA residual estarão presentes dos dispositivos confeccionados^{2,4,7,8}, tendo como principais conseqüências reações alérgicas na pele e mucosa e alterações nas propriedades físicas das resinas, como o aumento da contração volumétrica, diminuição da resistência e aumento da porosidade, dentre outras^{2,8}.

A diminuição do MMA residual nos dispositivos confeccionados ocorre por difusão do monômero para a saliva¹ e polimerização adicional, onde moléculas de MMA se unem aos radicais livres presentes, aumentando o entrelaçamento da cadeia polimérica⁹.

Dentre os métodos de análise do MMA residual pode-se citar técnicas químicas (reagentes)⁹, cromatografia a gás (GLC)¹⁰, cromatografia de alta resolução (HPLC)⁷, espectroscopia de absorção no ultravioleta e espectroscopia Raman^{1,4}.

Alguns trabalhos demonstraram o uso da espectroscopia de absorção no ultravioleta (EAUUV) para a quantificação de MMA liberado em solução aquosa, sendo que o espectro de absorção do MMA apresenta uma banda intensa em 210 nm¹, o que a torna interessante para a aplicação de um modelo de regressão univariado. Entretanto, a análise das intensidades dos picos de absorção em um modelo univariado apresenta a desvantagem de que a maior parte da informação espectral é desprezada. O desenvolvimento de um modelo

baseado na técnica multivariada PLS ("Partial Least Square") permite utilizar toda a informação espectral disponível, melhorando a previsão, já que variações podem ocorrer não somente no pico, mas também em larguras de banda, por exemplo.

O método PLS é consideravelmente eficiente para lidar com ruídos experimentais, colinearidades e não linearidades nos dados. Todas as variáveis relevantes são incluídas no modelo, o que implica que a calibração pode ser realizada eficientemente mesmo na presença de interferentes (ruído, por exemplo), não havendo necessidade do conhecimento do número e natureza dos mesmos. Os métodos são robustos pois seus parâmetros praticamente não se alteram com a inclusão de novas amostras no conjunto de calibração. Desta forma, o método PLS tem se tornado uma ferramenta extremamente útil em muitos campos da química e engenharia¹¹.

A base fundamental do método PLS é a PCA ("Principal Component Analysis"), que consiste em uma manipulação da matriz de dados visando representar as variações presentes em muitas variáveis, através de um número menor de fatores. Constrói-se um novo sistema de eixos (denominados componentes principais, variáveis latentes ou ainda autovetores) para representar as amostras, no qual a natureza multivariada dos dados pode ser visualizada em poucas dimensões¹¹.

A PLS usa a informação das concentrações na obtenção dos fatores. O primeiro fator, chamado de variável latente, descreve a direção de máxima variância que também se correlaciona com a concentração. Estas variáveis latentes são, na realidade, combinações lineares das componentes principais calculadas pelo método PCA¹¹.

Neste trabalho, espectros de absorção no UV foram obtidos de diluições seriadas de MMA, na faixa de 1 a 50 ppm, preparadas a partir de uma solução estoque com o intuito de construir um modelo de Regressão PLS, visando a aplicação do modelo em um caso real. Foram obtidos os espectros das soluções aquosas em que ficaram imersas por 1 h próteses totais polimerizadas por ciclo longo e discos confeccionados com resina acrílica ativada quimicamente (RAAQ). Os dados espectrais foram inseridos no modelo de

*e-mail: alcunhajr@ig.com.br

calibração preestabelecido, e a quantidade de MMA calculada foi relacionada com o tipo de procedimento adotado na confecção das próteses e discos de resina.

PARTE EXPERIMENTAL

No preparo da solução estoque, 1 ml de MMA foi adicionado em um balão volumétrico e este completado com 100 ml de água deionizada (DI). Esta solução permaneceu hermeticamente fechada por oito dias, sendo que após este período 45 amostras foram preparadas com concentrações entre 0,0001 e 0,005%, pipetando-se quantidades específicas da solução estoque em 100 ml de água DI. No preparo destas amostras foram utilizados quatro balões volumétricos, cuidadosamente enxaguados a cada preparo, e as ponteiras plásticas da pipeta foram trocadas a cada manipulação. Estas amostras, assim como a água DI utilizada e a solução estoque foram armazenadas em tubos de ensaios hermeticamente fechados para a análise espectroscópica.

Para a obtenção dos espectros utilizou-se o espectrofotômetro Cary 100 (Varian Inc., Walnut Creek, CA) da Quimlab- Química e Metrologia, com varredura na faixa entre 195 e 350 nm, e duas cubetas de quartzo (Hellma Cells, Plainview, NY) com 10 mm de caminho óptico. O espectrofotômetro trabalha com feixe duplo, de forma que a cubeta com a amostra é comparada com a cubeta com água, para que a correção de linha de base (“baseline”) seja possível. Para as análises das 45 amostras somente a cubeta com a solução foi removida do equipamento. Após a análise, os dados referentes a cada espectro foram armazenados no formato texto.

Três amostras foram eliminadas da análise, devido à grande discrepância entre a intensidade do pico de absorção e a concentração.

Com os valores das concentrações conhecidas das amostras e as intensidades do pico de absorção, foi construído um modelo de calibração univariado. Para tal, uma equação de reta baseada no método de mínimos quadrados foi calculada a partir dos valores de absorvância (variável independente) e concentração (variável dependente). Foi também construído um modelo de calibração multivariado, baseado na técnica PLS. No software Matlab® (The Mathworks, MA, USA, versão 4.2), os dados de absorvância e concentração foram considerados como variáveis independentes e dependentes, respectivamente, e através da função $[p,q,w,t,u,b] = pls(x,y,lv,1)$ construiu-se o modelo PLS, onde os parâmetros de entrada são x : valores de absorvância, y : valores de concentrações, lv : número de variáveis latentes determinado pelo usuário. Para determinar o valor da concentração prevista pelo modelo de Regressão PLS das amostras utilizadas na construção do modelo, os espectros de absorvância destas amostras foram consideradas como entrada na função $ypred = pls(pred(x,b,p,q,w,lv))$, onde x : espectros de absorvância e lv : número de variáveis latentes. Esta função calcula o valor previsto da concentração de uma amostra em função dos parâmetros do modelo. O número de variáveis latentes foi estabelecido entre 1 a 10, visando especificar o melhor valor a ser adotado. Foram plotados gráficos com os valores das concentrações conhecidas e as previstas pelo modelo PLS, assim como o gráfico com os valores do erro padrão de calibração (SEC - “standard error of calibration”).

O SEC tem a função de avaliar o quanto o modelo PLS é capaz de prever concentrações a partir dos dados utilizados na construção do modelo. Um procedimento de validação do modelo foi realizado utilizando amostras com concentrações conhecidas, mas que não foram utilizadas na construção do mesmo. Para tanto, 9 soluções de MMA obtidas a partir da solução estoque foram analisadas pelo espectrofotômetro, e os valores de absorvância utilizados como novas entradas (x) na função $ypred = pls(pred(x,b,p,q,w,lv))$ sendo o número de variáveis latentes utilizadas de 1 a 10. Assim, foi calcula-

do o erro padrão de previsão (SEP - “standard error of prediction”) que tem como objetivo determinar um número ótimo de variáveis latentes a serem utilizadas na previsão da concentração de novas amostras, bastando para isto encontrar o seu menor valor.

Com a finalidade de determinar as concentrações desconhecidas de MMA em dispositivos confeccionados com resinas acrílicas via modelo de calibração PLS implementado, 2 grupos de amostras foram preparados.

No primeiro grupo, foram processadas 4 próteses totais utilizando a polimerização por ciclo longo. Logo após a demuflagem, 3 próteses foram mantidas em 100 ml de água DI por aproximadamente 1 h, e uma recebeu o acabamento e polimento antes de permanecer na água pelo mesmo período. A água de cada uma das amostras foi armazenada em tubos de ensaio para análise posterior.

No segundo grupo, foram confeccionados 2 discos com 10 mm x 5 mm de resina acrílica ativada quimicamente sendo que, no primeiro, a polimerização ocorreu sob pressão de aproximadamente 60 lb/pol² por 15 min (D1) e no segundo, a polimerização ocorreu em pressão atmosférica (D2). Após a polimerização, manteve-se os discos separados em balões volumétricos com 100 ml de água DI e hermeticamente fechados por 1, 5 e 8 h, sendo a água trocada a cada período e analisada pelo espectrofotômetro UV.

Com os espectros de absorvância das soluções das próteses totais e dos discos D1 e D2, determinou-se o valor da concentração prevista pelo modelo (y -pred). Para tanto, estes valores foram considerados novos valores de x na função $ypred = pls(pred(x,b,p,q,w,lv))$.

RESULTADOS

Utilizando a técnica de EAUV foi observado que o MMA apresenta um pico de absorção muito forte em aproximadamente 200 nm, correspondente a banda C=C. O espectro de absorção da solução estoque de MMA é demonstrado na Figura 1a. Este espectro apresenta saturação na banda em 200 nm devido a alta concentração de MMA. O espectro da solução estoque diluída em água DI na proporção de 0,15 ml/100 ml, respectivamente (0,0015%) é apresentado na Figura 1b.

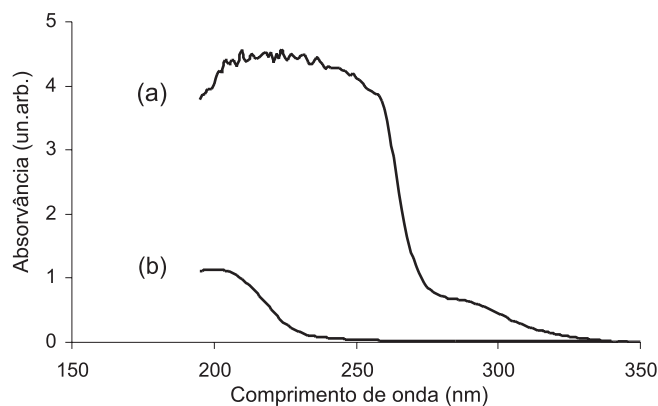


Figura 1. Espectros de absorção no ultravioleta de MMA: (a) solução estoque (1 ml MMA/100 ml água DI); (b) solução estoque diluída em água DI (0,15 ml solução estoque/100 ml água DI – 0,0015%)

O modelo de calibração univariado, construído utilizando a intensidade do pico de absorvância em cada concentração, é demonstrado na Figura 2a. Este modelo segue uma equação linear, em que a relação entre a concentração real e a prevista foi determinada como sendo $y = 4,65x$, onde x é a concentração e y é a absorvância. O SEC calculado para o mesmo foi de 0,060 ml/100 ml.

Os modelos de calibração multivariados obtidos a partir dos espectros de absorção utilizando 1, 6 e 10 variáveis latentes são demonstrados na Figura 2b, 2c e 2d, respectivamente. Pode-se observar que, com um número maior de variáveis latentes, obtém-se uma maior linearidade e uma correlação mais alta (observado pelos valores de r^2).

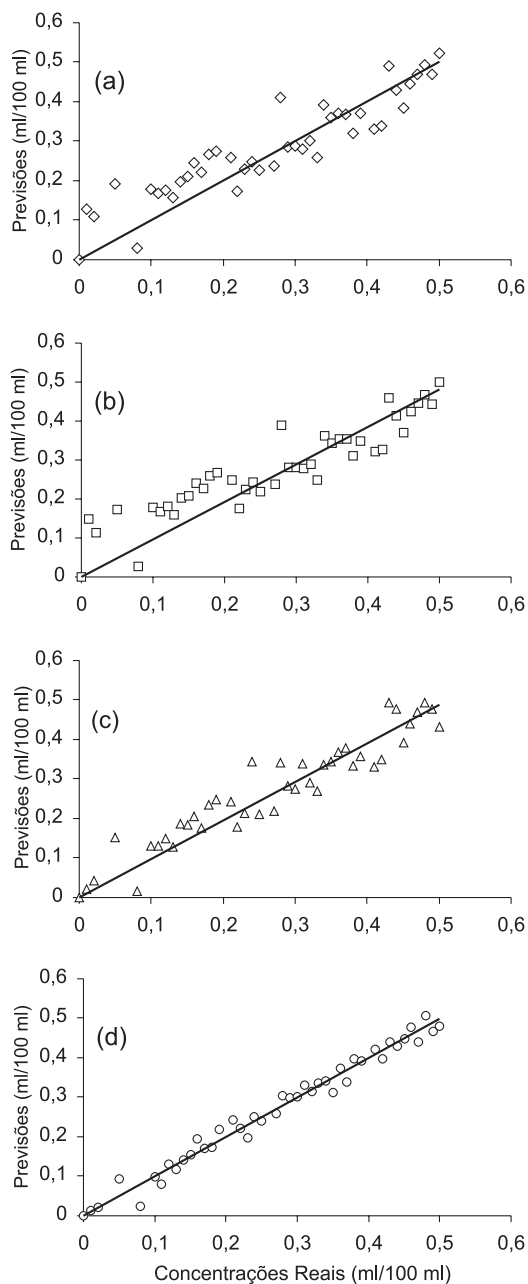


Figura 2. Concentrações reais versus previstas para cada modelo de calibração baseado no PLS usando todas as 42 amostras: (a) univariado ($r^2 = 0,8479$); (b) multivariado com uma variável latente ($r^2 = 0,8464$); (c) multivariado com 6 variáveis latentes ($r^2 = 0,9029$); (d) multivariado com 10 variáveis latentes ($r^2 = 0,9791$)

Para os procedimentos de validação, um conjunto de nove espectros de absorção que não foram utilizados na construção dos modelos multivariados foram analisados dentro dos mesmos parâmetros do modelo PLS pré-estabelecido e utilizando uma, 6 e 10 variáveis latentes (Figura 3).

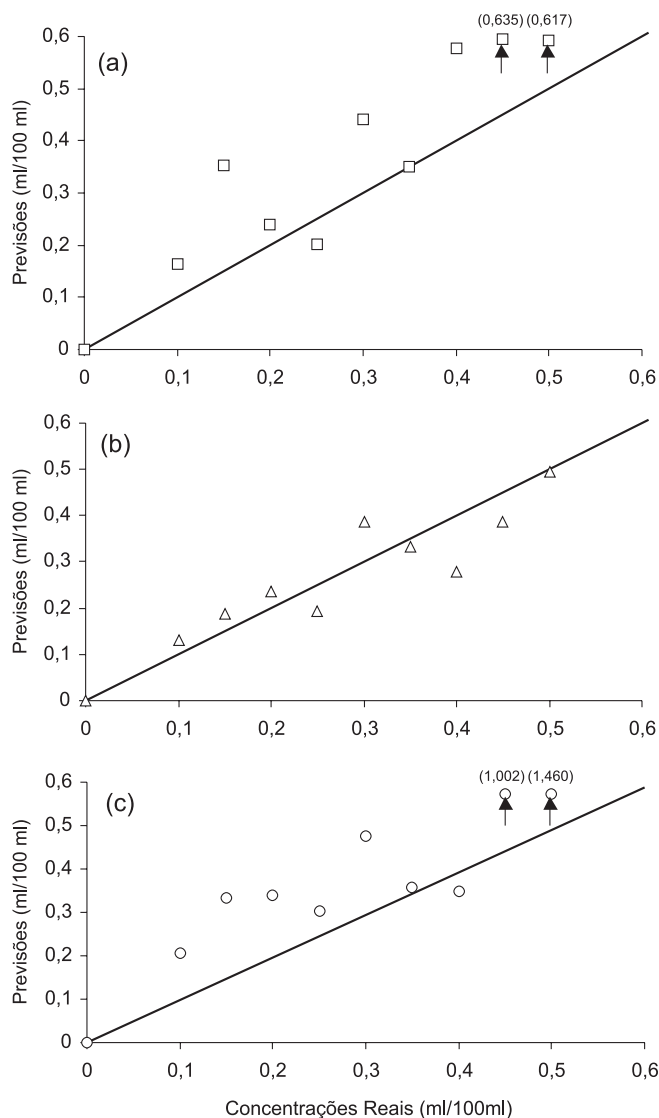


Figura 3. Concentrações reais versus previstas para a validação do modelo PLS usando 9 amostras com: (a) uma variável latente ($r^2 = 0,8511$); (b) 6 variáveis latentes ($r^2 = 0,8594$); (c) 10 variáveis latentes ($r^2 = 0,6563$)

Os valores de SEC e SEP, em função do número de variáveis latentes utilizadas nos modelos multivariados, são demonstrados na Figura 4. O valor mínimo do erro de previsão determina o número ótimo de variáveis latentes a ser utilizado no modelo PLS para análises prospectivas¹². No presente estudo, a curva do SEP apresentou o menor valor, 0,058 ml/100 ml, utilizando-se 6 variáveis latentes. Este número é muito próximo ao SEC com uma variável latente (0,061 ml/100 ml), e do SEC do modelo univariado (0,060 ml/100 ml).

Com o valor ótimo de 6 variáveis latentes determinado pelo SEP, o modelo PLS foi utilizado para estabelecer previsões das concentrações desconhecidas de novas amostras. Para tanto, foi utilizada a função *plspre*d nos espectros das soluções aquosas onde as próteses totais e discos de RAAQ (D1, D2) foram armazenados, tomando como base os parâmetros do modelo de calibração previamente determinados.

Os gráficos com os valores das concentrações prováveis de MMA liberados em água calculados para as respectivas amostras (próteses e discos) são demonstrados nas Figuras 5 e 6. A barra de erro aplicada aos gráficos refere-se ao valor do SEP para 6 variáveis latentes.

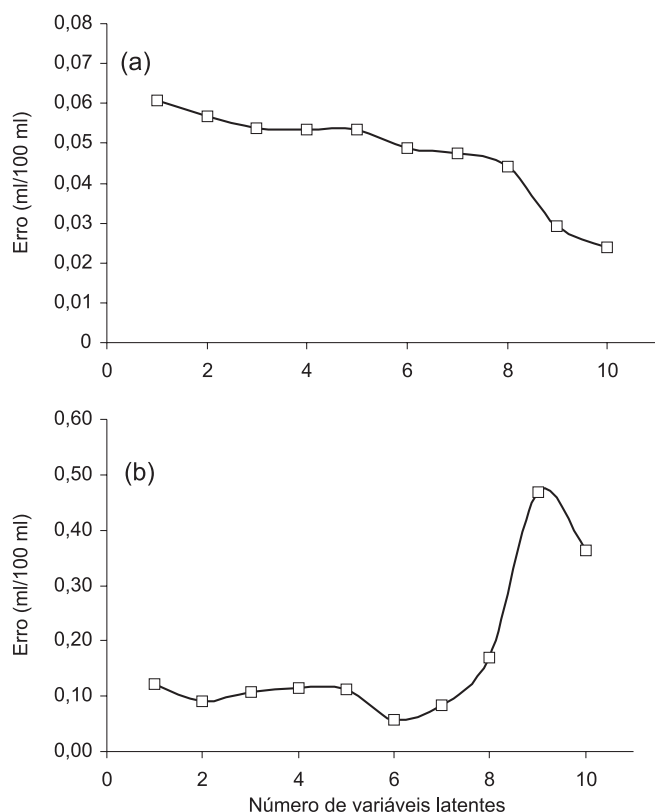


Figura 4. (a) SEC (erro padrão de calibração) calculado usando os valores de concentrações previstas pelo modelo de calibração PLS versus número de variáveis latentes e (b) SEP (erro padrão de previsão) calculado usando os valores de concentrações previstas pelo modelo de validação PLS versus número de variáveis latentes

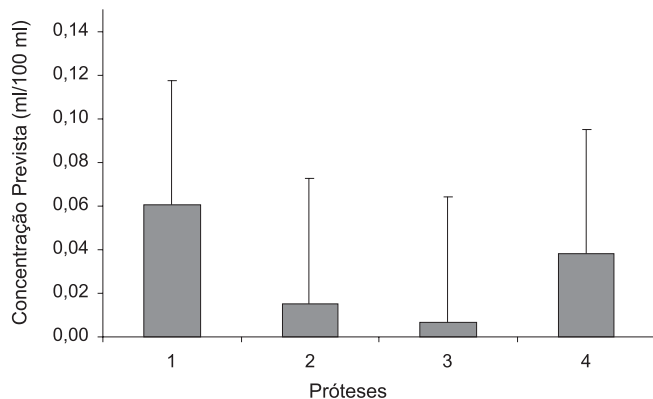


Figura 5. Concentração prevista pelo modelo PLS do MMA liberado em água DI de diferentes próteses totais imersas por 1 h

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Este trabalho se propôs a desenvolver uma metodologia para a determinação da concentração de MMA residual em próteses odontológicas, de maneira não destrutiva e confiável, a partir da análise da liberação do MMA em solução aquosa. Foram construídos modelos univariados e multivariados, este último baseado no PLS.

Observando a solução estoque, verificou-se que esta não se apresentava homogênea e sim, com inúmeras partículas de MMA em suspensão, apesar de esta ter permanecido por 8 dias hermeticamente

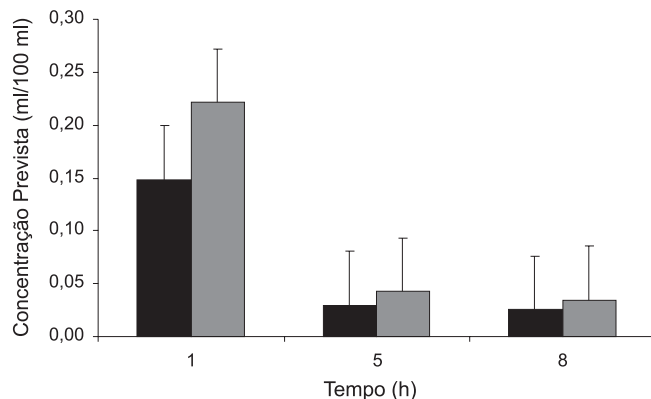


Figura 6. Concentração prevista pelo modelo PLS do MMA liberado em água DI após diferentes tempos de imersão, com troca da água após cada período: ■ (Disco 1) - resina acrílica polymerizada sob pressão de 60 lb/pol²; ■ (Disco 2) - resina acrílica polymerizada sob pressão atmosférica

fechada e sob agitação diária. Apesar da insolubilidade do MMA em soluções aquosas (provocando instabilidade da suspensão), análises deste tipo de soluções fornecem uma idéia real da concentração¹⁰ pois não envolve outros solventes, sendo um método não destrutivo.

Fatores como aderência do MMA nos instrumentos (balões, ponteiros plásticos e cubetas) e sua volatilidade devem ser considerados e, sendo assim, alterações nas concentrações das amostras analisadas podem ocorrer com as conseqüentes variações nas absorvâncias.

Apesar da instabilidade do MMA em água foi possível identificar o pico em 200 nm nas soluções aquosas com concentrações na faixa entre 0,0001 e 0,005%, cuja intensidade de absorção depende da concentração, com algumas variações decorrentes de fatores citados anteriormente.

Analisando o SEC do modelo univariado (0,060 ml/100 ml) e multivariado com uma variável latente (0,061 ml/100 ml), estes apresentaram valores semelhantes. Com o aumento do número de variáveis latentes do modelo multivariado, ocorreu uma diminuição deste valor devido ao fato de que, com o maior número de variáveis consideradas, há a inclusão de parâmetros espectrais que não são gerais, mas particulares de cada amostra, deixando o sistema muito especializado (com a conseqüente diminuição do erro).

Entretanto, com relação aos valores do SEP, o menor valor foi encontrado com a utilização de 6 variáveis latentes (0,058 ml/100 ml). Este número de variáveis deve ser considerado no modelo em análises subsequentes, pois o menor valor de SEP indica a variável ótima a ser utilizada¹².

A confiabilidade do modelo PLS é dependente do número de amostras utilizadas na construção do modelo, de forma que se possa prever concentrações desconhecidas em um grande número de amostras. Mas para isto faz-se necessário um número alto de situações experimentais, o que, às vezes, torna-se inviável na prática¹¹. Variações como potência da fonte de luz, tipo de amostra, alinhamento do equipamento e posição da amostra também são fatores que interferem na eficiência do modelo, causando alterações espectrais¹³. Porém, se as variáveis relevantes são consideradas no modelo multivariado, o procedimento de calibração é eficiente e preciso, mesmo com poucas características espectrais (picos MMA).

De acordo com os resultados obtidos na determinação das concentrações desconhecidas das amostras das próteses totais e discos de RAAQ, a partir do modelo PLS construído (com 6 variáveis latentes), observou-se que algumas destas concentrações estão bem próximas ou menores que o SEP (barra de erro).

Observando as concentrações das soluções aquosas em que as

próteses totais foram imersas (Figura 5), as mesmas apresentam valores pequenos, o que é esperado com o tipo de resina (resinas acrílicas termopolimerizáveis) e o procedimento de polimerização (ciclo longo) utilizados. De qualquer forma, a observação dos espectros de absorção e a conseqüente possibilidade de quantificação do MMA destas amostras ampliam as possibilidades da técnica na análise tanto do MMA liberado das RAAQ como também nas resinas termopolimerizáveis.

Na análise das concentrações das soluções aquosas em que os discos foram imersos (Figura 6), a quantidade de MMA liberado foi dependente do processo de polimerização e tempo pós-polimerização. Em todos os tempos pós-polimerização (1, 5 e 8 h), o disco confeccionado com RAAQ em que a polimerização processou-se por 15 min sob pressão (D1) apresentou um nível menor de MMA quando comparado com os valores obtidos do disco de RAAQ polimerizado em pressão atmosférica (D2), o que confere com as afirmações de Lamb *et al.*¹ e Anusavice⁸ especificando que a quantidade de MMA é dependente do tipo da resina e processo de polimerização. A diminuição do nível de MMA liberado com o tempo também foi observada em ambos os discos, uma vez que nos instantes iniciais (primeira hora, principalmente) há maior quantidade de MMA residual, sendo que a quantidade deste diminui devido a uma polimerização adicional em sítios ativos presentes nas cadeias poliméricas⁹ e difusão para o meio exterior¹.

Com estes resultados, pode-se afirmar que o método de análise de liberação de MMA em água através do modelo PLS aplicado aos espectros de absorção no UV é eficiente, sendo a concentração de monômero liberado dependente do tipo de processamento da resina

e do tempo de liberação. Futuramente, a construção de um modelo de calibração com um maior número de amostras possibilitará a diminuição do erro de previsão e o aumento da faixa de concentrações possíveis de serem medidas.

AGRADECIMENTOS

À QUIMLAB – Química e Metrologia pela disponibilidade na utilização do espectrofômetro Cary 100.

REFERÊNCIAS

1. Lamb, D. J.; Ellis, B.; Priestley, D.; *Biomaterials* **1982**, *3*, 155.
2. Lamb, D. J.; Ellis, B.; Priestley, D.; *J. Dent.* **1983**, *11*, 80.
3. Minelli, C. J.; Silva, R. S.; Silva, E. M. C.; Chaves, P. H. F.; *Odontologia Clínica* **1988**, *2*, 19.
4. Kantarci, Z.; Aksoy, S.; Hasirci, N.; *Int. J. Artif. Organs* **1997**, *20*, 407.
5. Marchini, L.; Cunha Jr., A. P.; Santos, J. F. F.; Cunha, V. P. P.; *Revista da APCD* **1998**, *52*, 293.
6. Taira, M.; Nakao, H.; Matsumoto, T.; Takahashi, J.; *Int. J. Prosthodont.* **2000**, *13*, 311.
7. Valittu, P. K.; Miettinen, V.; Alakuijala, P.; *Dent. Mater.* **1995**, *11*, 338.
8. Anusavice, K. J. Em *Philips Materiais Dentários*; 10^a ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1998, cap. 11.
9. Smith, D. C.; Bains, M. E. D.; *J. Dent. Res.* **1956**, *35*, 16.
10. Baker, S.; Brooks, S. C.; Walker, D. M.; *J. Dent. Res.* **1988**, *67*, 1295.
11. Ferreira, M. M. C.; Antunes, A. M.; Melgo, M. S.; Volpe, P. L. O.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 35.
12. Ham, F. M.; Kostanic, I. N.; Cohen, G. M.; Gooch, B. R.; *IEEE T. Biomed. Eng.* **1997**, *44*, 231.
13. Everall, N. J.; Kevin D.; Owen H.; Pelletier, M. J.; Slater, J.; *Appl. Spectrosc.* **1996**, *50*, 388.