

Identifikacija kobalta i kroma u protetskim radovima primjenom tankoslojne kromatografije

Jasenka Živko-Babić¹
Josip Pandurić¹
Vesna Alar²
Tomislav Ivaniš¹
Danijela Ivanković³

¹Stomatološki fakultet
Sveučilišta u Zagrebu
²Fakultet strojarstva i
brodogradnje
Sveučilišta u Zagrebu
³Fakultet kemijskog
inženjersva i tehnologije
Sveučilišta u Zagrebu

Sažetak

Zbog velike ponude dentalnoga tržišta danas postoji više od tisuću raznih sustava i vrsta slitina za protetske namjene.

Svrha rada bila je identificirati osnovne sastavnice postojećih protetskih konstrukcija u pacijenata kojima je trebala daljnja protetska terapija. Uporabom minielektrode s grafitnim nastavkom, vodene otopine NaCl kao elektrolita i baterije od 4,5 V kao izvora struje, anodno se uzrokovalo osam protetskih radova nepoznata sastava. Uzorci su analizirani kvantitativnom tankoslojnom kromatografijom (QTLC). Kromatogrami uzoraka razvijeni su sustavom otapala: aceton i 2 M HCl. Vizualizacija kobalta dobivena je vodenom otopinom natrij-dietilditiokarbonata, a kroma etanolnom otopinom dimetilglioksima. Postotni udio identificiranih elemenata određen je na analizatoru slike, koji je predhodno baždaren poznatim standardima.

Ključne riječi: dentalne slitine, anodno uzorkovanje, kvantitativna tankoslojna kromatografija (QTLC)

Acta Stomatol Croat
2000; 41-45

PRETHODNO PRIOPĆENJE
Primljeno: 17. siječnja 2000.

Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. Jasenka Živko
-Babić
Stomatološki fakultet
Sveučilišta u Zagrebu
Gundulićeva 5, 10000 Zagreb

Uvod

Dentalno tržište danas nudi više od tisuću raznih tipova i vrsta slitina za protetske rekonstrukcije (1). Izbor dentalne slitine za lijevanje najčešće ovisi o blizini i utjecaju tržišta, ekonomskom čimbeniku i o mogućnostima zubnoga laboratorija. No, usta su ponekad i vrlo agresivna korozivna sredina koja zahtijeva uporabu slitina istog ili bar sličnoga sastava. Organizam je i vrlo osjetljiv te na pojedine kovne sastavnice može reagirati senzibilizacijom ili alergijskim simptomima (2,3). Pierce i Goodkind (4) upozoravaju da se premalo zna o djelovanju dentalnih slitina koje sadrže nikal, berilij i krom na ljudski organizam. Ti autori preporučuju studije na

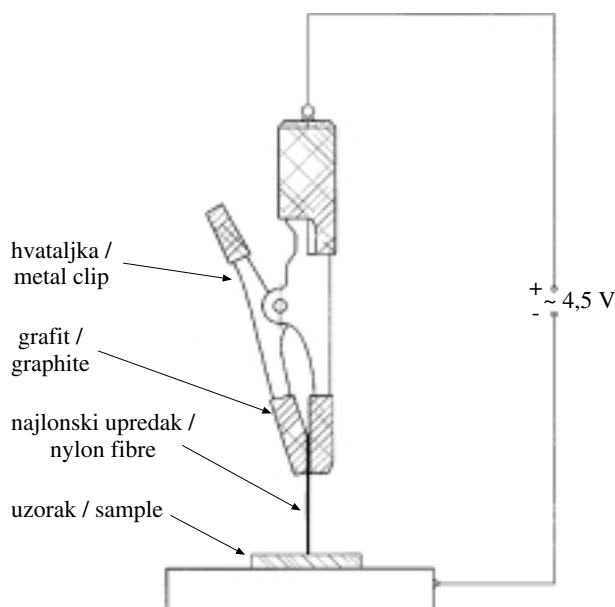
životinjama i ljudima u smislu biokorozivskih ispitivanja kako bi se okarakterizirao akutni ili kronični toksični učinak neplemenitih slitina na ljudski organizam. Osim toga, paladij, iako plemenit metal, u ionskom obliku i u dovoljno visokoj koncentraciji također može toksički i/ili alergijski djelovati na biološki sustav (5). O nedovoljnom biokompatibilitetu i ograničenoj postojanosti u ustima slitina na bazi paladija, te o posljedičnim lokalnim ili sustavskim reakcijama pišu i Wirz, Jäger i Schmidli (6). Kako terapeuti uglavnom ne znaju sastav upotrebene slitine razlog alergijskih reakcija može se objasniti tek naknadnom identifikacijom sastava protetskoga rada.

Pritom su laboratorijske raščlambe, kao emisij-ska spektroskopija X-zraka (XES), proton induc-rana emisijska spektroskopija X-zraka (PIXE), atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS) i druge, neprikladne jer zahtijevaju uklanjanje protetskoga rada iz pacijentovih usta, i izradbu uzoraka određenih dimenzija i pripreme (7,8,9,10,11).

Znatno je interesantnija mogućnost uzimati uzorak slitine iz pacijentovih usta a da se pritom ne naruši stanje i izgled protetskoga rada. U tu skupinu metoda uzimanja uzorka i identifikacije ubrajaju se abrazivna voltometrija, "Splitter test" s EDX raščlambom i anodno uzorkovanje u kombinaciji s kvantitativnom tankoslojnom kromatografijom (QTLC). Abrazivna voltometrija temelji se na abrazivnom prijenosu slitine u tragovima na površinu grafitne elektrode i elektrokemijskom skidanju tih tragova uz registraciju krivulja jakost-napon. Scholz i sur. (12) daju prednost toj metodi u raščlambi amalgama ili pojedinačne kovine, dok se Živko-Babić sa sur. (13) koristi tom metodom u dokazivanju srebra i paladija u slitinama na osnovi srebra, te nikla, kobalta i kroma u neplemenitim slitinama. "Splitter test" prvi je primjenio Wirz (14,15). Taj način uzorkovanja zahtijeva brušenje kovinskoga praha s krunice ili tijela mosta. Prah se prenese na samoljepivu grafitnu foliju koja time postaje vodljiva. Tako nanesen prah ispituje se EDX raščlambom. Ta je metoda prihvaćena kao dijagnostičko pomagalo u objašnjenju nepodnošljivosti kovine u ustima (1, 14,15,16). Rozylo je primjenom QTLC odredila razinu formaldehida u tvrdim tkivima humanoga zuba (17). Rezultati Šoljića i Jurline dokazali su da je ta metoda prikladna i dovoljno točna za simultano kvantitativno određivanje platine i rodija u katalizatorima (18). Tankoslojna kromatografija češće se rabi u raščlambi visokoslitinizirajućih čelika (19). Primjena anodnog uzorkovanja s QTLC za identifikaciju sastava dentalnih slitina nije bila opisana u dentalnoj literaturi do rada Živko-Babić i sur. koji su anodnim uzorkovanjem i primjenom tankoslojne kromatografije utvrdili udio kobalta u dentalnim slitinama koje sadrže tu kovinu kao osnovu (20). Ivanković sa sur. nastoji optimizirati uvjete uzorkovanja i identifikacije kobalta u dentalnim slitinama raznih proizvođača (21).

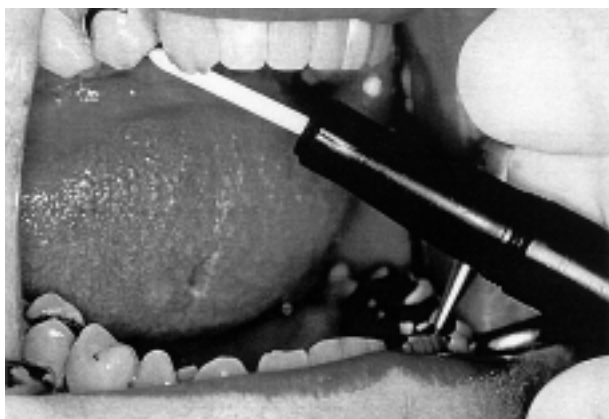
Materijal i postupci rada

Anodno uzorkovanje postojećih protetskih radova provedeno je u ustima osam pacijenata kojima je trebala daljnja protetska terapija. Načelo anodnog uzorkovanja jest u anodnom otapanju materijala specijalnom minielektrodom. Shema uređaja prikazana je na Slici 1. Minielektroda se sastoji

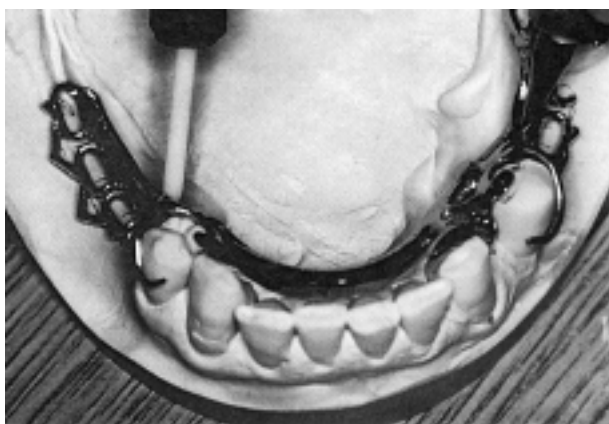


Slika 1. Shematski prikaz uređaja za anodno uzorkovanje
Figure 1. Scheme of the apparatus for anodic sampling

od metalnoga drška u kojemu je grafitni nastavak unutar kojeg je najlonska nit natopljena vodenom otopinom NaCl (1g/100 mL). Kao izvor struje poslužila je 4,5 V baterija. Tijekom uzorkovanja minielektroda se, spojena na pozitivni pol baterije, prisloni na kovni dio krunice ili na baznu proteznu ploču, s koje se ne uzima uzorak, a druga je elektroda, spojena na negativni pol baterije, prislonjena na drugu kovinu u ustima ili na bakrenu ploču izvan ispitanikovih usta (Slike 2 i 3). Uzimanje uzorka traje 20 sekundi pri sobnoj temperaturi (oko 23°C). Za svako uzorkovanje upotrijebila se je nova najlonska nit natopljena vodenom otopinom NaCl. Kada se zatvori električni strujni krug, počne se otapati anodni uzorak te se otopljeni ioni kovine prenese na najlonsku nit. Nakon toga se otopljeni ioni kovine određuju kvantitativnom tankoslojnom kromatografijom (QTLC) koristeći se staklenim



Slika 2. Uzorkovanje u ustima
Figure 2. Sampling in the mouth



Slika 3. Uzorkovanje izvan usta
Figure 3. Sampling outside the mouth

kromatografskim pločama (Merck, Darmstadt, Germany), dimenzija 200 x 200 mm, prekrivenim 0,1 mm debelim slojem mikrokristalične celuloze. Neposredno nakon uzorkovanja vrh najlonske niti prisloni se na kromatografsku ploču, 20 mm od donjega ruba ploče, i drži u tome položaju 10 sekundi. Na taj se način kapilarnim silama na suhi mikrokristalični sloj celuloze prenese dio elektrolita i cjelokupna masa otopljenih kovina uzorka dobivena anodnim uzorkovanjem. Taj se prijenos napravi na osam mjesta na kromatografskoj ploči, s razmakom od 10 mm. Deveta točka ostala je između njih prazna da se vidi odaziv površine. Kromatografske ploče osušene su strujom topli zraka da bi se otklonili tragovi elektrolita i zatim su uronjene u kromatografsku posudu koja je sadržavala sljedeći sastav otapala: aceton - HCl(conc) - H₂O (86:8:6 v/v).

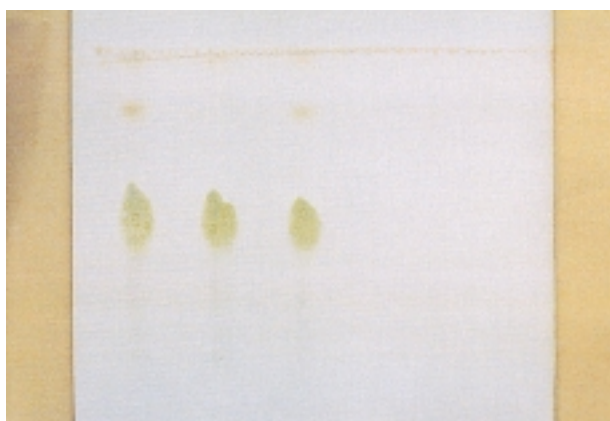
Put otapala iznosio je 120 mm. Pošto su razvijene, ploče su osušene. Mrlje kobalta izazvane su s pomoću spreja vodene otopine natrij-dietildition-karbonata (5g/100mL). Identifikacija kroma ostvarena je s pomoću etanolne otopine dimetilglioksima (1g/100mL). Za uzorak na kojem je dobiven negativan odaziv kobalta i kroma pretpostavilo se da se radi o slitini na osnovi srebra. To je kovina koja traži posve drugačije uvjete uzimanja uzorka i identifikacije. Postotni udio identificiranih elemenata određen je na analizatoru slike, Image analyser, Leco 2001 (Leco. St Joseph, Canada), koji je predhodno baždaren poznatim standardima.

Rezultati

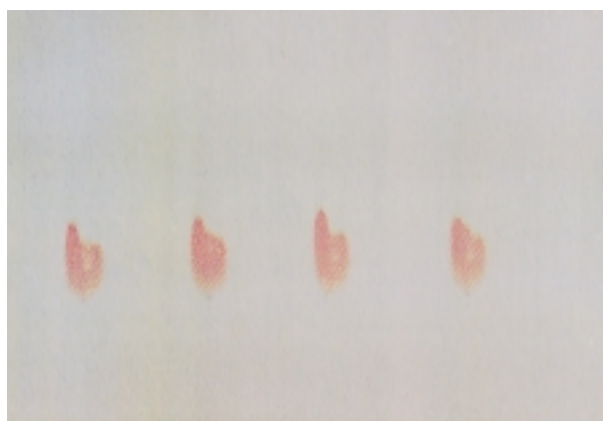
Kromatografske mrlje identificiranih elemenata prikazane su na Slikama 4 i 5. Prema obojenju i intenzitetu boje pojedinih kromatografskih mrlja zaključilo se je da se radi o zelenoj mrlji kobalta i crvenoj mrlji kroma. Potvrdu detekcije čine i RF vrijednosti svakoga navedenog elementa, tj. omjer udaljenosti koju je prevalio kemijski element i udaljenosti fronte otapala. Skeniranjem mrlja i usporedbom sa standardnim vrijednostima izračunat je postotni udio spomenutih kovina u svakom analiziranom uzorku (Tablica 1). Ponovljivost rezultata određena je preko razmjernoga standardnog odstupanja (RSD) u postotcima i iznosi 2,6%. Kobalt je dokazan u tri uzorka, a izmjereni postotni udio iznosi 55,8 - 65,5%. Tako velik postotak kobalta govori u prilog osnovnom elementu analizirane slitine. U sedam uzoraka identificiran je krom čiji se postotni udio kreće od 16,3 - 25,7 %. Radi se o slitinizirajućem elementu. U osmome uzorku nisu nađeni traženi elementi.

Rasprava

Znati sastav dentalnih slitina prije inkorporacije u biološki medij obvezni je dio uspješne protetske terapije. Identifikacija slitine u pacijentovim ustima ograničena je nemogućnošću uzimanja uzoraka određenih dimenzija koje zahtijevaju pojedine raščlambe. Zato je i broj raščlambe ograničen kada se radi o cementiranim protetskim radovima. Dok je abrazivna striping voltometrija kvantitativna i



Slika 4. Kromatogram kobalta
Figure 4. Chromatogram of cobalt



Slika 5. Kromatogram kroma
Figure 5. Chromatogram of chromium

Tablica 1. Udio (m%) identificiranih elemenata u pojedinim uzorcima
Table 1. Percentage (m%) of the identified elements

Uzorak / Sample Element / Element	1	2	3	4	5	6	7	8
Co	-	-	55.8	-	61.2	65.5	-	-
Cr	16.3	25.3	25.7	19.5	30.5	21.3	24.5	-

nesigurna metoda, s mogućnošću izostanka ili preklapanja pikova pojedinih metala, "Splitter test" zahtijeva, premda neznatno, da se brusi krunica u ustima ispitanika. Elementi u iznosu manjem od 2% u slitini ne mogu se sa sigurnošću identificirati EDX raščlambom. Anodno uzorkovanje je brzo, jednostavno i nedestruktivno uz pretpostavku da uzorak provodi struju, što je slučaj sa svim kovnim sastavnicama protetskih slitina. Uspješnost uzorkovanja ovisi o izboru i koncentraciji elektrolita te jakosti struje. Izbor elektrolita za uzorkovanje ovisi o sastavu slitine, tj. elektrolit koji ne omogući dovoljnu oksidaciju umanjit će i vrijednost rezultata. Zato se prije samog uzorkovanja treba pretpostaviti koji se elementi mogu očekivati i na temelju toga izabrati elektrolit koji će s određenim elementom nakon oksidacije tvoriti topive soli u ionskom obliku. Istodobno, preslaba koncentracija elektrolita i niski napon također čine rezultate nepouzdanima. Ovim ispitivanjem obavljena je detekcija samo onih elemenata za koje se pretpostavilo da se nalaze u velikom udjelu. Ponovljivost rezultata pokazuje rasap vrijednosti do 2,6%. Kako sva mjerenja nisu obavljena istodobno, očito dolazi do promjene

jakosti struje baterije, za što je Ivaković sa sur. (21) dokazala da bitno utječe na rezultate mjerenja. No, kada se radi o dokazu sastava slitine, odnosno o potvrdi postojanja mogućeg alergena, numerički iznos nema bitnu ulogu. U pokusnoj studiji Živko i sur. (20) za uzorkovanje kobalta upotrijebili su 0,9 % NaCl kao elektrolit i napon od 4,5 V. Rezultati identifikacije mrlja kobalta na analizatoru slike odstupali su do 2,9% od deklariranih vrijednosti, a identifikacija mrlja kobalta u radu Ivanković i sur. videoskeniranjem pokazuje odstupanja do 5,47% od deklariranih vrijednosti. Wirz u EDX raščlambi spominje $\pm 2\%$ pogrešku mjerenja. Anodno uzorkovanje nije prikladno za detekciju nekovina, koje su vrlo često dolegirajući elementi u dentalnim slitinama.

Za identifikaciju većeg broja kovina u slitinama potrebno je riješiti pitanje separacije pojedinih elemenata, tj. selektivnosti i koliko ih je maksimalno moguće identificirati. Najčešće se ne očekuju interferencije, jer su rijetko u jednoj slitini zastupljeni elementi s istim R_F vrijednostima. Dok se u našoj zemlji ne donese zakon koji će obvezati

terapeuta da zna i da evidentira sastav slitine koju unosi u biološki medij, dodatna standardizacija primjene ove metode u stomatološkoj protetici cilj je daljnjih ispitivanja.

Zaključak

Uspješnost protetske terapije ovisi i o poznavanju sastava inkorporiranoga protetskog rada u biološku sredinu. Optimizacijom uvjeta anodnog uzorkovanja i kromatografske obradbe moguće je na jednostavan, brz, ali u prvome redu nedestruktivan način uzorkovati i doznati udjel jedne ili više sastavnica u slitini, što daje odgovor koju slitinu izabrati za sljedeću protetsku terapiju, odnosno je li odgovor za simptome pacijentove senzibilizacije ili alergije u sastavu postojećega protetskog rada.

Literatura

- PETERS O, STOBBER TH, PIOCH TH, LENZ P. Aussagekraft des Splittertestes nach Wirz. Zahnärztl Welt 1997;106:592-600.
- SIEBERT GK. Dentallegierungen in der zahnärztlichen Prothetik. München: Hanser 1989.
- EICHNER K, KAPPERT HF. Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung. Heidelberg: Hüthig; 1996.
- PIERCE LH, GOODKIND RJ. A status report of possible risks of base metal alloys and their components. J Prosthet Dent 1989;48:234-237.
- WATAHA JC, HANKS CT. Biological effects of palladium and risk of using palladium in dental casting alloys. J Oral Rehab 1996;23:309-320.
- WIRZ J, JÄGER K, SCHMIDL F. Sind Palladium-Basislegierungen noch zeitgemäss? Quintessenz 1997; 48: 107-117.
- KOSOVEL Z, ŽIVKO-BABIĆ J, VALKOVIĆ V. Identification of components in prosthetic alloys by X-ray emission spectroscopy. Acta Stomatol Croat 1983;17:1-8.
- TADIĆ T, JAKŠIĆ M, ŽIVKO-BABIĆ J, FAZINIĆ S, VALKOVIĆ V. Diffusion of metals from crown into teeth. Nucl Instr and Meth in Physics Res B 1990; 49:211-215.
- HEILMANN HH, KUHL K, STECKHAN FREYA, STECKHAN F. Gradienten anorganischer Bestandteile im Schmelz und Dentin von Milchzähnen. Zahn-Mund-Kieferheilkd 1990; 78: 587-592.
- SUZUKI N. Metal allergy in dentistry: detection of allergen metals with x-ray fluorescence spectroscopy and its application toward allergen elimination. Int J Prosthodont 1995; 8: 351- 359.
- ZACHARIADIS GA, THEMELIS DG, KOSSEOGLOU DJ, STRATIS JA. Flame AAS and UV-VIS determination of cobalt, nickel and palladium using the synergetic effect of 2-benzoylpyridine-2-pyridylhydra-zone and thiocyanate ions. Talanta 1998;47: 161-167.
- SCHOLZ F, MÜLLER WD, NITSCHKE L, RABI F, LIVANOVA L. Fast and nondestructive identification of dental alloys by abrasive stripping voltammetry. Fresenius J Anal Chem 1990; 338: 37 - 40.
- ŽIVKO-BABIĆ J, IVANIŠ T, KOMORSKY-LOVRIĆ Š, SCHOLZ F. Identification of dental alloys with the abrasive stripping analysis. Proceedings of the 17th Annual Conference of European Prosthodontic Association, Milano 1993:160.
- WIRZ J, JÄGER K. Splittertest. Quintessenz 1992; 43:1017-1023.
- WIRZ J, VOCK M, SCHMIDL F. Splittertest - ein zuverlässiges Diagnosehilfsmittel bei Abklärungen von Metallunverträglichkeit. Quintessenz 1996;47:1373-1384.
- FORSELL M, MARCUSON JA, CARLMARK B, JOHANSSON O. Analysis of the metal content of in vivo-fixed dental alloys by means of a simple office procedure. Swed Dent J 1997; 21: 161- 168.
- ROZYLO TK. Quantitative TLC determination of Formaldehyde in Hard Tissues of Teeth. Biomed Chromatogr 1998; 12: 1 - 4.
- ŠOLJIĆ Z, JURLINA S. Determination of Platinum and Rhodium in Pt-Rh Catalysts by TLC *in situ*. J Liq Crom & Rel Technol 1996; 19: 815 - 821.
- SCHUBERT G, ALAR V, ŽIVKO-BABIĆ J, TURINA S. Determination of Chromium and Nickel in High-Alloy Steel by Thin-Layer Chromatography with Anodic Sampling. J Planar Chromatogr 1998; 11: 460-462.
- ŽIVKO-BABIĆ J, IVANKOVIĆ V, PANDURIĆ J. Quantitative thin-layer chromatographic identification of dental base alloys. J Chromatogr B 1998; 710: 247 - 253.
- IVANKOVIĆ D, KAŠTELAN-MACAN M, PETROVIĆ M, ŽIVKO-BABIĆ J. Quantitative analysis of dental alloys based on micro-anodic sampling and video densitometry. Balaton Symposium'99 on high-performance separation methods, Siofok. 1999:24.