



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

UNIDAD UNIVERSITARIA DE INVESTIGACION EN CARIOLOGIA

DETERMINACION DE CADMIO, CROMO Y MAGNESIO EN ESMALTE DE DIENTE, POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION ATOMICA ELECTROTERMICA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

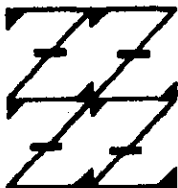
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

EDUARDO CAMACHO GUERRERO

ASESORES: M.O. DOLORES DE LA CRUZ CARDOSO M. en C. LOURDES CASTILLO GRANADA

UNAM FES ZARAGOZA



LO QUE NO ES UN REFLEJO

MEXICO, D. F.

FEBRERO DE 1999.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

277955



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**DETERMINACION DE CADMIO, CROMO Y MAGNESIO EN  
ESMALTE DE DIENTE, POR ESPECTROSCOPIA DE  
ABSORCION ATOMICA ELECTROTERMICA.**

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN:  
COMISIÓN ESTATAL DE AGUA Y SANEAMIENTO  
LABORATORIO DEL AGUA  
ÁREA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

## **JURADO**

**PRESIDENTE:** M. en C. FELIPE A. PÉREZ VEGA

**VOCAL:** C.D. DOLORES DE LA CRUZ CARDOSO

**SECRETARIO:** M. en C. A. LOURDES CASTILLO GRANADA

**SUPLENTE:** Q.F.B. MAURO ARRIETA SÁNCHEZ

**SUPLENTE:** Q.F.B. VÍCTOR HUGO BECERRA LÓPEZ

**AGRADECIMIENTOS:**

**A MIS ASESORES:**

**M.O. Dolores de la Cruz Cardoso  
M. en C. Lourdes A. Castillo Granada**

**Por el apoyo, paciencia y estímulo brindados en la realización de este trabajo.**

**Biol. Armando Cervantes**

**Por su colaboración en el análisis estadístico.**



DEDICATORIAS

**A MIS PADRES *IN MEMORIAM***

**LUIS CAMACHO CARRILLO**

**ESPERANZA GUERRERO BARRIENTOS**

Quienes me apoyaron y estimularon en  
todo el transcurso de la carrera  
para alcanzar una de mis metas, la cual constituye  
la herencia más valiosa que haya podido recibir.

Con admiración y respeto.

**A MIS HERMANOS:**

**Yolanda, José Luis, Gerardo, Ma. Elena,  
Ma. Alberto, Héctor y Ma. Guadalupe.**

Por su motivación y apoyo.

**Cada vez que mis ilusiones se vuelven realidad,  
quisiera encontrar la palabra que exprese  
lo que siento por dentro. . .**

**aquellos que siempre han creído y estado ahí para apoyarme,  
mis padres, familia y grandes amigos.**

**Son los artifices de éste, mi sueño, pero estoy seguro  
cumplirlo hubiese sido imposible sin *DJOS*  
mi *DJOS* quien me ha puesto a soñar.**

Eduardo Camacho G.



## ÍNDICE

<b>CONTENIDO</b>	<b>PAGINA</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA</b>	3
2.1 Antecedentes	3
2.2 Esmalte Dental	4
2.2.1 Definición	4
2.2.2 Propiedades Físicas	5
2.2.3 Composición Química	5
2.3 Flúor	6
2.3.1 Mecanismo de acción	7
2.3.2 Fluroración tópica	8
2.3.3 Reacción del esmalte	9
2.3.4 Técnicas tópicas de aplicación	11
2.4 Oligoelementos	13
2.4.1 Cadmio	15
2.4.2 Cromo	16
2.4.3 Magnesio	18
2.5. Espectroscopia de absorción atómica	19
2.5.1 El átomo y la espectroscopia atómica	19

---

---

2.6 Espectroscopía Atómica Electrotérmica	20
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	22
<b>4. OBJETIVOS</b>	24
<b>5. HIPOTESIS</b>	25
<b>6. EQUIPO Y MATERIAL</b>	26
<b>7. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b>	28
7.1 Preparación de Muestras	28
7.2 Desarrollo de Métodos	29
7.3 Cálculo de Profundidad de Biopsias	30
<b>8. DIAGRAMA DE FLUJO</b>	31
<b>9. RESULTADOS</b>	32
9.1 Diferencia de medias	33
9.2 Análisis de Medias Pareadas	36
9.3 Análisis de covarianza	39
<b>10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	42
<b>11. CONCLUSIONES</b>	49
<b>12. RECOMENDACIONES</b>	50
<b>13. BIBLIOGRAFÍA</b>	51
<b>14. ANEXOS</b>	56
14.1 El horno de grafito y la absorción atómica	56
14.2 El sistema del horno de grafito	57



## INTRODUCCION



## 1. INTRODUCCIÓN

El problema de la incidencia de caries dental en México, es de suma importancia, por los costos económicos que implica su tratamiento. Las causas son tan variadas como sujetos existen y es por ello que se siguen realizando investigaciones a fin de lograr en lo posible su prevención. Entre las acciones utilizadas para este fin, se realiza la fluoruración ya sea en forma sistémica o la aplicación tópica en el diente.

Se han utilizado varios compuestos de flúor como complementos anticaries de aplicación tópica, entre los que destacan el fluoruro de sodio y flúor fosfato acidulado (APF) ya sea en solución o en gel.

Por ello en la presente investigación se pretende medir la capacidad de protección de tres agentes fluorurados, cuantificando la cantidad de tres elementos traza presentes en el esmalte dental (Cd, Cr y Mg), antes y después de la aplicación de cada uno de los agentes.

La valoración se realizó a través de la técnica de biopsia de esmalte dental, antes y una semana después de la aplicación tópica de fluoruro de sodio al 2 por ciento en solución acuosa, flúor fosfato acidulado al 1.23 por ciento en gel y un barniz fluorurado al 5 por ciento formulado en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, U.N.A.M. La obtención de las muestras biológicas antes y después de la aplicación del agente fluorurado fue realizada por Ortiz en 1994, y se basó en la técnica de

biopsia de esmalte dental establecida por De la Cruz y col. en 1992. La cuantificación de los elementos traza se realizó por medio de la técnica de Absorción Atómica Electrotérmica (horno de grafito) la cual permite trabajar con volúmenes de muestras mínimos ( 20  $\mu$ L ), además de que los límites de detección se reducen.

A los resultados obtenidos se les realizó un análisis estadístico de medias pareadas para observar el comportamiento de la cantidad del metal presente en las muestras, antes y después de la aplicación del agente fluorurador correspondiente y posteriormente un análisis de covarianza para establecer si en efecto existe una diferencia significativa entre los tres tratamientos para las cuatro variables analizadas (profundidad de biopsia, contenido de cadmio, cromo y magnesio) <sup>(2,3)</sup>.

De esta forma, en los datos obtenidos, se observa que si existe una mayor protección al ataque ácido por parte de los tres agentes fluorurados, encontrándose un mejor efecto en el flúor fosfato acidulado (APF), seguido del barniz formulado en la F.E.S. Zaragoza y una menor protección por parte del fluoruro de sodio. Existe una diferencia significativa en el efecto de antes y después en la variable profundidad de biopsia al igual que en el contenido de metales extraídos de las biopsias tomadas en cada uno de los tratamientos. En cuanto a la diferencia entre tratamientos se encontró que existe una diferencia significativa entre el barniz fluorurado y el flúor fosfato acidulado para la variable profundidad de biopsia; y no existe diferencia significativa entre los tres tratamientos para la cantidad de magnesio, cadmio y cromo extraídos después de la aplicación del tratamiento.



## FUNDAMENTACION DEL TEMA



## 2. FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA

### 2.1 ANTECEDENTES

Desde tiempos inmemorables, se trató de conocer la composición de los tejidos mineralizados. Una de las primeras caracterizaciones la realizó Empédocles de Agrigento (492-432 a.C.), el cual los describe como tejidos compuestos por dos partes de agua, cuatro de fuego y dos de tierra. Posteriormente Aristóteles (384-322 a.C.) establece que los dientes se conforman de tres partes de fuego y dos de tierra. En el año de 1803 W. H. Pepys Jr., realiza el primer análisis cuantitativo del esmalte dental humano. Este estudio revela que el esmalte contiene 78 % de fosfato de cal, 6 % de carbonato de cal y un 16 % de pérdida que era principalmente agua <sup>(4)</sup>.

En el siglo XIX se supo que los dientes consistían principalmente de fosfato de cal con un poco de fosfato de magnesio, carbonato de cal, carbonato sódico, sales, materia orgánica y agua. Tomes informó de un promedio de 72.5 % de sales de cal en la dentina. Los dientes cariados tenían 1 % menos de sales de cal y los molares y bicúspides estaban mucho más calcificados que los incisivos y caninos, 73.2 % frente a 71.1 %. Estudios más recientes muestran que del peso total del diente, los incisivos poseen aproximadamente un 30 % de esmalte y que el porcentaje aumenta gradualmente de los caninos a los molares, los cuales contienen alrededor de 40 % del mismo.

En el presente siglo Armstrong y otros investigadores consideraron la necesidad de estudiar y conocer la composición química del esmalte y dentina empleando métodos de análisis más sensibles, y llegaron a la conclusión de que las fases minerales en uno y en otro no eran iguales, que no existe correlación en la composición del esmalte con la susceptibilidad a la desintegración del diente ni con la edad de la erupción y que la variación en la composición del esmalte es tan grande en los dientes de una misma persona como en los dientes de diversos individuos.

Al año siguiente French y col., encontraron que la razón media de calcio a fósforo (Ca/P) en la dentina era igual en el esmalte. En 1937, Lefevre y Hodge reportaron que la edad no causa cambios en la composición química de los dientes, hay poca diferencia en el contenido mineral en dientes de hombre y mujer y que la composición de la sustancia del diente es notablemente constante <sup>(4)</sup>.

## **2.2 ESMALTE DENTAL**

### **2.2.1 DEFINICIÓN**

El esmalte es el tejido calcificado más duro del cuerpo humano, su función es la de una cubierta resistente de la corona anatómica de los dientes, permitiéndoles soportar la aplicación de fuerzas mecánicas de gran magnitud, lo que los hace adecuados para la masticación. Alcanza un espesor máximo de 2 a 2.5 mm aproximadamente, adelgazándose hacia abajo del cuello del diente. Es un sistema altamente mineralizado. Más del 95 % de su masa es materia inorgánica, la mayoría de la cual se halla en estado cristalino <sup>(5,6,7)</sup>.



### 2.2.2 PROPIEDADES FÍSICAS

El esmalte dental se describe como una capa brillante, semiopaca, de espesor variable, es duro y quebradizo, carece de color propio. Por su composición química y estructura extremadamente ordenada, es el material más denso del sistema de los vertebrados, tiene una densidad de 2.95 g/mL.

Es un sistema activo que participa en diversas reacciones de intercambio iónico con la saliva, incluyendo el transporte de iones y soluciones desde esta a la dentina, de desmineralización y remineralización. Se le considera como una membrana semipermeable que permite el flujo de agua, iones y sustancias de pequeño peso molecular a través de los poros que existen entre los cristales del esmalte del medio bucal hasta el interior. Es soluble en medio ácido, pero ciertos iones modifican su índice de solubilidad. <sup>(6,7)</sup>

### 2.2.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA

El esmalte dental es un sistema altamente mineralizado. Más del 95 % de su masa es material inorgánico, la mayoría de la cual se halla en estado cristalino. Su contenido inorgánico varía de 95-96 % ciento en dientes permanentes y de 92-93 % en dientes deciduos. El contenido orgánico se encuentra en un rango de 0.2 al 2 % presentando valores más altos en dientes deciduos.

Durante su desarrollo, la matriz del esmalte contiene una relación de aminoácidos y complejo de proteínas-polisacáridos, así mismo se han encontrado lípidos con trazas de iones de azúcares de citrato y lactato y se ha logrado la identificación de triglicéridos y colesterol; el porcentaje remanente es agua. Cuando se informa de la composición, es preciso recordar los efectos de la dieta, la localidad geográfica, edad, estado del diente e historia clínica del individuo del cual proviene <sup>(6,8)</sup>.

El esmalte a diferencia de un recipiente agitado lleno de sales recristalizadas, no tiene una sola estequiometría química constante. Ha sido construido y formado genética y bioquímicamente de manera que puede ser tan variado como la naturaleza lo permita <sup>(6)</sup>.

Su desarrollo se hace en dos etapas, es decir, la formación de la matriz y la maduración. Si se afecta la formación de la matriz se producirá hipoplasia, si la maduración falta o es incompleta, se origina la hipocalcificación del mismo, que es una deficiencia en el contenido mineral <sup>(6)</sup>.

### 2.3 FLÚOR

Marggraf en 1768 y Scheele en 1771 realizaron las primeras investigaciones encaminadas a la obtención del flúor por medio de la reacción entre el fluoruro de calcio y el ácido sulfúrico. En 1886 Moissan logró liberar el flúor gaseoso por primera vez a través de la electrólisis del ácido fluorhídrico en una celda de platino. La presencia de flúor en los materiales biológicos ha sido reconocida desde 1803, cuando Morichini demostró la presencia de este elemento en dientes de elefantes fosilizados. Actualmente se reconoce que el flúor es un elemento relativamente común, en el estado combinado representa alrededor del 0.065 por ciento en peso de la corteza de la tierra. Es el trigésimo elemento químico más abundante. Debido a su marcada electronegatividad y reactividad, el flúor no aparece libre en la naturaleza. El mineral más importante que lo contiene es el fluorspat (CaF<sub>2</sub>)<sup>(1,9,10,11,12,13)</sup>.

El fluoruro es absorbido en los pulmones o en el conducto gastrointestinal, en este último su absorción se produce en forma rápida, aproximadamente en un 40 por ciento durante los primeros 30 minutos y un 90 por ciento dentro de las 4 horas después de la ingestión. Típicamente, alrededor de un 10 a un 15 por ciento permanece sin ser absorbido y es excretado por las heces <sup>(1)</sup>.

### 2.3.1 MECANISMO DE ACCIÓN

Numerosos ensayos clínicos y estudios epidemiológicos han demostrado que la administración de fluoruro en seres humanos y animales condiciona reducciones significativas en el número de caries de los sujetos de la población expuesta. Actualmente se distingue entre los efectos que la utilización del fluoruro produce al actuar sobre el esmalte en formación, antes de que el diente erupcione, y los efectos producidos cuando el diente ya se encuentra erupcionado y en contacto con el medio oral.

La hipótesis del efecto cariostático preeruptivo del flúor se ha basado en la mayor resistencia de la molécula de fluorapatita, respecto de la hidroxiapatita, frente a la disolución producida por el ataque de los ácidos. La acción posteruptiva del flúor sobre el esmalte, se asocia principalmente, a la aplicación de formas tópicas de flúor como los dentífricos, geles y colutorios. Cuando el esmalte es expuesto a altas concentraciones de flúor (1000 ppm o más), se produce una precipitación de los iones calcio dando lugar a la formación de un compuesto altamente insoluble, el fluoruro de calcio.

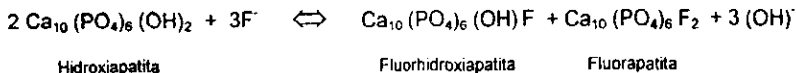
Aunque el mecanismo posteruptivo se ha atribuido a varios motivos, como la inhibición de los sistemas enzimáticos bacterianos de la placa, la inhibición del almacenamiento de polisacáridos intracelulares, la toxicidad directa sobre las bacterias o la reducción de la capacidad del esmalte para adsorber proteínas, el

principal efecto preventivo del flúor está relacionado con su influencia sobre los procesos de desmineralización y remineralización producidos en las inmediaciones de la superficie libre del esmalte. El flúor inhibe el proceso de desmineralización, su presencia en el medio frena la velocidad de progresión de las lesiones experimentales de caries y modifica su aspecto histológico aumentando el espesor de la lámina superficial, además, el flúor acelera significativamente la remineralización, catalizando las reacciones de precipitación de los iones calcio y fosfato <sup>(1,9)</sup>.

### 2.3.2 FLUORURACIÓN TÓPICA

La expresión tratamiento tópico con fluoruro se refiere al uso de sistemas que contengan concentraciones relativamente grandes de este elemento que se aplican en forma local, o tópicamente, a las caras erupcionadas de los dientes. Comprende el uso de enjuagatorios, dentífricos, pastas, geles y soluciones con fluoruro, que se aplican de distintas maneras.

El flúor presente en los líquidos orgánicos circulantes es depositado en tejidos calcificados o excretado metabólicamente. La manera en que es incorporado a la porción calcificada de los huesos y los dientes, es demostrada por la siguiente reacción de sustitución:



Su depósito en tejidos calcificados se produce preferentemente en las zonas de elevada actividad metabólica, con una íntima proximidad con los líquidos circulantes.

Como resultado, se encuentra una mayor concentración en los tejidos periósticos que en el hueso subyacente.

De lo anterior se desprende que la deposición de fluoruro en el esmalte ocurre a través de dos mecanismos: 1) la precipitación de una apatita fluorosustituida durante el depósito mineral sobre la matriz del esmalte y 2) la reacción del esmalte ya formado con el fluoruro presente en los líquidos internos que bañan las superficies dentarias <sup>(1,9)</sup>.

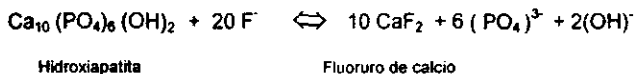
La presencia de elevadas concentraciones del mismo en el esmalte superficial sirve para hacer que la superficie del diente sea más resistente al desarrollo de caries dental. Los iones fluoruro, cuando se sustituyen en los cristales de hidroxiapatita, se adaptan más perfectamente en el cristal que los iones oxhidrilo. Este hecho, junto con el mayor potencial de unión del fluoruro, sirve para hacer a los cristales de apatita más compactos y estables. Tales cristales por lo tanto son más resistentes a la disolución ácida que se produce durante la iniciación de la caries. Este efecto se hace más evidente a medida que el pH del ambiente del esmalte disminuye por la pérdida momentánea de pequeñas cantidades de fluoruro del esmalte en disolución y su casi simultánea precipitación como fluorhidroxiapatita <sup>(1,6)</sup>.

### 2.3.3 REACCIÓN DEL ESMALTE CON DISTINTOS COMPUESTOS DE FLUORURO

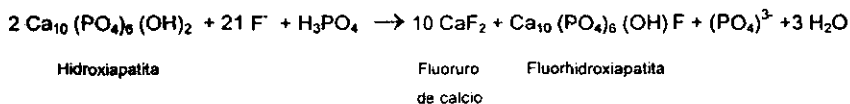
Las primeras investigaciones de las reacciones entre el fluoruro de sodio y el esmalte establecieron que la naturaleza de los productos de reacción era influida por una serie de factores como la concentración del fluoruro, el pH de la solución y la duración de la exposición. El empleo de soluciones de fluoruro ácidas favorecían notablemente la formación de fluoruro de calcio, soluciones neutras con concentraciones de fluoruro de 100 ppm o menos originaron la formación de

fluorapatita, principalmente, mientras que concentraciones más altas produjeron la formación de fluoruro de calcio.

Inicialmente se sugirió que la efectividad del fluoruro de sodio se debe a la formación de una fluorhidroxiapatita, investigaciones posteriores indicaron que el producto de reacción primario del esmalte con el fluoruro comprendía la transformación de la hidroxiapatita superficial en fluoruro de calcio.



Durante la década de los 60 Brudevold y col. <sup>(46,47)</sup> desarrollaron un tercer sistema de fluoruros para aplicación tópica, conocido como APF, o fluorurofosfato acidulado, en un esfuerzo por lograr mayor concentración de fluorhidroxiapatita y menor cantidad de fluoruro de calcio. Concluyeron que si el pH del sistema de fluoruro se acidulaba para aumentar la velocidad de reacción del fluoruro con la hidroxiapatita y que si se empleaba ácido fosfórico como acidulante con el objeto de aumentar la concentración de fosfato presente en el sitio de la reacción, sería posible obtener mayores cantidades de fluoruro depositado en el esmalte superficial en forma de fluorhidroxiapatita, con mínima formación de fluoruro de calcio y mínima pérdida de fosfato del esmalte. La reacción entre el APF y el esmalte puede escribirse como sigue:



Estudios posteriores <sup>(48,49)</sup> indicaron que los objetivos iniciales se lograban sólo de manera parcial ya que el principal producto de la reacción seguía siendo el fluoruro de calcio.

El depósito inicial de fluoruro de calcio en las caras dentarias no es de manera permanente, ya que se produce una rápida pérdida dentro de las primeras 24 horas <sup>(50)</sup>, mientras que el resto se pierde en unos 15 días. La velocidad de la pérdida varía de un individuo a otro <sup>(51)</sup> y es influida por la naturaleza del tratamiento con fluoruro.

La influencia cariostática de las aplicaciones tópicas de fluoruro puede deberse a aquella porción del mismo que es retenida de manera permanente en forma de fluorhidroxiapatita, y no a la acumulación transitoria de fluoruro de calcio. También se prueba que las aplicaciones tópicas son relativamente ineficaces, dado que cada aplicación trae como resultado un aumento pequeño en la cantidad de fluorhidroxiapatita en la porción superficial del esmalte. Por lo cual se observa que los máximos beneficios se obtienen sólo después de una serie de aplicaciones repetidas. Estas conclusiones se observan en la aplicación del fluoruro de sodio, fluoruro estannoso y el fluoruro-fosfato acidulado (APF) <sup>(1,9,10)</sup>.

#### 2.3.4 TÉCNICAS TÓPICAS DE APLICACIÓN DE FLUORURO.

Básicamente hay dos procedimientos para la administración de tratamientos tópicos de fluoruro, uno de los cuales se aplica generalmente a todas las soluciones de fluoruros y el otro a los geles.

En la aplicación de soluciones de fluoruro, es necesario que el tratamiento este precedido por una limpieza profunda para eliminar todos los depósitos superficiales.

Después de la profilaxis, se enjuaga perfectamente la boca, y luego se ubican en su posición los rollos y los portarollos de manera que se aisle la zona que se va tratar. Se seca entonces la zona a tratar con aire comprimido y se aplica la solución de fluoruro con aplicadores de algodón. La aplicación se realiza simplemente pasando el aplicador o "pintando" las distintas superficies dentarias con el algodón bien mojado con la solución de fluoruro. Este procedimiento se repite en forma continua y metódica, "cargando" repetidamente el aplicador de algodón, de manera de mantener las superficies dentarias mojadas durante todo el periodo del tratamiento. Al concluir este periodo, se retiran los rollos de algodón y los portarollos, se deja salivar al paciente y se repite el procedimiento en las otras zonas de la boca. Los dientes deben exponerse al fluoruro durante 4 minutos para lograr los máximos beneficios cariostáticos.

Para la aplicación de los geles, es fundamental que el tratamiento se haga después de una minuciosa limpieza. Se ha sugerido el empleo de cubetas de plástico como técnica más conveniente. Una cubeta adecuada debe cubrir toda la dentadura del paciente; debe tener también suficiente profundidad como para llegar más allá del cuello del diente y contactar con la mucosa alveolar. Una vez hecha la limpieza inicial, se permite que el paciente se enjuague, y se secan los dientes que se van a tratar con aire comprimido. Se coloca una cantidad de gel en la porción profunda de la cubeta y se calza sobre todo el arco. Se debe procurar que el gel alcance a todos los dientes y fluya por los espacios interproximales. Se recomienda que las cubetas se mantengan en su sitio durante el periodo de 4 minutos que dura el tratamiento.

La técnica original de "Knutson" para aplicación tópica de fluoruro de sodio consistía en una serie de 4 aplicaciones a intervalos de una semana, se sugería que esta serie de aplicaciones se realizaran a los 3, 7, 10 y 13 años de edad <sup>(1,10,11)</sup>.



## 2.4 OLIGOELEMENTOS

### 2.4.1 GENERALIDADES

Este término se utiliza para las sustancias que se encuentren en cantidades muy pequeñas en los sistemas biológicos( microgramos o miligramos por gramo de tejido). Los oligoelementos pueden clasificarse en tres categorías:

- ◆ Los elementos que no desempeñan un papel biológico y que sólo están presentes en los tejidos como contaminantes adventicios del ambiente (cadmio, plomo, mercurio, arsénico).
- ◆ Los elementos esenciales para los procesos enzimáticos de células vivas (hierro, zinc, cobre, molibdeno, manganeso, selenio, cromo).
- ◆ Los elementos que probablemente son nutrientes esenciales pero cuya acción no está clara (flúor, bromo, bario, estroncio).

En cuanto a su distribución en el diente:

- ◆ Con concentración superior en la superficie del esmalte que en el interior (flúor, plomo, zinc, hierro, antimonio).
- ◆ Con una menor concentración en la superficie que en el interior (sodio, magnesio, carbonato).
- ◆ Distribución aproximadamente uniforme (estroncio, cobre, aluminio, potasio).

Los iones que se fijan con rapidez en el cristal de apatita tienden a acumularse en aquellas partes del diente que están expuestas a los fluidos corporales durante mayor tiempo, o sea, el esmalte exterior que está bañado en fluido después de la mineralización y antes de la erupción, y en saliva, alimentos y bebidas después de la erupción. El cemento exterior y la dentina interior también están en contacto con fluido tisular durante toda su vida y tienden a concentrar huellas de elementos, de la

misma forma que el esmalte exterior. Si, por otra parte, un ion se disuelve rápidamente de los tejidos calcificados por la acción de los fluidos corporales (citrato, carbonato, magnesio, sodio) entonces las capas externas que están más vigorosamente bañadas por estos fluidos serán las que contengan estos constituyentes en menor cantidad <sup>(4,6,8,9)</sup>.

Las diferencias en la composición y distribución del esmalte se explica por el continuo intercambio fisicoquímico entre la superficie adamantina y el líquido bucal, así como los cambios que se presentan durante la disolución del esmalte, esto origina la discrepancia que existe en la concentración de los elementos traza a medida que se avanza de las capas externas a las internas en esmalte.

Es importante señalar que los elementos traza, tanto esenciales como no esenciales es ideal que se encuentren en concentraciones óptimas en la dieta, ya que un exceso puede ser tóxico y la insuficiencia conducir a una alteración del metabolismo <sup>(1,14,15,16,17)</sup>.

La búsqueda de una explicación al papel que desempeñan los elementos traza en los tejidos dentales, ha propiciado que se lleven a cabo un gran número de investigaciones. Loose y col. (1974) en un estudio para determinar la presencia y variación de elementos traza y su influencia sobre el proceso carioso en el esmalte, encontraron por lo menos 41 elementos incorporados al mismo. En el análisis de los elementos restantes, con esmalte total obtenido de premolares, se encontraron 35 elementos en concentraciones mensurables mientras que 31, tenían concentraciones por debajo de los límites detectables a través del procedimiento utilizado. Brudevold y Soremark (1967), encontraron que el esmalte superficial difiere considerablemente en cuanto a contenido de elementos traza con respecto al esmalte más profundo <sup>(41,42)</sup>.

Los oligoelementos pueden ayudar a reducir la frecuencia de caries ya sea modificando la solubilidad del diente, cambiando la morfología dentaria o bien alterando el tamaño o la forma de la red cristalina y por lo tanto de la estructura adamantina. Actúan como una barrera impidiendo la difusión de los iones hidronio ( $H_3O^+$ ), reduciendo la velocidad de disolución, a la vez que retardan la desmineralización del esmalte; además pueden influir en la ecología microbiana de la placa, ya sea inhibiendo o promoviendo el crecimiento de bacterias productoras de caries <sup>(4,6)</sup>.

#### 2.4.2 CADMIO

Se presenta generalmente asociado con minerales de zinc y plomo y pueden encontrarse trazas en el carbón mineral y petróleo. Forma aleaciones que funden fácilmente con cobre, níquel, oro, plata, bismuto y aluminio, empleadas para recubrir otros materiales, hacer electrodos para soldaduras, etc. Se utiliza también para electrodos de baterías alcalinas, como estabilizador de plásticos, en la elaboración de lámparas fluorescentes, semiconductores, fotoceldas y joyería. Diversos compuestos de este elemento se utilizan como fungicidas, insecticidas; en la industria fotográfica, para elaborar pigmentos de uso en vidrio, cerámica, textiles y papel <sup>(18)</sup>.

Ingresa al organismo por ingestión (población general), y por la inhalación (trabajadores). La ingesta ocurre a través de agua o alimentos contaminados. Debido a su ubicuidad en los ambientes urbanos, se calcula que se ingieren entre 15-75 microgramos de Cd/día. Sólo el 6 por ciento del cadmio ingerido es absorbido. Se encuentra en la sangre tanto en los glóbulos rojos como en el plasma unido a proteínas ricas en grupos sulfhidrilos, su vida media en la sangre es de 77 días, en tanto que la vida media corporal total, se ha calculado entre 10-30 años. En autopsias se ha encontrado su acumulación en la corteza renal con valores que van

de cero en los recién nacidos hasta 30-70  $\mu\text{g/g}$  de tejido en adultos mayores de 50 años <sup>(19)</sup>.

El cadmio al igual que otros metales (cobre, zinc y mercurio), se une a las proteínas intracelulares que contienen un elevado número de grupos sulfhidrilos (SH). Estas proteínas se denominan metalotioneinas y su síntesis se incrementa con la presencia de estos metales. En los sujetos con exposición prolongada a este elemento, la metalotioneina se encuentra tanto en plasma como en orina. Su toxicidad depende de la capacidad para interferir los procesos fisiológicos que requieran de cobre, zinc o hierro. Se acumula en testículo y próstata, existen evidencias epidemiológicas de una mayor incidencia de cáncer prostático en la población ocupacionalmente expuesta <sup>(18,20,21,22)</sup>.

Se han realizado estudios para demostrar las interacciones del cadmio y otros metales traza con respecto a la caries dental. El estudio se ha realizado en dientes de ratas y muestra la formación de hidroxiapatita en el cepillado de cristales in vitro. En el caso de caries profundas, muestran en el fondo tres veces más cadmio en el esmalte de premolares que los casos de caries superficiales. Pero se han encontrado incertidumbre en las posibles interacciones con cobre, manganeso, plomo y selenio. En niños, cuyo ambiente se encuentra contaminado con abundantes metales pesados (cadmio y plomo) hay un incremento de la caries dental, y un retraso en la erupción del diente, comparado con una comunidad parecida pero con niveles bajos de contaminación <sup>(23,25)</sup>.

#### 2.4.3 CROMO

El cromo está ampliamente distribuido en la corteza terrestre, su concentración promedio es de 125 mg/kg. No se presenta en la naturaleza en forma de metal libre sino como cromita (cromato de calcio, cromato hidróxido de zinc, cromato de

estroncio, cromato de bario, acetato crómico y dicromato de sodio) o mineral de hierro-cromo ( $\text{FeOCr}_2\text{O}_3$ ). En condiciones naturales se presenta casi siempre en forma trivalente y prácticamente todo el cromo hexavalente que existe es generado por las actividades humanas. El cromo VI es un agente oxidante que en contacto con material orgánico se reduce a cromo III.

Se utiliza para producir aleaciones de ferrocromo utilizadas como aditivos en la producción de acero inoxidable, aceros especiales y otras aleaciones; en la manufactura de materiales refractarios empleados en la elaboración de hierro y acero, refinación de aleaciones no ferrosas, fabricación de vidrio y cemento, y en la industria química para producir ácido crómico para cromado y otros compuestos para la elaboración de pigmentos, baterías de alta temperatura, fungicidas, curtiduría, etc. (18,25)

El cromo es un elemento esencial traza para el organismo humano. Se requiere para el metabolismo de los ácidos grasos, también actúa como cofactor en el metabolismo de la glucosa y en otros sistemas enzimáticos (18). Unidos a la niacina forma el factor de tolerancia a la glucosa y se encuentra en grandes concentraciones en los ácidos ribonucleicos (RNA). El cromo VI se absorbe fácilmente a través de las membranas celulares y a nivel del retículo endoplasmático se reduce a cromo III. Este cromo trivalente tiene la capacidad de formar complejos estables con las macromoléculas celulares. El cromo trivalente se distribuye por varios órganos, principalmente al sistema retículo endotelial, hígado, bazo y huesos. La ingestión de pequeñas dosis de cromo hexavalente por largo tiempo puede determinar la aparición de erosión y color amarillo de los dientes (6,26,27).

Se absorbe pobremente por el tracto gastrointestinal. Diariamente se ingieren de 200 a 290 ng de los que 63-78 se eliminan por las heces y 100-160 por la orina. La concentración hepática de cromo es alta en la niñez y declina hasta niveles muy bajos después de los 20 años de edad (18).

#### 2.4.4 MAGNESIO

Un varón adulto tiene alrededor de 16.7 mmol/kg (400 mg/kg.) de magnesio en su organismo, del cual casi la mitad se encuentra en el hueso. Es el segundo catión intracelular más abundante (el potasio es el principal); su concentración en las células esta alrededor de 7.5 mmol/kg y un tercio de esta cantidad se encuentra unido a proteínas.

Ejerce papeles importantes en muchas reacciones enzimáticas. Los iones de magnesio y de calcio tienen efectos estabilizantes similares en membranas excitables, pero en la mayor parte de otros aspectos son antagónicos (liberación del transmisor de las terminales nerviosas, liberación de la secreción de muchas glándulas, y mecanismo contráctil del músculo).

Se estima que el requerimiento diario es de 150 mg en niños menores de 10 años, 200-300 mg para niños mayores, 300-400 mg en varones (con ingestión diaria de proteínas de 60-80 g) y 300 en mujeres. Estas necesidades aumentan cuando la ingestión de proteínas es mayor. Una dieta media proporciona alrededor de 400 mg/kg de los cuales se absorbe una tercera parte, principalmente en duodeno y yeyuno. La carencia de este elemento suele ser común en caso de diarrea prolongada, el kwashiorkor o alcoholismo prolongado <sup>(28)</sup>.

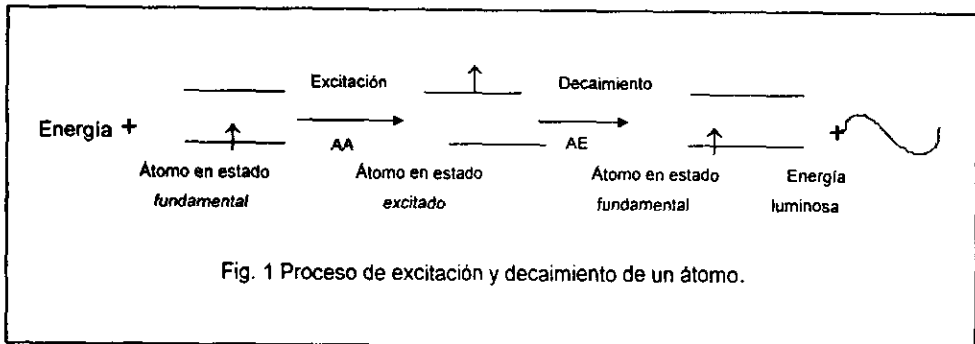
En el esmalte de dientes, tiene el mismo patrón de distribución que el carbonato y el sodio; la concentración cerca de la unión esmalte-dentina puede ser hasta tres veces la de la capa superficial. En los diente que no han brotado se encuentra el mismo patrón de distribución que el carbonato, sugiriendo que la distribución del magnesio no es un resultado de los cambios posteriores al brote <sup>(29,30,31,32,33,34,35)</sup>.

## 2.5 ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

### 2.5.1 EL ÁTOMO Y LA ESPECTROSCOPIA ATÓMICA

El átomo está constituido por un núcleo rodeado por electrones. Cada elemento tiene un número determinado de electrones que esta directamente relacionado con el núcleo atómico y que conjuntamente con él, da una estructura orbital, que es única para cada elemento. Los electrones ocupan posiciones orbitales en una forma predecible y ordenada. La configuración más estable y de más bajo contenido energético, es conocida como estado fundamental y es la configuración orbital normal para el átomo.

Si a un átomo se le aplica energía de determinada longitud de onda, esta será absorbida por él e inducirá que el electrón exterior sea promovido a un orbital menos estable o estado excitado, este proceso se conoce como Absorción Atómica (AA). Como este estado es inestable, el átomo en forma inmediata y espontánea retornará a su configuración fundamental. El electrón por lo tanto regresará a su orbital inicial estable y emitirá energía radiante equivalente a la cantidad de energía inicialmente absorbida en el proceso de excitación a este proceso se conoce como Emisión Atómica (AE). El proceso se ilustra en la fig. 1



La longitud de onda de la energía radiante emitida está directamente relacionada a la transición electrónica que se ha producido, puesto que un elemento dado tienen una estructura electrónica única que lo caracteriza; la longitud de onda de la radiación emitida es una propiedad específica y característica de cada elemento.

La característica de interés en las medidas por absorción atómica, es el monto de radiación, a la longitud de onda resonante, que es absorbida, cuando la radiación pasa a través de una nube atómica. Conforme el número de átomos se incrementa en el paso de la radiación, la cantidad que de ésta será absorbida se incrementará en una forma predecible. Se puede efectuar una determinación cuantitativa del analito presente, midiendo la cantidad de radiación absorbida.

La nube de átomos requerida para las mediciones en absorción atómica, es producida por la adición de suficiente energía térmica a la muestra por disociar y transformar los compuestos químicos en átomos libres <sup>(36,37)</sup>.

## **2.6 ESPECTROSCOPIA ATÓMICA ELECTROTÉRMICA**

La búsqueda de formas para mejorar la sensibilidad en absorción atómica recientemente condujo al uso del horno de grafito. Con este accesorio se pueden determinar elementos en concentraciones 1000 veces más bajas que las que se pueden detectar con llama. La extrema sensibilidad de la absorción atómica con horno de grafito la hace ideal para aplicaciones en análisis de ultra trazas (ppb). Además, como sólo se requiere de unos pocos microlitros de muestra ( 20  $\mu$ l ), se puede aplicar esta técnica en situaciones en las que se disponga de una pequeña cantidad de ella.



El horno de grafito es un accesorio de muestreo sin llama. La energía requerida para la atomización es obtenida aplicando una diferencia de potencial eléctrico a través de un tubo de grafito dentro del cual se ha colocado la muestra. El horno esta alineado en el área de muestreo del espectrofotómetro en forma tal que la radiación de la lámpara espectral pasará por el centro del tubo. El vapor atómico generado por la muestra cuando el horno esta encendido absorberá entonces radiación de la lámpara. Como en los métodos de alta sensibilidad, la señal de la absorción es transitoria, se produce una señal en forma de pico conforme se eleva la concentración en el horno. Se puede usar generalmente la altura de la banda para la cuantificación, aunque en algunos casos el área bajo la curva ofrece ventajas <sup>(21)</sup>.

El horno de grafito es el más importante de los recursos de muestreo de alta sensibilidad para absorción atómica. La fuente de poder programable suministra un control más versátil y preciso sobre las condiciones de calentamiento. Es aplicable a una gran variedad de tipos de muestras y en algunos casos se pueden analizar directamente muestras sólidas sin una previa disolución. Para muchos elementos los límites de detección están en la región de los picogramos y por esta técnica es posible la cuantificación de 64 elementos <sup>(37,38)</sup>.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA



### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El aumento de casos de caries dental en la población infantil, es un asunto de suma importancia, por los costos que implica su tratamiento, sobre todo en personas de bajos recursos que no cuentan con los ingresos suficientes para su tratamiento en especialistas privados y por lo tanto acuden a los centros públicos de salud.

Una de las principales acciones que se utilizan para prevenir la caries, es la aplicación tópica en el diente, pero se tiene el problema de la dosis a la cual se debe administrar, para evitar una fluorosis y por otro lado lograr una acción profiláctica efectiva a fin de evitar la acción de los ácidos de las bacterias que originan una caries. En trabajos realizados en la Unidad Universitaria de Investigación en Cariología de la F.E.S. Zaragoza, se realizó la evaluación de la efectividad de diferentes agentes fluorurados, en términos de medir su capacidad para depositar fluoruro en el esmalte del diente y la cuantificación de varios elementos traza, por la técnica de llama directa y de acuerdo con la técnica utilizada en la toma de muestras, no se ha podido obtener un volumen suficiente y es necesario hacer diluciones grandes para poder realizar los análisis de las mismas (7.9.10,11,12,13)

Este trabajo es una continuación del realizado por Ortiz en 1994, empleando las mismas muestras biológicas tomadas y en el cual se pretende observar la efectividad del flúor aplicado tópicamente en el esmalte del diente, a fin de prevenir la acción del ataque ácido.

Por ello se plantea la cuantificación de los elementos traza u oligoelementos cadmio, cromo y magnesio, en relación a la profundidad de la biopsia realizada, antes y después de la aplicación del agente fluorurado correspondiente (flúor fosfato acidulado al 1.23 % en gel, fluoruro de sodio al 2 % en solución acuosa y un barniz fluorurado al 5 %), utilizando la técnica de espectroscopia de absorción atómica electrotérmica, ya que esta técnica permite el empleo de volúmenes pequeños de muestra (20 microlitros), además de obtener límites de detección menores que los que permite la técnica de llama y con esto contribuir a la determinación de la estructura mineralizada del esmalte.



OBJETIVOS



#### 4. OBJETIVOS

**Objetivo general:**

Evaluar la concentración de los elementos cadmio, cromo y magnesio presente en el esmalte dental humano antes y después de la aplicación tópica de tres agentes fluorurados.

**Objetivos específicos:**

1. Comparación de las concentraciones de los elementos cadmio, cromo y magnesio en muestras de esmalte de diente antes y después de la aplicación tópica *in vivo* de: fluorofosfato acidulado al 1.23 por ciento en gel; fluoruro de sodio al 2 por ciento en solución acuosa y un barniz fluorurado al 5 por ciento formulado en la F.E.S. Zaragoza.
2. Evaluar la resistencia del esmalte dental, al ataque ácido después de la aplicación tópica *in vivo* de: fluorofosfato acidulado al 1.23 por ciento en gel; fluoruro de sodio al 2 por ciento en solución acuosa y un barniz fluorurado al 5 por ciento formulado en la F.E.S. Zaragoza.



HIPÓTESIS



## 5. HIPÓTESIS

La aplicación de un compuesto fluorurado en el esmalte de dientes permitirá una protección adecuada a la acción de los ácidos e impedirá una extracción mayor de los elementos cadmio, cromo y magnesio.





EQUIPO Y MATERIAL



## 6. EQUIPO Y MATERIAL

### 6.1 Equipo e Instrumentos

- Espectrofotómetro de absorción atómica *Perkin Elmer Mod. 3100*.
- Balanza analítica *Sartorius 2842*.
- Horno de grafito *Perkin Elmer Mod. HGA-400*.
- Lámparas de cátodo hueco de calcio, cromo cadmio y magnesio *Intensitron de Perkin Elmer*.

### 6.2 Material

#### 6.2.1 Material diverso

- Tubos de grafito con cubierta pirolítica marca *Perkin Elmer*.
- Micropipetas *Jencons, Sealpette*.
- Puntillas desechables para micropipeta.

#### 6.2.2 Material común de laboratorio

- Matraces volumétricos de 10, 50, 100 mL marca *Pyrex*
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 5, 10, mL marca *Pyrex*

- Bureta de 10 y 100 mL marca *Pyrex*
- Vasos de precipitados de 30, 50, 100, 250 y 2000 mL marca *Pyrex*
- Pipetas graduadas de 1, 2, 5 y 10 mL marca *Pyrex*
- Frascos de polietileno

### 6.3 Reactivos y Soluciones

Reactivos grado analítico. Las soluciones preparadas para este análisis deben almacenarse en recipientes de polietileno.

#### 6.3.1 Reactivos

- Gas argón grado alta pureza o cromatográfico.
- Agua libre de metales. Utilícese agua libre de metales para preparar todos los reactivos y como agua de dilución .
- Ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) *J. T. Baker*.
- Solución estándar certificada de: Cromo, Calcio, Cadmio y Magnesio *J. T. Baker*.

#### 6.3.2 Soluciones

- Agua acidulada (con  $\text{HNO}_3$ ) al 0.2 por ciento.



DESARROLLO EXPERIMENTAL



## 7. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 7.1 METODOLOGÍA

#### 7.1.1 GENERALIDADES

La obtención de las muestras biológicas antes y después de la aplicación del agente fluorurado fue realizada por Ortiz en 1994, y se basó en la técnica de biopsia de esmalte dental establecida por De la Cruz y col. en 1992 <sup>(40)</sup>. Se tomaron muestras de esmalte por la técnica de ataque ácido in vivo, en una muestra poblacional de 42 escolares (14 para cada uno de los tres tratamientos), de la faja etaria de 7 a 12 años y que presenten los dos dientes anteriores permanentes, a uno de los cuales se le tomó una biopsia de esmalte antes de la aplicación del tratamiento correspondiente, y otra sobre el diente contiguo una semana después del tratamiento.

#### 7.1.2 Preparación de las muestras.

- Tomar 200 microlitros de cada una de las muestras y transferirlas a un matraz volumétrico de 10 mL y llevar a volumen con agua desionizada.

### 7.1.3 Desarrollo de los métodos para la determinación de cadmio, cromo y magnesio.

- Se instaló en el instrumento una lámpara de cátodo hueco para el metal deseado y se estableció el dial aproximado de la longitud de onda para cada elemento analizado.
- Se fijó la anchura de la rendija.
- Se encendió el instrumento, y se aplicó la corriente adecuada a la lámpara de cátodo hueco y se dejó calentar el aparato hasta que se estabilizó la fuente de energía.
- Se reajustó la corriente después del calentamiento cuando fue necesario.
- Se optimizó la longitud de onda mediante el ajuste del dial de longitudes de onda hasta que se obtuvo la ganancia óptima de energía.
- Se montó y se alineó el dispositivo del horno. Se seleccionó el flujo apropiado de gas inerte o de protección y de agua de enfriamiento.
- Se corrieron blancos electrónicos sin muestra hasta que se logró la estabilización del instrumento.
- Se inyectó una porción alícuota de agua acidulada como blanco de reactivos y se puso a cero el instrumento. Se repitió la acción hasta que se logró una reproducibilidad en las lecturas.
- Se inyectó una porción adecuada de cada solución patrón. Se analizó cada solución patrón por triplicado para comprobar la precisión del método (ver anexo No. 3).
- Se corrieron las muestras por triplicado para verificar la precisión de las lecturas.

#### 7.1.4 Cálculo de la profundidad de la biopsia.

La cuantificación de la profundidad de biopsia se realizó nuevamente ya que no existe reporte de datos de las mismas en el trabajo anterior (Ortiz 1994). La cantidad de esmalte extraído es calculada a partir de la concentración de calcio cuantificado, asumiendo que la concentración característica de calcio en el esmalte de diente es de 37.4 por 100 y dado que existe una relación directa en cuanto a la profundidad de las biopsias y el volumen de esmalte extraído, es posible su cálculo mediante la fórmula siguiente:

$$\mu m = w e / \delta A$$

donde:

$\mu m$  = Profundidad de la biopsia en micrómetros.

$w e$  = Peso del esmalte extraído.

$\delta$  = Densidad del esmalte.

$A$  = Área de esmalte expuesta.

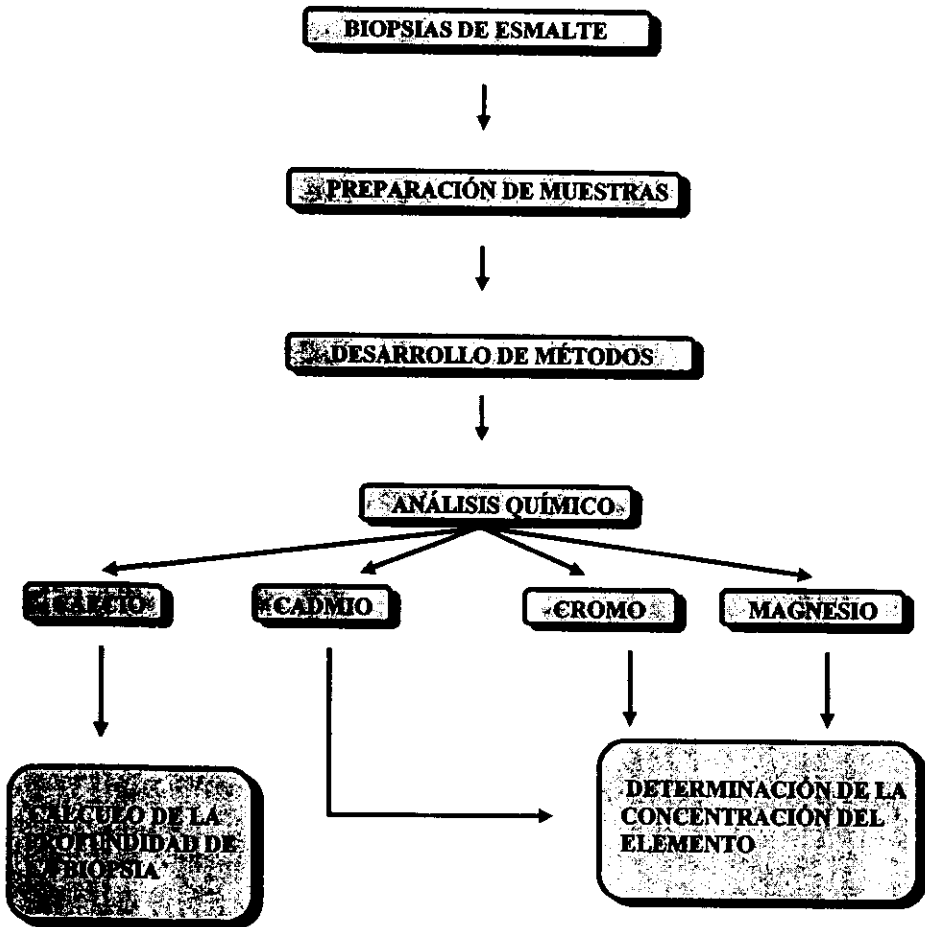


DIAGRAMA DE FLUJO





8. DIAGRAMA DE FLUJO





## RESULTADOS



## 9. RESULTADOS

### 9.1 GENERALIDADES

La Tabla 1 nos muestra los valores medios obtenidos, de las variables manejadas: diferencia profundidad de biopsia (DPB), diferencia de contenido de cadmio (DCCd), diferencia de contenido de cromo (DCCr) y diferencia de contenido de magnesio (DCMg) en el presente estudio antes y después de aplicar los tres agentes ensayados.

En los resultados se observa primeramente que el flúor fosfato acidulado al 1.23 % (APF) en gel, presenta una (DPB) de -1.6464 micras con una desviación estándar de 0.4185, DCCd de -0.4660 ppm y una desviación estándar de 0.0800, DCCr de -1.8222 ppm con una desviación estándar de 0.2582 y magnesio DCMg de -258.4285 ppm con desviación estándar de 84.1722.

En seguida tenemos al fluoruro de sodio en solución acuosa (NaF), el cual muestra una DPB de -0.7642 micras con una desviación estándar de 0.1936, DCCd de -0.1420 ppm y una desviación estándar de 0.0414, DCCr de -1.4160 ppm con una desviación estándar de 0.1886, DCMg de -205.2414 ppm y una desviación estándar de 66.0509.

Por último tenemos al barniz fluorurado al 5 % (BF) elaborado en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, con una DPB de -0.7700 ppm con una desviación estándar de 0.0.2096, una DCCd igual a -0.2986 ppm con una desviación estándar de 0.0712, una DCCr de -1.4382 con una desviación estándar de 0.1.6919 una DCMg de -252.3564 y una desviación estándar de 0.59.1760. Estos datos se representan en las Gráficas 1-4, en las cuales se observa con más claridad las diferencias en el resultado de la aplicación de cada uno de los tres agentes fluorurados, obteniéndose un mejor efecto por parte del flúor fosfato acidulado, seguido por el barniz fluorurado y una menor protección por parte del fluoruro de sodio en solución acuosa.

**TABLA 1 DIFERENCIA DE MEDIAS ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN TÓPICA DE TRES AGENTES FLUORURADOS**

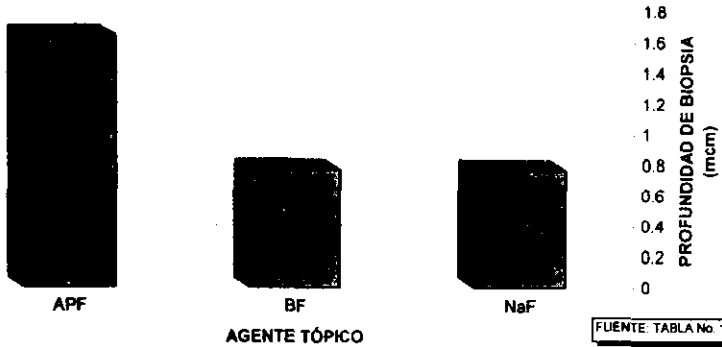
VARIABLE	n	FLUOR FOSFATO ACIDULADO (1.23%)		FLUORURO DE SODIO (2%)		BARNIZ FLUORURADO 5%)	
		MEDIA	D. EST.	MEDIA	D. EST.	MEDIA	D. EST.
DPB (n/gras)	14	-1.6464	0.4185	-0.7642	0.1936	-0.7700	0.2096
DCCd (µg/g)	14	-0.4660	0.0800	-0.1420	0.0414	-0.2986	0.0712
DCCr (µg/g)	14	-1.8222	0.2582	-1.4160	1.1886	-1.4382	1.6919
DCMg (µg/g)	14	-282.4285	84.1722	-205.4214	66.0509	-252.3564	59.1760

DPB= Diferencia profundidad de biopsia, DCCd= Diferencia contenido de cadmio

DCCr= Diferencia contenido de cromo DCMg= Diferencia contenido de magnesio

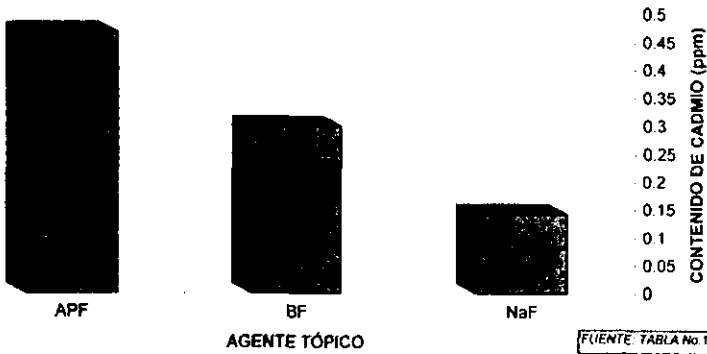
n= Número de datos

**GRAF. 1 DIFERENCIA PROFUNDIDAD DE BIOPSIA, DESPUES DE APLICAR TRES AGENTES FLUORURADOS**



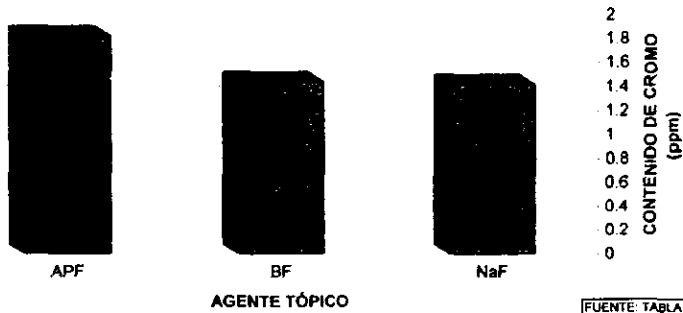
APF= Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %  
 NaF= Fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 %  
 BF =Barniz fluorurado al 5%

**GRAF. 2 DIFERENCIA CONTENIDO DE CADMIO, DESPUES DE APLICAR TRES AGENTES TOPICOS FLUORURADOS**



APF= Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %  
 NaF= Fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 %  
 BF =Barniz fluorurado al 5%

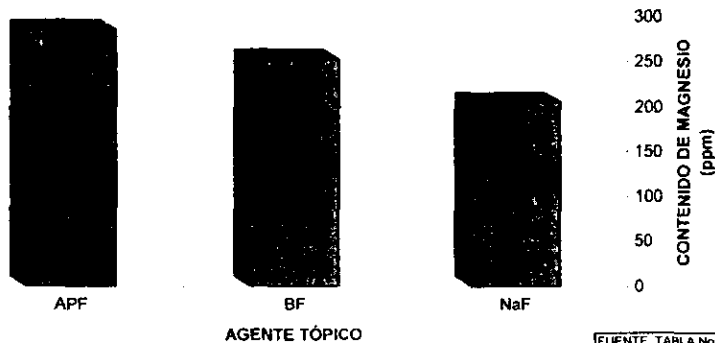
GRAF. 3 DIFERENCIA CONTENIDO DE CROMO DESPUES DE APLICAR TRES AGENTES FLUORURADOS



FUENTE: TABLA No. 1

APF = Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %  
 NaF = Flúoruro de sodio en solución acuosa al 2 %  
 BF = Barmiz fluorurado al 5%

GRAF. 4 DIFERENCIA CONTENIDO DE MAGNESIO, DESPUES DE APLICAR TRES AGENTES FLUORURADOS



FUENTE: TABLA No. 1

APF = Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %  
 NaF = Flúoruro de sodio en solución acuosa al 2 %  
 BF = Barmiz fluorurado al 5%

Para establecer si existe una diferencia significativa por la aplicación de cada uno de los tres agentes en cuanto a incrementar la protección del esmalte del diente al ataque ácido, mostrado por la profundidad de biopsia y el contenido de cadmio, cromo y magnesio extraídos antes y después de la aplicación del tratamiento correspondiente se realizó un análisis de medias pareadas.

### ANÁLISIS DE MEDIAS PAREADAS

Se realizó un análisis estadístico de medias pareadas con auxilio del paquete estadístico *Statistical Analysis System* para establecer si existe una diferencia significativa entre la cantidad de metal extraído (cadmio, cromo y magnesio) antes y después de la aplicación del agente fluorurado correspondiente. Para tal efecto se realizó la siguiente contraste de hipótesis:

$H_0: A-D = 0$  No existe efecto de tratamiento antes y después de la variable de respuesta.

$H_a: A-D \neq 0$  Si existe efecto de tratamiento de antes y después sobre la variable de respuesta.

Variable de respuesta: Profundidad de biopsia, o contenido de cadmio, cromo y magnesio.

Con el criterio de rechazar  $H_0$  si  $|t_0| > t_{\alpha/2, n-1}$

Dado a un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$   $t_{0.025, 13} = 2.1604$

TABLA 2 COMPARACIÓN DE MEDIAS DE PROFUNDIDAD DE BIOPSIAS

TRATAMIENTO	OBS	DIFERENCIAS DE MEDIAS	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	t <sub>0</sub>	SIGNIFICANCIA
APF	14	- 1.6464	0.4185	0.0017	*
NaF	14	- 0.7700	0.2096	0.0028	*
BF	14	- 0.7642	0.1936	0.00217	*

NaF = Fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 %, APF = Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %

BF = Barniz fluorurado al 5 %

\* Valor estadísticamente significativo

TABLA 3 COMPARACIÓN DE MEDIAS DE CONTENIDO DE CADMIO

TRATAMIENTO	OBS	MEDIA DE DIFERENCIAS	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	t <sub>0</sub>	SIGNIFICANCIA
APF	14	- 0.2986	0.0712	0.0011	*
NaF	14	- 0.1420	0.0414	0.0045	*
BF	14	- 0.4660	0.0800	0.0001	*

NaF = Fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 %, APF = Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %

BF = Barniz fluorurado al 5 %

\* Valor estadísticamente significativo

TABLA 4 COMPARACIÓN DE MEDIAS DE CONTENIDO DE CROMO

TRATAMIENTO	OBS	MEDIA DE DIFERENCIAS	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	t <sub>0</sub>	SIGNIFICANCIA
APF	14	- 1.8221	0.2582	0.0001	*
NaF	14	- 1.4160	0.1886	0.0001	*
BF	14	- 1.4382	0.1173	0.0001	*

NaF = Fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 %, APF = Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %

BF = Barniz fluorurado al 5 %

\* Valor estadísticamente significativo



TABLA 5 COMPARACIÓN DE MEDIAS DE CONTENIDO DE MAGNESIO

TRATAMIENTO	DES. DIFERENCIAS	MEDIA DE DIFERENCIAS	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	t <sub>0</sub>	SIGNIFICANCIA
APF	14	- 258.4285	84.1722	0.0089	*
NaF	14	- 205.4114	66.0509	0.0083	*
BF	14	- 252.3564	59.1760	0.0009	*

NaF = Fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 %, APF = Fluor fosfato acidulado en gel al 1.23 %

BF = Barniz fluorurado al 5 %

\* Valor estadísticamente significativo

La Tabla 2 nos muestran los valores para " t<sub>0</sub> ", que expresan la probabilidad de que en cada uno de los tratamientos ensayados, exista diferencia en el efecto de antes y después de la aplicación del agente fluorurado correspondiente. De tal forma que observamos que para la variable profundidad de biopsia, en los tres tratamientos, se rechaza la hipótesis nula, es decir si existe diferencia estadísticamente significativa, de la variable de respuesta en el efecto de antes y después de la aplicación del agente fluorurado.

En la Tabla 3 observamos la comparación de medias para la variable contenido de cadmio en la que, de igual manera, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna, es decir si existe diferencia en el efecto de antes y después.

De igual forma, las Tablas 4 y 5 muestran los valores de " t<sub>0</sub> ", para las dos variables restantes analizadas (CCr y Cmg) y de las cuales se extrae que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, y por lo cual se puede concluir que si existe diferencia estadística en la variable de respuesta del efecto de antes y después de la aplicación de los tres tratamientos.

Por último se realizó un análisis de covarianza para determinar la diferencia significativa existente entre los tres tratamientos, para la variable profundidad de biopsia, contenido de cadmio, contenido de cromo y contenido de magnesio. Con la finalidad de comprobar si la diferencia entre medias de grupos es significativa, y después de haber ajustado los datos iniciales de la variable de respuesta y eliminar los efectos de la covariable.

ANÁLISIS DE COVARIANZA

La hipótesis nula establecida para la variable estudiada fue: la media de ( i ) es igual a la media de ( j ).

$$H_0: \text{Media de } ( i ) = \text{Media de } ( j )$$

TABLA 6 COMPARACIÓN DE TRATAMIENTOS PROFUNDIDAD DE BIOPSIA

Para $T$ Ho: $\text{Media}(i) = \text{Media}(j) / P >  T $			
i \ j	1	2	3
1		0.0020	0.1545
2	0.0020		0.0742
3	0.1545	0.0742	

1. Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %
2. Fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 %
3. Barniz fluorurado al 5 %

**TABLA 7 COMPARACIÓN DE TRATAMIENTOS DE CONTENIDO DE CADMIO**

Para	H <sub>0</sub> : Media (i) = Media (j) / P > T	T
1		0.3693
2	0.3693	0.8621
3	0.5148	0.8621

1. Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %
2. Fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 %
3. Barniz fluorurado al 5 %

**TABLA 8 COMPARACIÓN DE TRATAMIENTOS DE CONTENIDO DE CROMO**

Para	H <sub>0</sub> : Media (i) = Media (j) / P > T	T
1		0.2341
2	0.2341	0.9912
3	0.2320	0.9912

1. Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %
2. Fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 %
3. Barniz fluorurado al 5 %

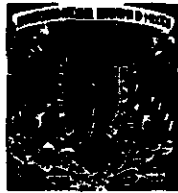
**TABLA 9 COMPARACIÓN DE TRATAMIENTOS DE CONTENIDO DE MAGNESIO**

Para	H <sub>0</sub> : Media (i) = Media (j) / P > T	T
1		0.6217
2	0.6217	0.9772
3	0.6055	0.9772

1. Flúor fosfato acidulado en gel al 1.23 %
2. Fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 %
3. Barniz fluorurado al 5 %

El criterio de aceptación de  $H_0$  fue si  $Pr > |T|$  es menor a 0.05. Se observa en la Tabla 6 que para la variable profundidad de biopsia si existe diferencia significativa entre el flúor fosfato acidulado y el barniz fluorurado, en tanto que para el fluoruro de sodio no existe diferencia significativa.

Las Tablas 7-9 nos muestran los valores del análisis de covarianza para el contenido de cadmio, cromo y magnesio respectivamente, y en las cuales se observa que para estas tres variables estudiadas no existe diferencia significativa en cuanto a impedir una extracción mayor de la cantidad de estos metales.



DISCUSION DE RESULTADOS



## 10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 10.1 GENERALIDADES

El presente estudio no depende de diferencias entre grupos y es totalmente aleatorio, ya que el grupo experimental se tomó como grupo de referencia. Esto nos proporciona una covariable que representa el estado inicial del individuo experimental, antes de aplicar los tratamientos analizados y por lo mismo una interpretación más correcta de los resultados.

La hipótesis planteada inicialmente establece que la aplicación de un compuesto fluorurado en el esmalte de dientes, permitirá una protección adecuada a la acción de los ácidos representada por la profundidad de biopsia obtenida, e impedirá una extracción mayor de los elementos cadmio, cromo y magnesio.

Las diferencias observadas en la efectividad de protección de los tres tratamientos utilizados, presentados en las Gráficas 1-4 diferencias observadas en la profundidad de la biopsia, contenido de cromo, cadmio y magnesio muestran que existe un incremento en la protección del fluoruro aplicado en la superficie del diente, en los tres tratamientos ensayados, encontrándose un mejor efecto por parte del flúor fosfato acidulado al 1.23 % en gel (APF), seguido por el barniz fluorurado al 5 % (BF) elaborado en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza-U.N.A.M. y por último la solución de fluoruro de sodio en solución acuosa al 2 % (NaF) y que por lo tanto la hipótesis planteada se acepta.

Debido a que no se tenían más datos en cuanto al ambiente en que se desarrollaron los individuos de los cuales provienen las muestras, fue sólo posible la comparación de los tres agentes fluorurados, aplicados en los dientes en cuanto a su forma tópica. La diferencia observada entre los tres compuestos, nos hace pensar que la mayor efectividad por parte del APF, se debe principalmente a las características que debe reunir el agente tópico para lograr un mayor tiempo de contacto con la superficie del diente, encaminadas a lograr un depósito mayor del principio activo.

Por un lado las soluciones acuosas mantienen un menor tiempo de contacto ya que tienden a eliminarse por escurrimiento y por la misma salivación, impidiendo con esto una deposición efectiva del principio activo; por otro lado los componentes del barniz hacen de éste un modo efectivo de aplicar el fluoruro en la superficie dental, debido a los agentes resinosos, que al entrar en contacto con la saliva y el esmalte, se endurecen formando una cubierta sobre la superficie del diente, impidiendo su remoción y por lo tanto logrando un mayor tiempo de contacto con el mismo. De esta manera se deposita una mayor cantidad de fluoruro en su superficie. Por último la aplicación tópica en forma de gel no puede ser removido tan fácilmente de la superficie del esmalte, sobre todo si se realiza empleando cubetas (como se recomienda), y por lo tanto mantiene un tiempo de contacto mayor que la solución acuosa, pero menor que el barniz.

Sin embargo, como se observa en los resultados, es el APF en gel, el que logra depositar una mayor cantidad de flúor y no el barniz, concordando con el trabajo anterior<sup>(25)</sup> y en el cual se reportan estudios de estabilidad acelerada, encontrándose un problema en la formulación del barniz, lo que originó la sedimentación del principio activo, y por lo mismo no tener una distribución homogénea, dando por resultado el no tener una concentración adecuada al momento de su aplicación.

## 10.2 PROFUNDIDAD DE BIOPSIA

Se observa en los resultados que sí existe una diferencia en el efecto de antes y después por parte de los tres agentes fluorurados ensayados, en cuanto a incrementar la resistencia al ataque ácido, y al realizar el análisis estadístico de medias pareadas, se corrobora la diferencia estadísticamente significativa en la resistencia y protección del fluoruro de cada uno de los tres tratamientos aplicados. Estos resultados no son similares a los reportados por Ortíz en 1994 ya que el encontró que no existía una diferencia significativa sobre el efecto de antes y después, pero sí con los resultados obtenidos Amado en 1993 y González en el mismo año. En el análisis de covarianza (Tabla 6) se aprecia que si existe diferencia significativa entre el flúor fosfato acidulado y el barniz fluorurado, en tanto que para el fluoruro de sodio no existe diferencia significativa, resultados que de igual manera no concuerdan con los reportados en el trabajo anterior <sup>(25)</sup> y con los obtenidos por González en 1993 <sup>(52)</sup>.

Esta discrepancia de resultados se deben en gran medida al método de análisis empleado, debido a que la técnica de horno de grafito es más sensible y tiene mejores límites de detección que la técnica de flama directa y por lo mismo cuantificar más precisamente la concentración que pudieran contener las muestras. Por otro lado la ausencia de elevados factores de dilución empleados en flama, nos reditúa en una mejor forma de cuantificación de los metales presentes en las mismas.



### 10.3 OLIGOELEMENTOS

Las cantidades de metales encontrados, nos muestran que en el caso del cadmio difiere con respecto a los resultados reportados en la literatura por diversos investigadores<sup>(43,44,45)</sup>. Curzon y Crocker en 1978 reportan una concentración media para cadmio de  $1.87 \mu\text{g/g}$ , con un rango de  $0-27 \mu\text{g/g}$ , en tanto que en ese mismo año Loosee, Cutress y Brown reportan valores de  $0.51 \pm 0.12 \mu\text{g/g}$ , como se observa el valor encontrado es menor que el reportado por Curzon y por Crocker, pero mayor que el encontrado por Loosee y colaboradores.

En el caso del cromo, los valores medios encontrados por Curzon y Crocker en 1978 nos muestran concentraciones de  $0.45 \mu\text{g/g}$  con un rango de  $0-18.0 \mu\text{g/g}$ . Por otro lado Retief y Cleaton-Jones en 1971 reportan valores de  $1.02 \pm 0.51 \mu\text{g/g}$  en tanto que Loosee, Cutress y Brown en 1974 encontraron valores de  $3.2 \pm 0.80 \mu\text{g/g}$ . Estos valores de igual manera no coinciden con los encontrados en el presente estudio, siendo mayores con respecto a los encontrados por estos investigadores.

El magnesio reporta valores de  $0.28 \pm 0.07 \mu\text{g/g}$  por Lakoma en 1977 y que es un resultado menor al encontrado en este trabajo, sin embargo estudios realizados por Brudevold y col. en 1973 encontraron valores de magnesio de  $1650 \mu\text{g/g}$  en tanto que Loosee y Cutres en 1974 reportan una concentración de  $1670 \pm 120$ , que aunque son valores mayores se asemejan más a los resultados encontrados en el presente estudio.

#### 10.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico realizado, sirve para poder establecer si existe una diferencia significativa en la resistencia y protección del fluoruro de cada uno de los tres tratamientos aplicados, hacia el ataque ácido, mostrado por la profundidad de biopsia y el contenido de cadmio, cromo y magnesio extraídos antes y después de la aplicación del tratamiento correspondiente.

La Tabla 2 nos muestran los valores para " $t_0$ ", que expresan la probabilidad de que en cada uno de los tratamientos ensayados, exista diferencia en el efecto de antes y después de la aplicación del agente fluorurado correspondiente. De tal forma que observamos que para la variable profundidad de biopsia, en los tres tratamientos, se rechaza la hipótesis nula, es decir si existe diferencia estadísticamente significativa, de la variable de respuesta en el efecto de antes y después de la aplicación del agente fluorurado. Estos resultados no son similares a los obtenidos en el trabajo anterior <sup>(25)</sup> y en cual se trabajaron las mismas muestras, pero si a los reportados por Amado <sup>(32)</sup> y por González (1993) <sup>(33)</sup>. Esta discrepancia de resultados se deben en gran medida al método de análisis empleado, debido a que la técnica de horno de grafito es más sensible y tiene mejores límites de detección que la técnica de flama directa y por lo mismo cuantificar más precisamente la concentración que pudieran contener las muestras. Por otro lado la ausencia de elevados factores de dilución empleados en flama, nos reditúa en una mejor forma de cuantificación de los metales presentes en las mismas.

En la Tabla 3 observamos la comparación de medias para la variable contenido de cadmio en la que, de igual manera, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna, es decir si existe diferencia en el efecto de antes y después.

De igual forma, las Tablas 4 y 5 muestran los valores de " $t_0$ ", para las dos variables restantes analizadas (CCr y CMg) y de las cuales se extrae que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, y por lo cual se puede concluir que si existe diferencia estadística en la variable de respuesta del efecto de antes y después de la aplicación de los tres tratamientos.

De este modo la diferencia del efecto producido por los tres agentes fluorurados ensayados, está en relación a la reacción que lleva a cabo el fluoruro con los componentes del esmalte, es decir, que la formación de fluoruro de calcio o fluorapatita en la superficie del diente, permiten una protección del mismo, al ataque ácido; sin embargo, la formación de fluorapatita provee una mejor protección en comparación con la formación de fluoruro de calcio, ya que este se pierde y no tiene la propiedad de reformarse, además de que la primera esta formada por cristales más perfectos, estables y resistentes a la disolución ácida. Desde luego una variable de la formación de la fluorapatita viene dada por el tiempo de contacto del agente tópico con la superficie del diente y por lo mismo con el esmalte.

Por último se realizó un análisis de covarianza para determinar si existe diferencia significativa entre los tres tratamientos, para la variable profundidad de biopsia, contenido de cadmio, contenido de cromo y contenido de magnesio. Con la finalidad de comprobar si la diferencia entre medias de grupos es significativa, y después de haber ajustado los datos iniciales de la variable de respuesta y eliminar los efectos de la covariable. En este proceso se contrastó la hipótesis nula: de que la media de (i) es igual a la media de (j).

El criterio de aceptación de  $H_0$  fue si  $Pr > |T|$  es menor a 0.05. Tenemos en la tabla 6 que para la variable profundidad de biopsia si existe diferencia significativa entre el flúor fosfato acidulado y el barniz fluorurado, en tanto que para el fluoruro de sodio no existe diferencia significativa.

Las Tablas 7-9 nos muestran los valores del análisis de covarianza para el contenido de cadmio, cromo y magnesio respectivamente, y en las cuales se observa que para estas tres variables estudiadas no existe diferencia significativa en cuanto a impedir una extracción mayor de la cantidad de estos metales, esto nos hace pensar que en el caso del cadmio y del cromo, sean elementos adventicios, es decir, que se adhieran a la superficie del diente y por lo mismo se encuentren en las capas superficiales del esmalte y por lo tanto aunque las profundidades de las biopsias se incrementaran las cantidades de los mismos serían iguales

### **10.5 TÉCNICA EMPLEADA DE ANÁLISIS**

En lo referente al método de análisis empleado, se puede concluir que es el idóneo para realizar la cuantificación de estos y otros metales en muestras de esmalte, que debido a la técnica misma de la toma de la biopsia, no permiten obtener volúmenes mayores y es necesario realizar diluciones elevadas para poder trabajar con la técnica de flama directa, y el horno de grafito utiliza volúmenes pequeños, además de que tiene menores interferencias que las encontradas con la técnica de flama. Sin embargo, es aconsejable realizar un estudio de cuantificación de estos y otros metales por ambas técnicas y al mismo tiempo, esto para evitar diferencias en el almacenamiento, tratamiento y acondicionamiento de las muestras.



CONCLUSIONES



## 11. CONCLUSIONES

- Se alcanza el objetivo general, al establecer la concentración inicial y posterior a la aplicación del tratamiento correspondiente, de los tres elementos analizados.
- Los tres agentes fluorurados tópicos aplicados en el presente estudio, cumplen con la función de incrementar la resistencia al ataque ácido y por lo mismo impedir una extracción mayor de estos elementos del esmalte dental humano.
- Se establece que si existe una diferencia significativa entre el fluoruro de sodio y el flúor fosfato acidulado para la variable profundidad de biopsia.
- Para la extracción de magnesio cadmio y cromo, no existe diferencia estadísticamente significativa, entre los tres tratamientos.
- El cromo y el cadmio resultan ser elementos adventicios, ya que no existe una relación directa en el contenido de los mismos y la profundidad de biopsia obtenida.
- La técnica de absorción atómica electrotérmica resulta ser más adecuada que la espectrofotometría de absorción atómica por flama, ya que se necesitó un menor volúmen de muestra (20  $\mu$ l) además de que no se realizaron grandes diluciones para la cuantificación de estos y otros metales presentes en el esmalte dental, en muestras que se obtengan por la misma técnica de toma de biopsias.



## RECOMENDACIONES



## 12. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio de reformulación del barniz fluorurado para solucionar el problema de la sedimentación del principio activo.
- Almacenar las muestras a baja temperatura para evitarse la evaporación.
- Realizar la toma de más datos de identificación del sujeto del cual provienen las muestras a fin de valorar otras variables del medio en el cual se desarrollan.
- Hacer los análisis de muestras por ambos métodos (horno de grafito y flama directa) al mismo tiempo, para visualizar, corregir y establecer las condiciones óptimas de trabajo.





BIBLIOGRAFIA



## 13. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Katz S., McDonald L., Stookey G.K. Odontología Preventiva en Acción, 3a., Editorial Médica Panamericana, México, 1993 pp195-221.
- 2) Box, G.E.P., Hunter W.G., Hunter, J.S. Estadística para Investigadores. Introducción al diseño de Experimentos, Análisis de Datos y Construcción de Modelos, Reverté, S.A., España, 1989 pp 109-113.
- 3) Miller IR, Freund, J.E., Johnson, R. Probabilidad y Estadística para Ingenieros, 4a., Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A., México, 1992 pp 386-399.
- 4) Lazzari P.E. Bioquímica Dental, 2a., Interamericana, México, 1978 pp 1-17.
- 5) Lewis M. Bases Biológicas de la Caries Dental, Salvat Editores, España, 1986, pp 203-219.
- 6) Gordon N. Caries Dental. Aspectos Básicos y Clínicos, El Manual Moderno, México, 1985 pp 8-20.
- 7) Arreola R.M.M. y Torres G.E.G. Cuantificación de Flúor, Magnesio, Zinc y Plomo *in vivo* en Esmalte Humano de Dientes Permanentes, mediante una Técnica de Biopsia por Ataque Acido, Tesis de Licenciatura para la carrera de Q.F.B., F.E.S.-Zaragoza, U.N.A.M., 1992.
- 8) López A.D. et al.. La Salud Ambiental en México, Universo Veintiuno, México (1987).
- 9) Jenkins G. Fisiología y Bioquímica Bucal, Limusa, México, 1983 pp 67-101.
- 10) Cohen B. Kramer R.H., Fundamentos Científicos de Odontología, Salvat Editores, España, 1981 pp 451-477.
- 11) Echeverría G.J.J., Cuenca S.E. El manual de Odontología, Masson Salvat, España, 1994 pp 28-55.

- 12) Goodman G.A., et al.. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 8a., Editorial Médica Panamericana, Argentina, 1994, pp 1537-1558.
- 13) Amado E.A. Determinación de Flúor in vivo en Esmalte Dental Humano Posterior a la Aplicación de un Barniz con Fluoruro de Sodio al 5 %. Tesis de Licenciatura para la carrera de Q.F.B. F.E.S.-Zaragoza, U.N.A.M. 1993.
- 14) Juárez S.N.A. Desarrollo de una Técnica de Biopsia por Ataque Acido y Determinación de Flúor, Magnesio, Plomo y Zinc como Elementos Traza en Esmalte Dental Humano, Tesis de Licenciatura para la carrera de Q.F.B., E.N.E.P.-Zaragoza, U.N.A.M., 1990.
- 15) Ortiz P.J.J. Estudio Comparativo del Depósito de Flúor de la Aplicación Tópica de Tres Agentes Fluorurados, Tesis de Licenciatura para la carrera de Q.F.B., F.E.S.-Zaragoza, U.N.A.M., 1994.
- 16) Agreda C.J. Determinación de Magnesio y Zinc en Dientes Temporales, Tesis de Licenciatura para la carrera de Q.F.B., F.E.S.-Zaragoza, U.N.A.M., 1997.
- 17) Williams R.A.D. et al., Bioquímica Dental Básica y Aplicada, 2a., El Manual Moderno, México, 1990 pp 333-353.
- 18) Vander M., et al.. An Evaluation of an in Vivo Enamel Acid Biopsy Technique for Fluoride Determination, Journal Dental Association, 29;8187, (1974).
- 19) Soremark R. and Samsahi K. Gamma-ray Spectrofotometric Analysis of Elements in Normal Human Enamel, Archs Oral Biol, 6;275-283; (1961).
- 20) Brudevold F., et al.. Determination of Trace Element in surface Enamel of Human Teeth by a New Biopsy Procedure, Archs Oral Biol, 20;667-673, (1975).
- 21) Duffus J.H. Toxicología Ambiental, Omega, España, 1983 pp 24-93.
- 22) Shigetmatsu, Y. Minowa. Recent Results of Health Examinations on the General Population in Cadmium Polluted and Control Areas in Japan, Enviromental Health Perspectives, 28; 205-210, (1979).
- 23) Fleischer M. et al.. Enviromental Impact of Cadmium: A Review by the Papel on Hazardows Trace Substances, Enviromental Health Perspectives, 7; 253-323, (1974).

- 24) Nordberg G.I. and Kjellstrom T. Metabolic Model for Cadmium in Man, Environmental Health Perspectives, 28;211-217, (1979).
- 25) International Agency for Research on Cancer, Some Metals and Metabolic Compounds, Lyon: IARC, 1980 (IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: V. 23).
- 26) Priest D.N., VanDeVyver L.F. Trace Metals and Fluoride in Bones and Teeth, C.R.C.- Press, 1990.
- 27) Norseth T. The Carcinogenicity of Chromium Environmental Health Perspectives, 40;121-130, (1981).
- 28) Lappalainen R. and Knusttila M. The Distribution and Accumulation of Cd, Zn, Pb, Cu, Co, Ni, Mn and K in Human Teeth from Five Different Geological Areas of Finland, Archs Oral Biol., 24;363-368;1979.
- 29) Bowman W.C. and Rand M.J. Farmacología Bases Bioquímicas y Patológicas, Aplicaciones Clínicas, 2a., Nueva Editorial Interamericana, México, 1984 pp 4318-4320.
- 30) Ketzug G.B. Farmacología Básica y Clínica, El Manual Moderno, México (1987).
- 31) Lappalainen R., Knuutila M. and Salminen R. Concentration of Zn and Mg in Human Enamel and Dentine Related to Age and Their Concentration in the Soli, Archs Oral Biol., 26;1-6;1981.
- 32) Vellion C. Trace Element Analysis of Biological Samples, Analytical Chemistry, 58(8)859 (1986).
- 33) Wood J.M. Biological Cycles for Toxic Elements in the Environment Science, 183;1049-1052, (1974).
- 34) Task Group on Metal Interaction. Factor Influencing Metabolism and Toxicity of Metals, Environmental Health Perspectives, 25;3-41, (1978).
- 35) Curzón M.E.J. and Crocker D.C., Relationships of Trace Elements in Human Tooth Enamel to Dental Caries, Archs Oral Biol., 23;647-653;1978.
- 36) Beaty R.D. Conceptos, Instrumentación y Técnicas de Espectroscopia por Absorción Atómica, The Perkin Elmer Corporation, USA., 1978 pp 1-50.

- 37)García G.E. Manual para la Determinación de Elementos Químicos por Espectroscopía de Absorción Atómica, Colegio de Postgraduados, Centro de Hidrociencias, México, 1992 pp 1.50.
- 38)Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater, APHA, AWWA, WPCF, 16a., Washington, D.C., American Public Health Association, 1996 pp .
- 39)Chapple G., Athanasopoulos N., GBC. Graphite Furnace Methods Manual, GBC Scientific Equipment PTY Ltd., Australia 1992 pp 5-60.
- 40)De la Cruz C., Juárez S., Castillo G., Pérez V. Desarrollo de una técnica de Biopsia de Esmalte Dental Humano, Revista ADM, 1992 (1).
- 41)Loosee F., et al.. Manual Elements of the Periodic Table in Human Dental Enamel, Caries Res.,8;123-134(1974).
- 42)Brudevold F., et al.. An Enamel Biopsy Methods for Determination of Fluoride in Human teeth, Arch Oral Biol., 13;877-885 (1968).
- 43)Derise N. L. and Ritcheys, J. Mineral Composition of Normal Human Enamel and Dentine and Relation of Composition to Dental Caries II. Micromineral, J. Dental Res., 53;853-858 (1979).
- 44)Curzon M.E.J. et al.. Arch Oral Biol., 19;161-165 (1974)
- 45)Losse F., et al.. Trace Element Concentrations in Human Enamel, Archs Oral Biol., 19;467-470 (1974).
- 46)Brudevold, F., Savory, A. Gardner, D.E.;Spinelli, M.;and Speirs, R.; A Study of Aciludated Fluoride Solutions, Archs Oral Biol., 8;167-177 (1963).
- 47)Wellock W.D.; and Brudevold, F. A Study of Aciludated Fluoride Solutions II The Caries Inhibition Effect of Single Annual Topical Experience, Archs Oral Biol., 8;179-182 (1963).
- 48)Frazier, P.D.; and Swartz, C.J. The Formation of Calcium Fluride on the Surface of Hydroxiapatite after Treatment with Acidic Fluoride Solutions, J. Dent. Res., 45;1144-1148 (1968).

- 49)Wei, S.H.;and Fobes, W.C. X-rayDiffraction Analysis of the Reactions between Intact and Powdered Enamel and Several Fluoride Solutions, J. Dent. Res., 47;471-477 (1968).
- 50)Mellberg, J.R.;Laakso, P.V. and Nicholson C.R. The Acquisition and Loss of Fluoride by Topical Fluoridated Human Tooth Enamel, Arch. Oral Biol., 11,1213-1220 (1966).
- 51)Rinderer, L.; schait, A. and Muhleman, H.R.;Loss of Fluoride from Dental Enamel after Topical Fluoridation. Preliminary Report, Helv. Odont. Acta, 9;148-150 (1965).
- 52)González A.L.R. Evaluación del Depósito de Flúor de Tres Agentes Tópicos Fluorurados en una Población de Niños Mexicanos, Estudio *in vivo*. Tesis de Licenciatura para la carrera de Q.F.B., F.E.S. Zaragoza, UNAM, 1993



ANEXOS



## 14. ANEXOS

### 14.1 EL HORNO DE GRAFITO Y LA ABSORCIÓN ATÓMICA

La diferencia básica en la técnica de atomización entre el horno de grafito y la llama, resulta en una diferencia de respuesta de la absorción atómica, la cual a su vez, altera algunos de los términos y conceptos básicos. La señal de absorbancia, en la Absorción Atómica por llama es constante, esto significa que en tanto la muestra esta siendo aspirada a la cámara del quemador, se mantiene constante la población de átomos. Para la obtención de la señal de absorbancia en el horno de grafito, se introduce una alícuota de muestra de 20  $\mu\text{L}$  en el horno. Esta alícuota de muestra es consumida totalmente durante la atomización. La señal de la absorción resultante es por consiguiente de naturaleza transitoria, reflejando la rápida variación de la concentración de los átomos en el horno.

La señal de absorbancia en la Absorción Atómica con llama, esta directamente relacionada a la concentración del elemento de interés presente en la solución que esta siendo aspirada. En el horno de grafito la alícuota se consume totalmente a una velocidad dependiente del volumen inicial de la muestra introducida, la cantidad de la radiación absorbida depende sólo del número total de átomos del elemento de interés contenido en la alícuota y no de la concentración. La altura del pico de absorción suministra una indicación directa de la cantidad del elemento de interés en el horno. Un gráfico de la altura de pico contra peso del elemento de interés,



producirá una relación que corresponde a una línea recta, la cual se desviará del comportamiento lineal a pesos altos, en forma similar a la relación entre la absorbancia y la concentración en la absorción atómica por llama.

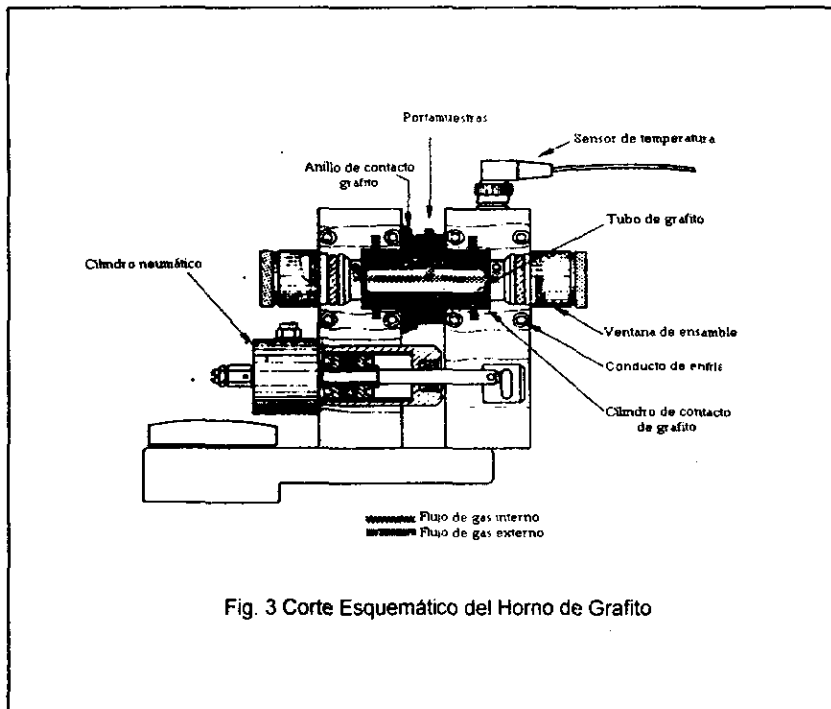
Los instrumentos modernos de Absorción Atómica, tienen dos medios para determinar la magnitud de las señales producidas durante los análisis con horno de grafito. La medida de la altura del pico es más usada, sin embargo, se puede determinar el área bajo la curva midiendo la cantidad de radiación absorbida por los átomos del analito durante el tiempo completo que ellos están presentes en el horno. Parece ser que el área del pico es la menos afectada por algunas interferencias que la altura del pico. Con la finalidad de evitar una precisión excesivamente pobre en la medición del área del pico, se debe tener gran cuidado en hacer coincidir exactamente el tiempo del ciclo de lectura del instrumento con el tiempo en el que se están originando los picos mismos.

La dependencia con el peso más que de la concentración exige una modificación de la sensibilidad y límite de detección. Se define la sensibilidad como el peso, en picogramos del analito necesario para producir una altura de pico de 0.0044 unidades de absorbancia (1 por ciento de transmitancia). Similarmente se altera la definición del límite de detección diciendo que es el peso del analito que producirá una señal que es el triple del nivel del ruido de la línea base. Se puede expresar el límite de detección en unidades de concentración, si se especifica el volumen usado de la solución<sup>(37)</sup>.

#### 14.1.1 EL SISTEMA DEL HORNO DE GRAFITO

El tubo de grafito, que está alineado en el paso óptico del espectrofotómetro, es un cilindro de grafito abierto en sus dos extremos, con un pequeño orificio en el centro, a través del cual se introduce la muestra. El tubo es sostenido por dos anillos

grandes del mismo material, los cuales proporcionan el contacto eléctrico. En la fig. 3 se muestra un corte esquemático del mismo.



El tubo de grafito actúa como una resistencia en un circuito eléctrico. Cuando se aplica un voltaje al tubo, la corriente que fluye causará un incremento de la temperatura en él. Controlando la cantidad de corriente que fluye, se puede regular la temperatura del tubo al nivel que se desee, hasta un máximo cercano a 3000 °C. El sistema de grafito está envuelto por una cubierta enfriada por agua que circula a través de la misma y mantiene a nivel seguro la temperatura externa del horno.

Después de la atomización, el tubo se enfría rápidamente a la temperatura ambiente, estando listo para recibir la siguiente muestra.

Para prevenir la destrucción del tubo por las altas temperaturas y oxidación del aire, se dispone de una purga de gas inerte, el cual lo protege de la atmósfera oxidante. Este gas se introduce directamente en el tubo por los extremos abiertos y escapa por el orificio central del tubo, fluye sólo durante la operación del horno y se interrumpe después de terminar cada medida para permitir que se introduzca la siguiente muestra.

El flujo opuesto de la purga interna, elimina muy eficazmente los materiales de la matriz volatilizándolos durante la etapa preliminar de carbonización del programa de calentamiento del horno. Además, el control de la velocidad de flujo del gas interno durante la atomización de la muestra, es una forma de controlar la sensibilidad del horno y reducir los problemas de absorción de fondo que son muy comunes en la absorción atómica con horno de grafito.

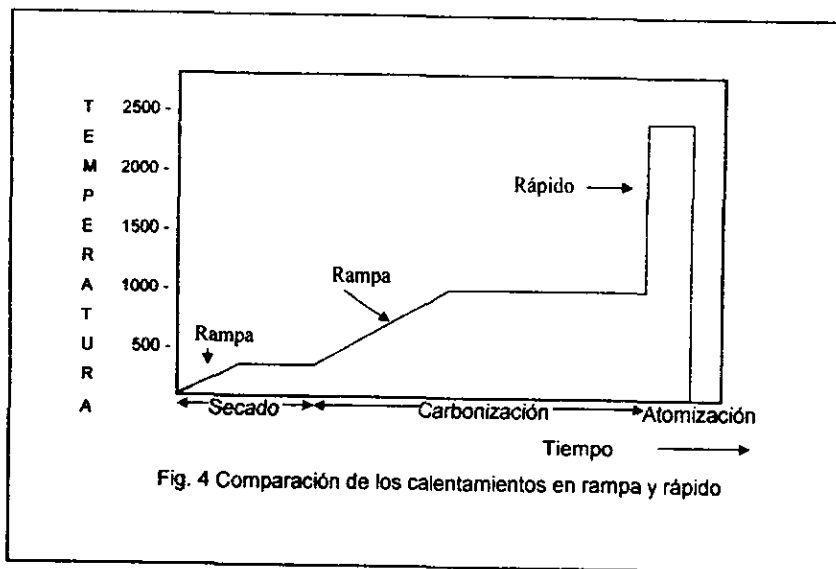
El tubo de grafito se puede construir enteramente de grafito de alta densidad o puede ser recubierto con una capa delgada de grafito pirolítico. La sensibilidad de algunos elementos es mejorada con el tubo de grafito pirolítico. Los elementos que forman refractarios (elementos que forman compuestos de muy alta estabilidad térmica), generalmente son los que más se benefician con el uso del grafito pirolítico. Sin embargo para los elementos más volátiles, la precisión disminuye. Aún para elementos que presentan una mejoría en la sensibilidad con el grafito pirolítico, la matriz de una muestra particularmente oxidante o la calcinación del aire durante el programa de calentamiento del horno, puede causar un decrecimiento continuo de la sensibilidad a causa de la corrosión en la superficie pirolítica.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

El horno de grafito calienta la muestra en una secuencia programada de temperatura y tiempo, controlado por la fuente de poder del horno. Primero, la muestra es secada a 100 °C aproximadamente para soluciones acuosas. Después se incrementa la temperatura para carbonizar todo lo que sea posible de la matriz de la muestra. Después que la muestra se ha carbonizado tanto como sea posible, se calienta *rápidamente el horno a una temperatura suficientemente alta para atomizar el analito* y producir la absorción atómica. El programa típico del horno incluye un periodo de enfriamiento el cual requiere de dos minutos. Las determinaciones con el horno de grafito están sujetas a severas interferencias químicas y problemas de absorción de fondo provenientes de los constituyentes de las muestras. Se pueden reducir estos problemas a niveles manejables volatilizando tanto como sea posible la matriz de la muestra durante la etapa de carbonización del programa de calentamiento. Al mismo tiempo se debe tener cuidado para no volatilizar el analito antes de su determinación en la etapa subsecuente de atomización.

Bajo control de la fuente de poder, se incrementa la temperatura durante los tres pasos básicos del programa de calentamiento, secado, carbonización y atomización. Se puede aplicar el incremento de temperatura en una forma escalonada para cada etapa o puede ser a una velocidad controlada o "rampa". La velocidad de calentamiento es un factor de particular importancia en el paso de atomización. En la fig. 4 se comparan los calentamientos en rampa y rápido.

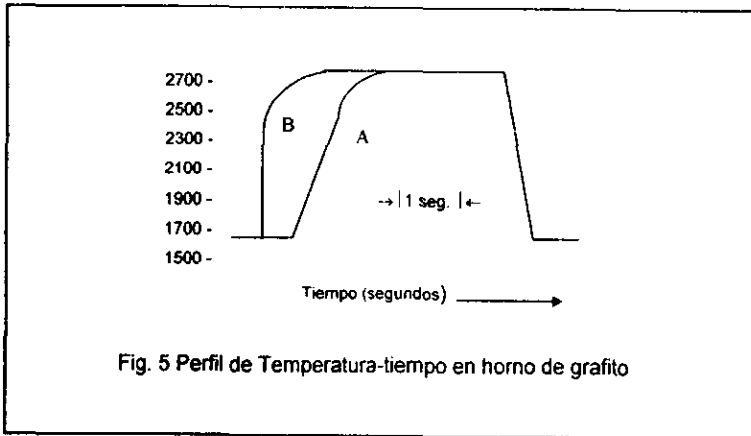
Para todos los elementos, la temperatura de atomización necesaria para una sensibilidad óptima, se reduce como resultado de un rápido calentamiento en la atomización. Esto incrementa el número de determinaciones que pueden ser hechas con un sólo tubo de grafito y hace posible atomizar algunos elementos volátiles a temperaturas por abajo del punto de volatilización de la matriz, reduciendo en esta forma los problemas de interferencia.



Como se muestra en la curva A de la fig. 5, si el nivel de potencia requerido para producir la temperatura final deseada, se aplica al tubo de grafito, se requiere de algunos segundos para alcanzar la temperatura final. Para obtener un incremento en la velocidad de calentamiento, se debe aplicar al tubo un nivel de potencia más alto. Sin embargo, este nivel de potencia deberá ser reducido hasta obtener la temperatura de atomización deseada con el fin de evitar un calentamiento más amplio del tubo, lo que resultará en una reducción del tiempo de vida del tubo.

Se usa un sensor óptico de temperatura para obtener una respuesta lo más rápida posible de los cambios de la misma. Cuando se alcanza el nivel preseleccionado, las señales del sensor conecta la fuente de poder a un nivel de potencia-temperatura-conservador, que están enlazados electrónicamente. En esta forma de operación se obtiene perfiles de temperatura similares a la curva B de la fig. 5 y se demuestra las ventajas de un rápido calentamiento en la atomización.

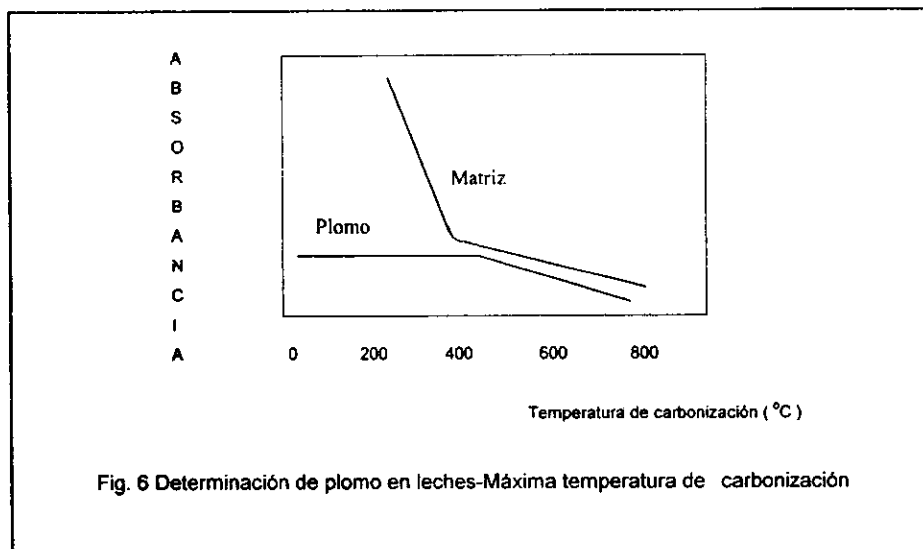
El control preciso de la etapa de carbonización durante el programa de calentamiento del horno, volatiliza la matriz de la muestra antes de la verdadera atomización y determinación del analito. Algún material que puede ser eliminado en esta forma no causará interferencia química o de absorción de fondo.



El grado de carbonización de la matriz que se puede alcanzar, dependerá de las volatilidades relativas de la matriz o del analito. Esto se ilustra en la fig. 6 en la que se compara el efecto de la temperatura de carbonización de la matriz y analito (plomo).

El pico de la absorbancia medida en la atomización es graficado contra la temperatura empleada durante el paso de carbonización. Se observa la conducta observada por la absorción atómica del plomo en la matriz y la absorción de fondo del material residual de la matriz en la atomización. Por arriba de 400 °C se pierde plomo durante el proceso de carbonización, lo que resulta en una reducción en la absorción medida en la atomización. Este hecho limita la temperatura máxima de carbonización a 400 °C. Sin embargo, a esta temperatura existe algo del material

residual de la matriz, el que ha sido dramáticamente reducido del que estuvo originalmente presente.



La determinación de la temperatura óptima de carbonización por la observación del efecto de esta temperatura sobre la señal del analito, es un paso importante en la preparación del análisis de una muestra compleja por absorción atómica con horno de grafito. Es típico el caso ilustrado en la fig. 6, y es raro que ocurra que la eliminación total de la matriz durante la carbonización de la muestra, sin también perder algo o todo del analito. Se requiere de técnicas adicionales para compensar algún efecto remanente de los materiales residuales de la matriz <sup>(37,38,39)</sup>.

## 14.2 CONDICIONES PARTICULARES DE HORNO DE GRAFITO UTILIZADOS EN LOS ELEMENTOS CUANTIFICADOS.

ELEMENTO	LONGITUD DE (mm)	CORRIENTE LAMPARA	SLIT (nm)
Cadmio	228.8	3	0.2
Cromo	357.9	6	0.5
Magnesio	279.5	30	0.7

### 14.2.1 ESTÁNDARES EMPLEADOS

ELEMENTO	CONCENTRACION DE CURVAS DE CALIBRACION ( en mg/l )			
Cadmio	0.001	0.003	0.005	-
Cromo	0.010	0.030	0.050	0.100
Magnesio	0.100	0.500	0.700	-

### 14.2.2 PARÁMETROS DE OPERACIÓN DEL HORNO DE GRAFITO HG-400 PARA CROMO.

PASO	SECCADO	CARBONIZADO	ATOMIZACIÓN	LIMPIEZA
TEMPERATURA ( °C )	110	1100	2250	2700
TIEMPO DE RAMPA(seg)	2	2	0	1
TIEMPO DE ESPERA(seg)	30	25	5	3
GAS INERTE	Si	Si	No	Si



#### 14.2.3 PARÁMETROS DE OPERACIÓN DEL HORNO DE GRAFITO HG-400 PARA CADMIO

	SECAO	CARBONIZADO	ATOMIZACIÓN	LIMPIEZA
TEMPERATURA ( °C )	110	300	2000	2700
TIEMPO DE RAMPA(seg)	5	5	0	1
TIEMPO DE ESPERA(seg)	25	30	5	3
GAS INERTE	Si	Si	No	Si

#### 14.2.4 PARÁMETROS DE OPERACIÓN DEL HORNO DE GRAFITO HG-400 PARA MAGNESIO

	SECAO	CARBONIZADO	ATOMIZACIÓN	LIMPIEZA
TEMPERATURA ( °C )	110	900	1700	2700
TIEMPO DE RAMPA(seg)	5	10	0	1
TIEMPO DE ESPERA(seg)	25	30	5	3
GAS INERTE	Si	Si	No	Si

**14.3 RESULTADOS DE PROFUNDIDAD DE BIOPSIA, CONTENIDO DE CADMIO, CROMO Y MAGNESIO ANTES Y DESPUÉS DE APLICAR FLÚOR FOSFATO ACIDULADO AL 1.23 %**

EXPER	FLUOR FOSFATO ACIDULADO AL 1.23 %							
	ANTES				DESPUES			
	PB ( $\mu$ m)	Cd ( $\mu$ g/g)	Cr ( $\mu$ g/g)	Mg ( $\mu$ g/g)	PB ( $\mu$ m)	Cd ( $\mu$ g/g)	Cr ( $\mu$ g/g)	Mg ( $\mu$ g/g)
1	3.77	0.66	2.57	551	0.97	0.30	0.84	160
2	1.27	0.61	2.57	442	1.06	0.30	1.23	389
3	1.18	0.66	3.03	430	1.15	0.50	0.21	415
4	1.65	0.96	1.87	595	1.36	0.63	0.07	307
5	1.03	0.61	0.84	552	0.77	0.40	0.52	535
6	4.07	0.66	2.50	393	1.72	0.30	0.20	87
7	1.96	0.63	3.75	496	1.18	0.40	0.03	488
8	1.26	1.17	1.81	783	1.32	0.68	0.07	373
9	1.25	0.86	2.15	659	0.50	0.38	0.14	875
10	3.47	0.94	3.42	275	1.16	0.43	0.73	294
11	5.89	1.09	2.52	469	0.89	0.22	0.73	148
12	4.75	0.61	2.28	841	0.93	0.22	1.35	220
13	3.26	1.50	2.33	708	1.00	0.20	0.13	293
14	2.93	0.99	2.28	1252	0.68	0.43	2.21	244

PB= Profundidad de biopsia, Cd= Cadmio, Cr= Cromo, Mg= Magnesio.

**14.4 RESULTADOS DE PROFUNDIDAD DE BIOPSIA, CONTENIDO DE CADMIO, CROMO Y MAGNESIO ANTES Y DESPUÉS DE APLICAR FLUORURO DE SODIO AL 2 %**

EXPER	FLUORURO DE SODIO AL 2 %							
	ANTES				DESPUES			
	PB ( $\mu$ m)	Cd ( $\mu$ g/g)	Cr ( $\mu$ g/g)	Mg ( $\mu$ g/g)	PB ( $\mu$ m)	Cd ( $\mu$ g/g)	Cr ( $\mu$ g/g)	Mg ( $\mu$ g/g)
1	1.50	0.61	2.32	433	0.98	0.48	0.21	381
2	1.60	0.84	2.11	582	1.08	0.56	1.34	514
3	1.94	0.38	2.24	709	1.04	0.35	0.70	294
4	1.33	0.71	2.11	844	1.24	0.56	1.22	260
5	1.62	0.43	2.16	698	1.34	0.38	0.18	533
6	4.07	0.56	2.32	947	0.94	0.53	2.10	265
7	1.70	0.50	2.64	488	1.11	0.48	2.20	368
8	1.73	0.53	2.59	486	1.38	0.35	0.15	314
9	2.42	0.33	2.18	566	1.80	0.30	1.15	118
10	3.05	0.38	2.30	528	1.33	0.35	1.14	700
11	1.89	0.35	2.03	510	1.42	0.30	1.16	203
12	2.55	0.50	2.89	223	1.67	0.40	0.95	217
13	1.85	0.68	2.21	243	1.43	0.28	0.88	264
14	1.44	0.73	2.24	335	1.15	0.22	0.79	287

PB= Profundidad de biopsia, Cd= Cadmio, Cr= Cromo, Mg= Magnesio.

**14.5 RESULTADOS DE PROFUNDIDAD DE BIOPSIA, CONTENIDO DE CADMIO, CROMO Y MAGNESIO ANTES Y DESPUÉS DE APLICAR BARNIZ FLUORURADO AL 5%**

C BIA	BARNIZ FLUORURADO 5%				DESPUÉS			
	PB (mm)	Cd (µg)	Cr (µg)	Mg (µg)	PB (mm)	Cd (µg)	Cr (µg)	Mg (µg)
1	1.80	0.66	2.43	627	1.39	0.56	0.15	230
2	2.12	0.43	2.33	1340	0.55	0.43	0.15	475
3	2.61	0.76	2.52	848	0.52	0.38	0.15	363
4	1.28	0.71	2.89	613	0.97	0.40	0.16	454
5	1.57	0.61	2.24	647	1.40	0.43	0.01	372
6	1.58	0.61	2.61	416	1.45	0.33	1.64	285
7	5.79	0.63	2.97	282	3.56	0.43	0.55	172
8	2.35	0.45	2.18	688	2.08	0.40	2.07	500
9	2.15	0.40	2.36	499	1.83	0.35	0.58	495
10	2.75	0.43	2.39	609	1.98	0.38	2.11	321
11	2.08	0.89	2.21	550	2.02	0.48	0.84	416
12	2.02	1.07	2.24	474	1.59	0.43	2.05	423
13	1.87	1.27	2.21	824	1.06	0.40	1.67	504
14	2.90	1.09	2.21	399	1.77	0.43	1.76	274

PB= Profundidad de biopsia, Cd= Cadmio, Cr= Cromo, Mg= Magnesio.