



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DETERMINACIÓN DE  $^{14}\text{C}$  PRESENTE EN DENTINA Y  
ESMALTE DE MUESTRAS DENTALES MODERNAS POR  
ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON ACELERADORES**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA**

**PRESENTA**

**MARÍA EUGENIA MORALES GUILLÉN**



**CIUDAD DE MÉXICO**

**2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE: JUAN MANUEL NAVARRETE TEJERO**

**VOCAL: SONIA CONTRERAS GARCÍA**

**SECRETARIO: CORINA SOLÍS ROSALES**

**1er. SUPLENTE: MIGUEL ANGEL ZUÑIGA PÉREZ**

**2do. SUPLENTE: BLANCA ROSA BONILLA HEREDIA**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO NACIONAL DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON  
ACELERADORES, INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM.**

**ASESOR DEL TEMA:**

**DRA. CORINA SOLÍS ROSALES**

**SUSTENTANTE:**

**MARÍA EUGENIA MORALES GUILLÉN**

# Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por formarme desde el bachillerato en sus aulas, por ser el punto de encuentro con personas increíbles y por todos los momentos gratos que viví en ella.

A la Facultad de Química de la UNAM por mostrarme lo maravillosa y apasionante que es la carrera de Química y por otorgarme los conocimientos necesarios para desarrollarme profesionalmente.

Al Instituto de Física de la UNAM por todos los recursos y facilidades brindadas.

A DGAPA PAPIIT UNAM por la beca otorgada (proyecto IG100216) durante la realización de este trabajo.

A CONACYT (proyectos 280769 y 294537) y DGAPA PAPIIT UNAM (proyectos IG100216 y 101016) por el apoyo financiero para equipamiento y consolidación del LEMA.

# Índice

Introducción.....	1
Capítulo 1 .....	3
Antecedentes.....	3
Radiocarbono.....	3
Pruebas nucleares.....	5
Pico de la bomba.....	7
Espectrometría de Masas con Aceleradores.....	9
Fraccionamiento isotópico.....	10
Normalización por fraccionamiento isotópico.....	10
Métodos morfológicos para la estimación de edad en México.....	12
Dientes como indicadores de la edad.....	15
Estructura dental.....	16
Crecimiento dental.....	19
Aplicaciones forenses.....	20
Dientes y el Pico de la bomba.....	22
Capítulo 2.....	24
Objetivos.....	24
Objetivo general.....	24
Objetivos particulares.....	24
Hipótesis.....	25
Capítulo 3.....	26
Materiales y métodos.....	26
Limpieza de las muestras dentales.....	27

Corte de las piezas dentales .....	28
Extracción y combustión de colágeno .....	29
Digestión de carbonatos.....	30
Grafitización .....	32
Prensado de las muestras.....	32
Análisis por radiocarbono.....	33
Baja Energía.....	35
Acelerador .....	35
Alta Energía.....	36
Capítulo 4.....	37
Resultados y discusión .....	37
Validación de las mediciones.....	37
Rendimiento de colágeno y esmalte .....	38
Medida de <sup>14</sup> C .....	39
Colágeno.....	47
Esmalte .....	50
Capítulo 5.....	54
Conclusiones .....	54
Anexo.....	56
Calibración con software CaliBomb .....	56
Bibliografía .....	61

# Índice de figuras

Figura 1.1. Ciclo del carbono.....	4
Figura 1.2 Detonaciones nucleares efectuadas de 1944 a 2015.....	6
Figura 1.3. Mapa de zonas de variación de $^{14}\text{C}$ <sup>[25]</sup> .....	8
Figura 1.4. Variación de $F^{14}\text{C}$ ( $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) calibrada correspondiente a la zona 2 del hemisferio norte.....	8
Figura 1.5. Medidas del diente según Lamendin.....	14
Figura 1.6. Representación de la ubicación de las suturas en el paladar. ....	15
Figura 1.7. Mandíbulas dentarias.....	16
Figura 1.8. Anatomía dental .....	17
Figura 1.9. Etapas de crecimiento dental establecido por Nolla (1960). ....	19
Figura 3.1. Estado físico de las muestras dentales .....	27
Figura 3.2. Cortes dentales. ....	28
Figura 3.3. Analizador Elemental vario MICRO cube acoplado a grafitizador AGE III. ....	30
Figura 3.4. Sistema de manejo de carbonatos y muestreador automático.....	31
Figura 3.5. Portacátodo y cátodo donde se prensa el grafito. ....	33
Figura 3.6. Separador isotópico con acelerador tipo tándem de 1MV.....	33
Figura 3.7. Esquema ilustrado del separador isotópico con que cuenta el LEMA. ....	34
Figura 4.1. Ajuste exponencial de $F^{14}\text{C}$ hasta 2020. ....	45

Figura 4.2.  $F^{14}C$  correspondiente a la Zona 2 hemisferio norte..... 46

Figura 4.3. Comparación entre el año de nacimiento real y el año de nacimiento calculado mediante análisis de  $^{14}C$  en la fracción orgánica (colágeno) de la raíz dental por EMA, la línea continua en negro representa la línea de tendencia con ecuación y la línea punteada roja corresponde a la función  $f(x)=x$ ..... 49

Figura 4.4. Comparación entre el año de nacimiento real y el año de nacimiento calculado mediante análisis de  $^{14}C$  en esmalte dental por EMA, con negro se representa la línea de tendencia con ecuación y la línea punteada roja corresponde a la función  $f(x)=x$ . ..... 53

# Índice de tablas

Tabla 1.1. Tiempo en que terminan de formarse el esmalte y la raíz en piezas dentales según el estudio realizado por Schour y Massler en 1940 <sup>[50]</sup> .....	20
Tabla 1.2. Grados de desgaste dental a distintas edades. Donde I= Incisivo, C=Canino, P= Premolar, M1= Primer molar, M2=Segundo molar. <sup>[20]</sup> .....	21
Tabla 3.1. Tipos de dientes que fueron analizados y su clave de registro .....	26
Tabla 4.1. Estándares utilizados durante las mediciones.....	38
Tabla 4.2. Rendimiento de colágeno.....	38
Tabla 4.3. Porcentaje de esmalte en la corona .....	39
Tabla 4.4. F <sup>14</sup> C correspondiente a la fracción de esmalte y a la fracción de colágeno de muestras dentales modernas, medidos mediante EMA.....	40
Tabla 4.5. Intervalos de años que corresponden a los valores de F <sup>14</sup> C.....	41
Tabla 4.6. Valores de F <sup>14</sup> C, años de formación y nacimiento calibrados y calculados correspondientes a la fracción orgánica “colágeno” de la dentina. Las muestras 223.1.1, 269.1.1 y 272.1.1, fueron realizadas previamente por el Fis. Eduardo Solís <sup>[44]</sup> .....	48
Tabla 4.7. Valores de F <sup>14</sup> C, años de formación y nacimiento calibrados y calculados correspondientes a esmalte dental.....	51

# Abreviaturas

EMA Espectrometría de Masas con Aceleradores.

F<sup>14</sup>C Fracción de carbono-14

HVEE High Voltage Engineering Europe

IAEA International Atomic Energy Agency

INCIFO Instituto de Ciencias Forenses

LEMA Laboratorio de Espectrometría de Masas con Aceleradores.

NBS National Bureau of Standards

NIST National Institute of Standards and Technology

PDB Pee Dee Belamnite

pMC Porcentaje de Carbono Moderno

VIRI The Fifth International Radiocarbon Intercomparison

VPDB Vienna Pee Dee Belamnite

# Introducción

El carbono es uno de los elementos más abundantes en la Tierra. Lo podemos encontrar en la naturaleza en forma de dos isótopos estables  $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  y el isótopo inestable  $^{14}\text{C}$ . El  $^{12}\text{C}$  tiene una abundancia del 98.93%, el  $^{13}\text{C}$  del 1.07% y por cada billón de átomos de  $^{12}\text{C}$  se tiene un átomo de  $^{14}\text{C}$ . Este último es de gran interés ya que tiene un tiempo de vida media de 5730 años, por lo que en 1946 el químico estadounidense Willard F. Libby propone realizar la datación de muestras arqueológicas por decaimiento radiactivo.

El  $^{14}\text{C}$  se genera en la atmósfera cuando un átomo de  $^{14}\text{N}$  captura un neutrón térmico producido por interacción de los rayos cósmicos. Este radioisótopo se incorpora a las plantas, las cuáles lo obtienen del  $^{14}\text{CO}_2$  mediante la fotosíntesis. De manera indirecta el cuerpo humano lo incorpora a través de la alimentación.

La concentración de  $^{14}\text{C}$  en la atmósfera regularmente permanece constante, sin embargo durante la Segunda Guerra Mundial la concentración aumentó casi un 200% debido a que los ensayos nucleares generaron condiciones para la formación artificial del radioisótopo. En 1963 se firmaron tratados que prohibieron los ensayos nucleares, por lo que la concentración de  $^{14}\text{C}$  en la atmósfera volvió a los niveles que se tenían. Con lo anterior se generó una curva conocida como “Pico de la bomba” que comprende la fracción de  $^{14}\text{C}$  en la atmósfera en el periodo de 1950 al 2009.

Con la Espectrometría de Masas con Aceleradores (EMA) es posible analizar el  $^{14}\text{C}$  presente en muestras muy pequeñas de tejidos como el esmalte o el colágeno de un diente, el cabello, una simple semilla o muestras de ADN. Por lo anterior se propuso utilizar el Pico de la bomba como una aplicación forense del  $^{14}\text{C}$  para determinar el año de nacimiento o muerte de una persona. [52] [53] [47] [9] [50].

Las ciencias forenses han tenido que recurrir a técnicas cada vez más sofisticadas para la identificación de restos humanos. La aplicación de la técnica de  $^{14}\text{C}$  por

Espectrometría de Masas con Aceleradores en la determinación del año de nacimiento de las personas ha resultado ser útil en otros países y, ahora que está disponible en México, brinda la oportunidad de aplicarla a las ciencias forenses.

En este trabajo se determinó la cantidad de  $^{14}\text{C}$  en dentina y esmalte dental en muestras dentales de mexicanos. Se obtuvo el año de formación de los tejidos de piezas dentales modernas a través del  $^{14}\text{C}$  incorporado durante el Pico de la bomba y así se pudo determinar el año de nacimiento de una persona.

Para una cantidad de  $^{14}\text{C}$  existen dos fechas correspondientes en el Pico de la Bomba, una en la parte de ascenso de la curva y otra en el descenso de la misma. La dentina y el esmalte tienen tiempos de formación con diferencia de al menos 4.5 años, por lo que determinando la cantidad de  $^{14}\text{C}$  en ambas fracciones podemos establecer si el año en que terminaron de formarse los tejidos pertenece al lado ascendente o descendente de la curva.

También se estudiaron las variaciones entre los tipos de dientes tomando en cuenta los diferentes intervalos de maduración y se discuten las ventajas e inconvenientes de utilizar la dentina o el esmalte dental en la determinación del año de nacimiento.

# Capítulo 1

## Antecedentes

Debido a que el carbono es uno de los átomos que podemos encontrar en gran cantidad en nuestro planeta, la datación por carbono-14 es una técnica ampliamente utilizada en el contexto antropológico y arqueológico, sin embargo la posibilidad de poder realizar dataciones a muestras recientes sin necesidad depender del decaimiento radioactivo, nos ofrece aplicaciones en el área forense.

### Radiocarbono

El carbono es uno de los elementos más abundantes en los seres vivos. El ciclo del carbono (figura 1.1) es la forma gráfica de representar el intercambio de carbono entre la atmósfera, hidrósfera, litósfera y biosfera. <sup>[13]</sup>

Aproximadamente el 82% del CO<sub>2</sub> presente en la atmósfera es absorbido en el océano formando diversas especies químicas que se encuentran en equilibrio, como son ácido carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), iones bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y iones carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). El 18% de CO<sub>2</sub> restante que se encuentra en la atmósfera entra en contacto con las plantas mediante la fotosíntesis y una parte de ese CO<sub>2</sub> regresa a la atmósfera por la respiración vegetal mientras que la otra parte forma compuestos de carbono en el tejido de las plantas. <sup>[11]</sup> Posteriormente esas plantas son el alimento de animales, que a su vez son alimento de los seres humanos, vía por la que nosotros captamos carbono.

Al igual que las plantas, una parte del carbón captado se desecha en forma de CO<sub>2</sub> cuando respiramos, pero otra fracción la utilizamos para la síntesis de aminoácidos, azúcares, proteínas, y demás compuestos de carbono que son necesarios para la formación de nuestros huesos, dientes, piel, etc., siendo esta fracción de carbono que se integra al organismo la de interés en este estudio.

En la Tierra se encuentran dos isótopos estables de carbono, estos son  $^{12}\text{C}$  y  $^{13}\text{C}$ , el  $^{12}\text{C}$  tiene una abundancia de 98.93%, el  $^{13}\text{C}$  abunda en un 1.07%. Pero también se encuentra el  $^{14}\text{C}$ , un isótopo inestable con una abundancia muy pequeña, por cada billón de átomos de  $^{12}\text{C}$  existe un átomo de  $^{14}\text{C}$ .

Cada isótopo de carbono cuenta con 6 protones y 6 electrones. El  $^{12}\text{C}$  cuenta con 6 neutrones, el átomo de  $^{13}\text{C}$  tiene 7 neutrones y el átomo de  $^{14}\text{C}$  tiene 8 neutrones.

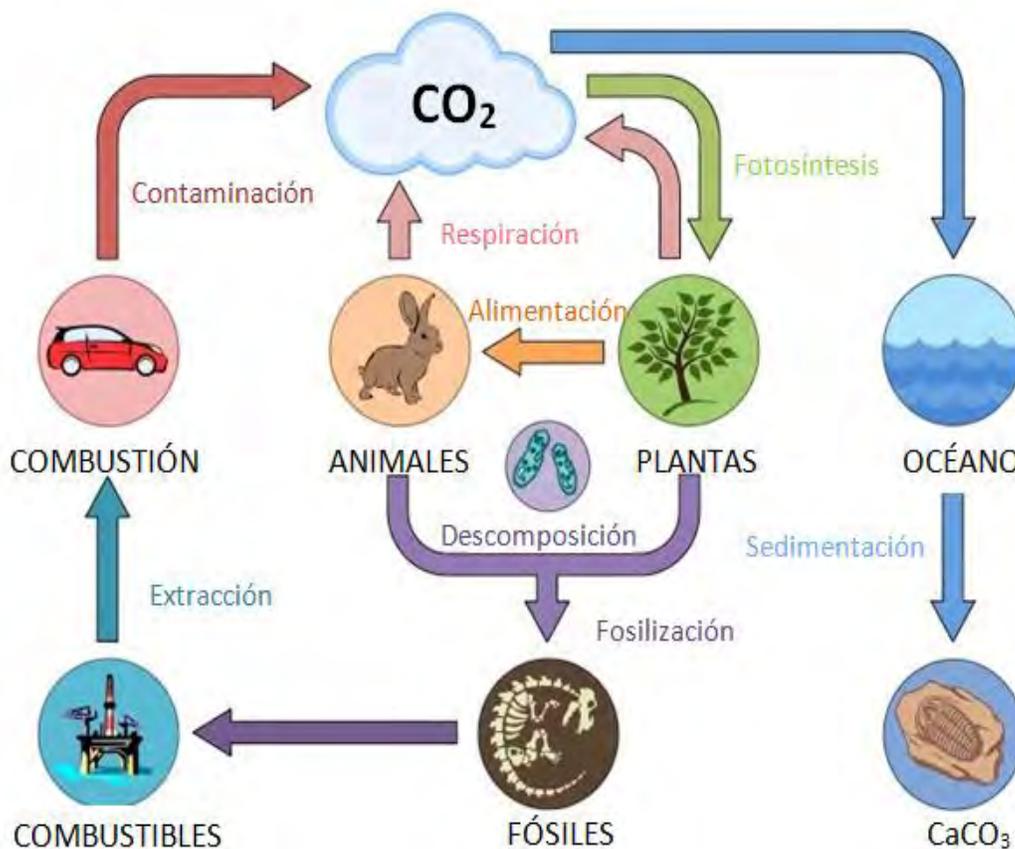


Figura 1.1. Ciclo del carbono.

Imagen tomada de <http://ib.bioninja.com.au/standard-level/topic-4-ecology/43-carbon-cycling/carbon-cycle.html>

El carbono-14 se forma por la interacción de los rayos cósmicos con átomos de  $^{14}\text{N}$  en la atmósfera como se observa en la reacción 1-1.



Posteriormente el  $^{14}\text{C}$  se oxida para formar  $^{14}\text{CO}_2$  y se distribuye en la atmósfera, litósfera, hidrósfera y biosfera como se mencionó anteriormente, por lo cual, los seres vivos poseemos  $^{14}\text{C}$  en nuestros tejidos, huesos y dientes.

Este isótopo fue descubierto en 1940 [44]. En 1946 el Químico americano Willard Libby propuso la datación por  $^{14}\text{C}$  y en 1949 demostró que se puede determinar el tiempo en el que una muestra detuvo el intercambio de carbono con su entorno cuantificando la desintegración del isótopo.

Investigaciones posteriores determinaron que el isótopo de  $^{14}\text{C}$  tiene una vida media de 5,730 años. [51] [30] [38]

Los átomos de  $^{14}\text{C}$  sufren decaimiento beta, lo que quiere decir que un neutrón dentro del núcleo de un átomo de carbono 14 decae en un protón, convirtiendo al átomo de  $^{14}\text{C}$  en un átomo de  $^{14}\text{N}$  (isótopo estable) y se emite un electrón ( $\beta^-$ ).



La proporción  $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$  en la atmósfera ha sido alterada por la actividad humana. Una de las razones es conocida como Efecto Suess, en el cual la concentración de  $^{12}\text{C}$  incrementa debido a la quema de combustibles fósiles. La segunda razón se debe al incremento de la concentración de  $^{14}\text{C}$  por ensayos nucleares.

### **Pruebas nucleares**

El carbono-14 también se ha formado de manera antropogénica debido a los ensayos nucleares que se han llevado a cabo en diversas partes del mundo. Esto sucede cuando los neutrones térmicos producidos en la detonación de las bombas interactúan con los átomos de  $^{14}\text{N}$  de la atmósfera (reacción 1-1).

El primer ensayo nuclear del que se tiene registro es la Prueba Trinity la cual era parte del Proyecto Manhattan llevado a cabo durante la Segunda Guerra Mundial (1939- 1945). En esta prueba se detonó una bomba con plutonio como material

fisionable, por orden del gobierno de los EEUU el 16 de Julio de 1945 en San Antonio, Nuevo México.

Durante los siguientes 18 años se siguieron llevando a cabo diversos ensayos nucleares con fines bélicos o como pruebas de desarrollo (figura 1.2).

Entre todas las detonaciones nucleares que se llevaron a cabo, las que causaron mayor impacto de destrucción fueron los lanzamientos sobre las ciudades japonesas Hiroshima (6 de Agosto de 1945) y Nagasaki (9 de Agosto de 1945), en las cuales fallecieron miles de personas al momento de la explosión y otras tantas debido a las consecuencias por exposición a la radiación.



Figura 1.2 Detonaciones nucleares efectuadas de 1944 a 2015.

En color rojo se señalan las detonaciones que fueron por combate, en azul por desarrollo de armas y en amarillo con propósito industrial. Imagen tomada de

<http://www.arcgis.com/apps/Time/index.html?appid=b8540a8a2500472c8037bdd2a35c4be0>

El 10 de octubre de 1963 entra en vigor el Tratado de Prohibición Parcial de Ensayos Nucleares, el cual prohibía realizar ensayos nucleares en la atmósfera, espacio exterior y bajo el agua. Este tratado fue firmado y ratificado por 113 países, entre los que se encuentran Alemania, España, Estados Unidos, Irán, Irak,

México y la Unión Soviética. El 1º de Julio de 1968, 190 naciones firmaron el Tratado de No Proliferación Nuclear en el cual se restringe la posesión de armas nucleares (bajo la base de no proliferación, desarme y uso pacífico), los países que no aprobaron el tratado fueron India, Israel, Pakistán y Sudán del Sur. El tratado entró en vigor en 1970 y sólo se les permite tener armas nucleares a Estados Unidos, Reino Unido, Francia, Rusia, y la República Popular de China con los compromisos de no utilizar armas nucleares contra países no nuclearmente armados, salvo en respuesta a un ataque nuclear o un ataque con armas convencionales en alianza con un país nuclearmente armado e iniciar negociaciones para la reducción y liquidación de sus arsenales nucleares, aunque esto último no se cumpla todavía.

### **Pico de la bomba**

Antes de las pruebas nucleares, el  $^{14}\text{C}$  se encontraba distribuido de la siguiente manera:  $\approx 93\%$  en la hidrósfera,  $\approx 5\%$  en la biósfera y  $\approx 2\%$  en la atmósfera. <sup>[32]</sup> Uno de los efectos de la realización de ensayos nucleares fue el incremento de la concentración de  $^{14}\text{C}$  presente en la atmósfera, alcanzando su máximo histórico en 1963, al cual se le conoce como “El Pico de la Bomba”.

Para establecer la curva del Pico de la Bomba se cuantificó mediante la dendrocronología <sup>[21]</sup> la cantidad de  $^{14}\text{C}$  fija en la materia orgánica en cada uno de los anillos de crecimiento de árboles de distintas regiones, la cual refleja la cantidad de  $^{14}\text{C}$  en la atmosfera.

Se realizaron curvas calibradas para conocer la cantidad de  $^{14}\text{C}$  en el periodo de 1950 a 2009 en 5 regiones diferentes del mundo (figura 1.3). <sup>[25]</sup> En el caso de nuestro país, este se encuentra en el Hemisferio Norte zona 2 y la curva calibrada que corresponde a esta zona se puede observar en la figura 1.4.

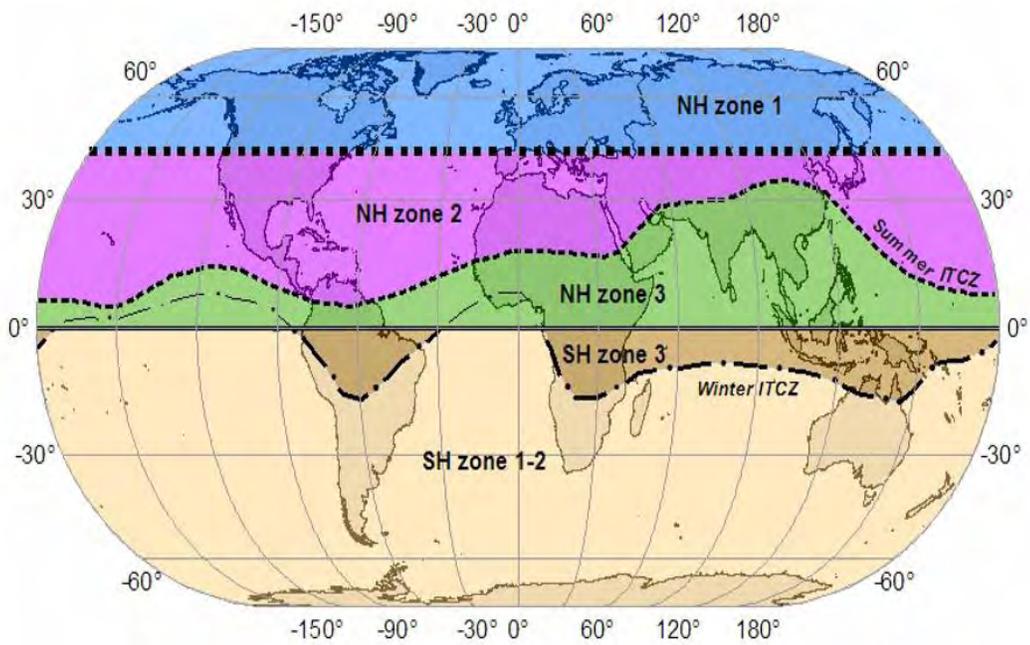


Figura 1.3. Mapa de zonas de variación de  $^{14}\text{C}$  [25]

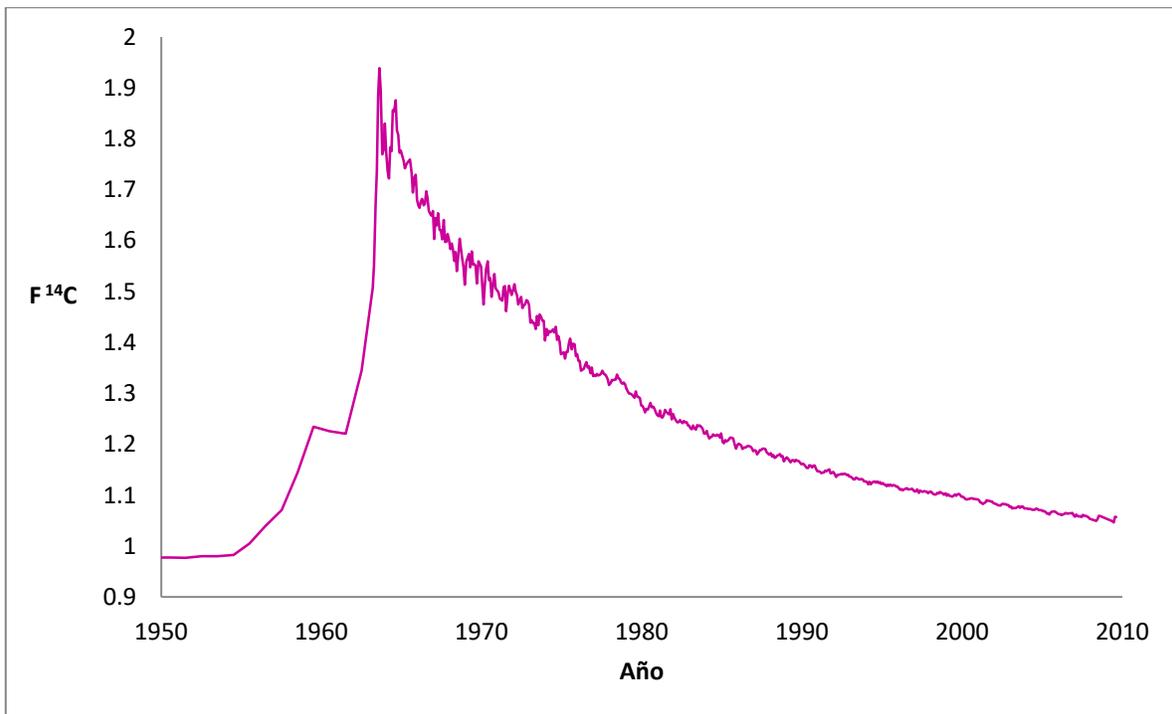


Figura 1.4. Variación de  $F^{14}\text{C}$  ( $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) calibrada correspondiente a la zona 2 del hemisferio norte. Los niveles son expresados en términos de Fracción de  $^{14}\text{C}$ , donde 1.0  $F^{14}\text{C}$  corresponde al nivel atmosférico de radiocarbono antes de 1950. [25]

Para cuantificar la cantidad de  $^{14}\text{C}$  en la atmósfera, muestras orgánicas o muestras inorgánicas, es necesario utilizar técnicas como la Espectrometría por Centelleo Líquido o la Espectrometría de Masas con Aceleradores, esta última se explicará a continuación ya que fue la que se utilizó en este trabajo.

## **Espectrometría de Masas con Aceleradores**

La Espectrometría de Masas es la técnica de análisis que nos permite saber la distribución de átomos o moléculas en una sustancia en función de su masa atómica.

La Espectrometría de Masas con Aceleradores (EMA) nos permite identificar isótopos que tienen muy poca abundancia en la naturaleza y distinguirlos entre elementos que tienen su misma masa atómica. En esta determinación, los radioisótopos son detectados por la señal que es producida en un detector nuclear después de ser seleccionados por campos eléctricos y magnéticos.

Esta técnica tuvo sus comienzos en 1939 cuando los físicos estadounidenses Álvarez y Cornog estudiaban la radioactividad de  $^3\text{H}$  utilizando un acelerador tipo ciclotrón <sup>[1]</sup> en la Universidad de California. Posteriormente Müller en los años 70 proponía la técnica EMA para la detección de átomos como  $^{14}\text{C}$ ,  $^{10}\text{B}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^3\text{H}$  y sus aplicaciones en fechamiento. <sup>[34]</sup> <sup>[35]</sup> En 1977 en la Universidad de Rochester, Bennett y su equipo de trabajo proponen que las mediciones de  $^{14}\text{C}$  por EMA se realicen utilizando un acelerador tipo tándem para que en los experimentos se pudiera distinguir entre los átomos de  $^{14}\text{C}$  y  $^{14}\text{N}$ . <sup>[5]</sup>

Esta técnica posee las siguientes ventajas: es posible medir isótopos estables, posee una mayor sensibilidad comparada con otras técnicas de detección de radioisótopos (es capaz de identificar una partícula entre mil billones) y la cantidad de muestra necesaria para el análisis es muy pequeña, por lo que el hecho de que la técnica sea destructiva no representa un problema y los tiempos de medición son de menos de una hora por muestra.

Entre las desventajas se encuentra lo costoso del equipo y su mantenimiento.

Los resultados obtenidos de la determinación de carbono por EMA, son reportados como la razón de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  y  $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ .

## Fraccionamiento isotópico

El fraccionamiento isotópico se debe a las variaciones de la composición isotópica natural de un compuesto a causa de fenómenos físicos y químicos. Un ejemplo de estas variaciones se lleva a cabo en la fotosíntesis <sup>[10] [40]</sup> donde el  $^{12}\text{C}$  se presenta 2% más que el  $^{13}\text{C}$ , debido a que los organismos usan preferentemente las especies isotópicas ligeras ya que les supone un menor costo energético. <sup>[42]</sup>

El fraccionamiento también puede ocurrir al preparar la muestra para su análisis o durante su trayecto en el separador isotópico debido a las altas corrientes de los isotopos estables.

La fracción isotópica se expresa como la desviación relativa de la razón  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  de la muestra y del estándar VPDB (Vienna Pee Dee Belamnite). Esta desviación se expresa en partes por mil (Ecuación 1-1).

$$\delta^{13}\text{C} = \left[ \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C}) - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{VPDB}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{VPDB}} \right] \times 1000 \quad \text{Ecuación 1-1}$$

Anteriormente se usaba como material de referencia el PDB (Pee Dee Belemnite) <sup>[12]</sup> que es carbonato de calcio procedente de un fósil, la *Belemnitella americana*, de la formación cretácica Pee Dee en Carolina del Sur hasta que se agotó, por lo que comenzó a utilizarse el carbonato VPDB. La  $\delta$  de PDB es muy similar a la del ion bicarbonato disuelto en el océano. <sup>[19]</sup>

Este estándar está definido para que  $\delta^{13}\text{C}_{\text{NBS19/VPDB}} = +1.95 \text{ ‰}$

## Normalización por fraccionamiento isotópico

El principal estándar moderno de  $^{14}\text{C}$  es el ácido oxálico I ( $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ ). Este estándar fue preparado en 1955 de una cosecha de remolacha por la Agencia Nacional de

Estándares de EUA (NBS, por sus siglas en inglés) que posteriormente cambió de nombre a Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST, por sus siglas en inglés). Las mediciones deben estar relacionadas con ácido oxálico I como estándar o con otro estándar relacionado al ácido oxálico I. El valor de referencia de datación por radiocarbono aceptado internacionalmente es el 95% de la actividad promedio del ácido oxálico  $A_{ON}$  en 1950 normalizado a  $\delta^{13}C = -19\text{‰}$  con respecto a PDB o como el 74.59% del Ácido Oxálico II (NBS SRM 4990C, OXA-II) normalizado a  $\delta^{13}C_{VPDB} = -25\text{‰}$  con respecto a PDB. [48]

Se recomienda reportar los resultados de las mediciones relativas a la actividad absoluta estándar internacional  $A_{abs}$ , la cual es la actividad de  $^{14}C$  del ácido oxálico I, la cual no cambia con el tiempo. La  $A_{abs}$  está relacionada con la actividad  $A_{ON}$ , la cual corresponde al 95% de la actividad promedio del ácido oxálico  $A_{Ox}$ , normalizando el fraccionamiento de  $^{13}C$  (Ecuación 1-2).

$$A_{ON} = 0.95A_{Ox} \left[ 1 - \frac{2(19 + \delta^{13}C)}{1000} \right] \quad \text{Ecuación 1-2}$$

La  $A_{ON}$  depende del año de la medición ( $y$ ) y se corrige para el decaimiento entre 1950 y el año de medición (Ecuación 1-3). Esta corrección permite obtener  $A_{abs}$ , que corresponde a la actividad específica hipotética de carbono atmosférico del año 1950, haciendo la suposición de que esta atmósfera hipotética está libre de perturbaciones humanas.

$$A_{abs} = A_{ON} e^{\lambda(y-1950)} \quad \text{Ecuación 1-3}$$

$$\text{Donde } \lambda = \frac{1}{8267} \text{ años}^{-1} \quad \text{Ecuación 1-4}$$

También se recomienda normalizar con  $\delta^{13}C = -25\text{‰}$ , con referencia a PDB, la actividad de la muestra  $A_m$ , obteniendo la actividad de la muestra normalizada  $A_{mN}$  como se observa en la ecuación 1-5.

$$A_{mN} = A_m \left[ 1 - \frac{2(25 + \delta^{13}C)}{1000} \right] \quad \text{Ecuación 1-5}$$

Para reportar las mediciones de  $^{14}\text{C}$  se deben tomar en consideración la actividad normalizada de la muestra  $A_{mN}$  y la actividad absoluta estándar internacional  $A_{abs}$  (Ecuación 1-6).

$$\Delta^{14}\text{C} = \left( \frac{A_{mN}}{A_{abs}} - 1 \right) \times 1000\text{‰} \quad \text{Ecuación 1-6}$$

La razón entre  $A_{mN}$  y  $A_{abs}$  se conoce como porcentaje de carbono moderno (pMC) [47] (Ecuación 1-7).

$$pMC = \frac{A_{mN}}{A_{abs}} \times 100 \quad \text{Ecuación 1-7}$$

También se propone que cuando se van a determinar muestras por el método de pico de la bomba, se expresen como relaciones independientes del tiempo, siempre y cuando sean medidas al mismo tiempo, como se expresa la fracción de carbono moderno  $F^{14}\text{C}$ , en la ecuación 1-8. [40]

$$F^{14}\text{C} = \frac{A_{mN}}{A_{ON}} \quad \text{Ecuación 1-8}$$

Otra manera de reportar los resultados de las mediciones de  $^{14}\text{C}$  es como Edad Radiocarbono (años BP, before present) como se observa en la ecuación 1-9.

La relación entre  $A_{mN}/A_{ON}$  no cambia con el tiempo, se mantiene igual a la proporción de 1950 porque tanto la muestra como el ácido oxálico pierden su  $^{14}\text{C}$  a la misma velocidad. Por lo tanto, la edad calculada ( $t$ ), es un número fijo independiente del año de medición. Por convención 1950 equivale a 0 años BP. [47]

$$t = -8033 \ln \frac{A_{mN}(\text{en } 1950)}{A_{ON}(\text{en } 1950)} \quad \text{Ecuación 1-9}$$

## Métodos morfológicos para la estimación de edad en México

El Instituto de Ciencias Forenses (INCIFO) señala que de enero a noviembre del 2017 recibieron más de 4,400 cadáveres, de los cuales aproximadamente 1,000 cuerpos o restos ingresaron como no identificados. De acuerdo con los peritos en Odontología Forense, cuando un cuerpo desconocido ingresa al INCIFO, se le

realiza una necropsia para identificar la causa de muerte, posteriormente los cuerpos o restos son analizados por los peritos en identificación (antropología, dactiloscopia, odontología y genética forense), para poder crear el perfil de la víctima.

El área de antropología forense se encarga de identificar a una persona mediante sus características físicas como son el sexo, la edad, la estatura y señas particulares cuando las condiciones de los restos lo permiten.

El perito en dactiloscopia toma impresión de las huellas digitales de los cuerpos y posteriormente los compara con documentos oficiales que contengan huella de una persona que se encuentra desaparecida o extraviada.

El perito en genética forense extrae una muestra de ADN que se guarda para su análisis hasta que el perfil del cadáver coincida con el de una persona con reporte de desaparición y entonces se compara la muestra de ADN extraída con el ADN de un familiar. Este método únicamente es confirmativo, esto se debe a que actualmente no se cuenta con una base de datos de perfil genético de toda la población.

En el área de odontología forense se aplica el método de Lamendin para estimar la edad de los cadáveres que por sus características externas son mayores de 30 años. En el caso de cadáveres que se observan son menores de 30 años, la edad es estimada mediante las tablas de erupción dental.

En el método de Lamendin se utilizan dientes uniradiculares, preferentemente mandibulares, que no presenten proceso carioso destructivo, ni una enfermedad periodontal. El método de Lamendin consiste en la medición de la periodontosis, la transparencia radicular y la altura de la raíz (figura 1.5) y después se aplica la siguiente ecuación<sup>[28]</sup>:

$$\text{Edad} = P(0.18) + T(0.42) + 25.53$$

Donde:  $P = LP(100)/LR$  y  $T = LT(100)/LR$

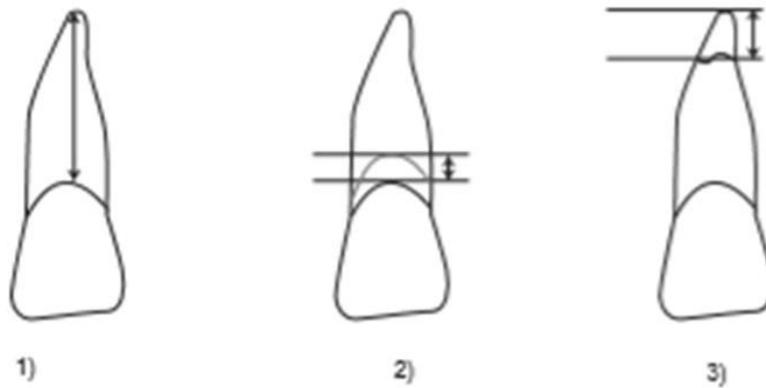


Figura 1.5. Medidas del diente según Lamendin.

- 1) Altura de la raíz (LR). 2) Longitud de periodontosis (LP). 3) Longitud de transparencia radicular (LR).

La transparencia radicular es el resultado de la deposición de cristales de hidroxiapatita en el túbulo dental.

Una de las ventajas de este método es que el diente se extrae del cráneo y después de ser analizado puede colocarse de nuevo en la cavidad. El resultado se obtiene con un rango de  $\pm 6$  años donde se incluyen aspectos biológicos y alimenticios del cadáver. Una de las desventajas es que en el caso de que el diente se encuentre carbonizado, este método ya no es aplicable.

Cuando el método de Lamendin no se puede aplicar, se analizan las suturas del cráneo, en especial las suturas palatinas ya que éstas se mantienen en buenas condiciones a pesar de los traumas térmicos y descomposición. El Método de Mann establece que se puede conocer el rango de edad de adultos mayores de 20 años según el porcentaje de obliteración de las suturas palatinas de su cráneo (figura 1.6).

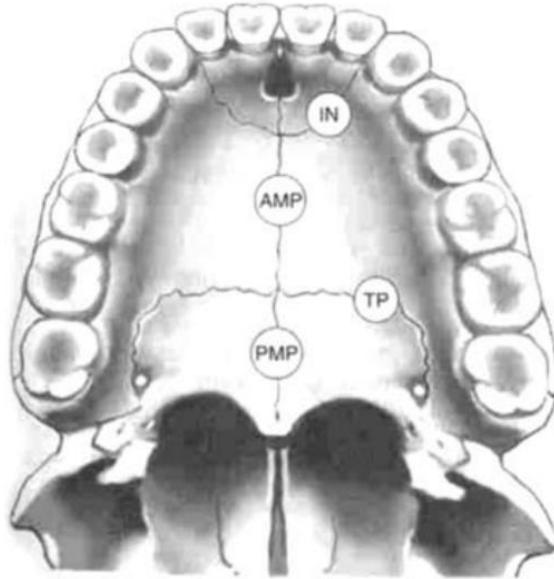


Figura 1.6. Representación de la ubicación de las suturas en el paladar.

IN = incisiva, TP = transversa palatina, AMP = palatina media anterior, PMP = palatina media posterior.

Tomada de Compendio de métodos antropológicos forenses para la reconstrucción del perfil osteobiológico. Tomo III. Estimación de la edad osteológica en adultos. Udo Krenzer 2006

El patrón de obliteración es el siguiente: Primero ocurre el cierre de la sutura incisiva, posteriormente el de la sutura transversa palatina, seguida de la sutura palatina media posterior y al final la sutura palatina media anterior. Cuando un cráneo presenta ninguna o menos de la mitad de obliteración de la sutura incisiva y ninguna obliteración en las demás suturas, se trata de un individuo menor de 18 años. [29]

## **Dientes como indicadores de la edad**

Las piezas dentales pueden clasificarse de acuerdo al tiempo en que permanecen en la cavidad bucal o de acuerdo a su forma y función.

De acuerdo al tiempo, los dientes primarios son los que aparecen aproximadamente a los 8 meses de nacido y terminan de formarse a los 3 años, consisten en 20 piezas dentales, 10 por mandíbula. Los dientes permanentes

reemplazan a los dientes primarios a partir de los 6 años de edad y terminan de formarse entre 18 y 25 años, son 32 piezas dentales, 16 por mandíbula.

De acuerdo a su forma y función se dividen en incisivos, caninos, premolares y molares. Los incisivos tienen bordes afilados y se usan para cortar. Los caninos tienen forma cónica y su función es desgarrar. Los premolares y molares tienen base aplanada y sirven para triturar y moler alimentos.

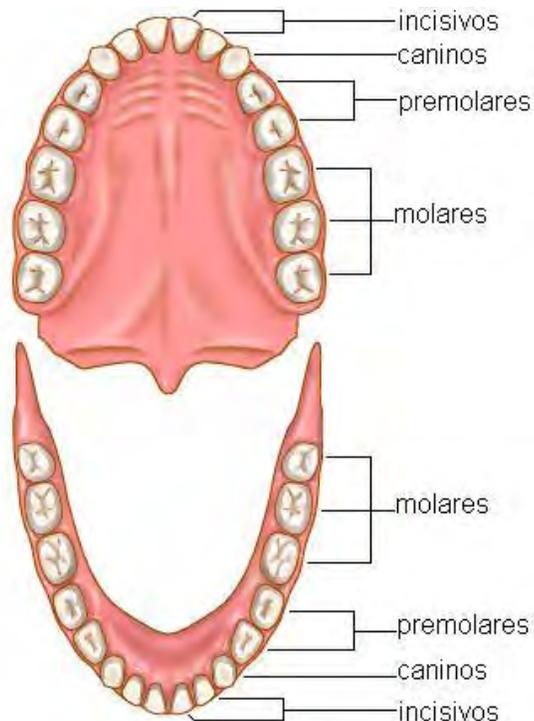


Figura 1.7. Mandíbulas dentarias.

Cada mandíbula cuenta con 16 piezas dentales de las cuales 4 son incisivos, 2 son caninos, 4 son premolares y 6 molares.

Imagen tomada de [http://www.genomasur.com/BCH/BCH\\_libro/capitulo\\_12.htm](http://www.genomasur.com/BCH/BCH_libro/capitulo_12.htm)

### **Estructura dental**

Las piezas dentales varían en forma y tamaño, pero todos constan de corona y raíz. Se denomina corona a la porción libre de encía. La raíz es la parte del diente que se inserta en el hueso maxilar y se fija al mismo por medio del ligamento periodontal (tejido conectivo fibrilar).

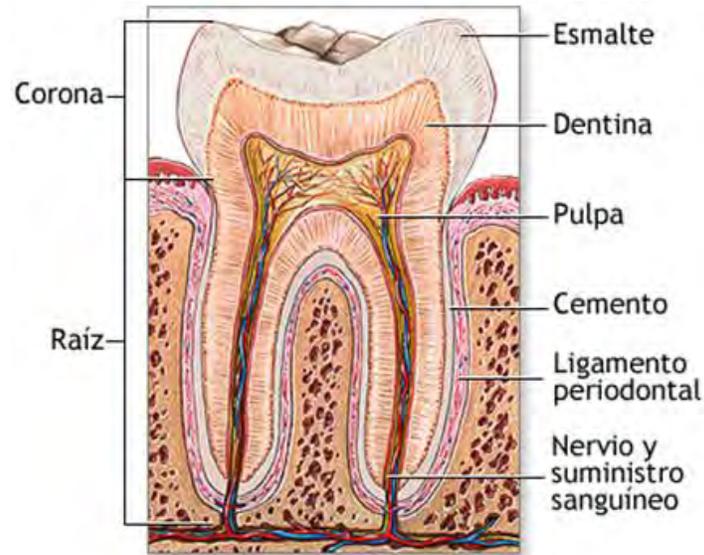


Figura 1.8. Anatomía dental

Imagen tomada de

<http://eclinicalworks.adam.com/content.aspx?productid=39&pid=5&gid=002214&print=1>

Como se puede observar en la figura 1.8, en el centro del diente, dentro de la cámara pulpar y los conductos radiculares, podemos encontrar el único tejido blando que conforma al diente, la pulpa dental, responsable de la sensibilidad y de la formación de la dentina.<sup>[15]</sup> Se divide en dos porciones, la pulpa coronaria y la pulpa radicular, debido a donde se encuentra. La pulpa está compuesta por tejido conjuntivo laxo, la principal función de este tipo de tejido es dar soporte. El 75% de la pulpa es agua y el 25% restante está conformado por los elementos orgánicos odontoblastos, fibroblastos, fibrocitos y proteínas como colágeno y elastina.<sup>[8]</sup> En la pulpa de los dientes humanos, la cantidad de colágeno es del 26% y 32% del peso desecado en premolares y molares respectivamente.<sup>[49]</sup>

El tejido pulpar sufre modificaciones, como la disminución del volumen en la cámara pulpar debido a la formación de la dentina secundaria y si es necesario, terciaria.

La dentina es el tejido mineralizado de mayor volumen en la pieza dental. Es sintetizado por los odontoblastos y presenta un color blanco amarillento que depende de distintos factores como la mineralización y la edad. Está compuesta

en un 70% de materia inorgánica, principalmente hidroxiapatita de calcio  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , el 18% es materia orgánica que en su mayoría son fibrillas de colágeno y el 12% es agua.<sup>[18]</sup>

Debido a su formación, se pueden distinguir tres tipos de dentina:

- Dentina primaria. Se forma desde el inicio del desarrollo dentario hasta que termina de formarse la raíz. La capa externa (la cual se forma primero) se conoce como dentina del manto y no se encuentra tan mineralizada como el resto de la dentina primaria que se denomina dentina circumpulpar.
- Dentina secundaria. Se forma después de que se termina de formar la raíz del diente. Su estructura es similar a la dentina primaria aunque no es tan mineralizada y se deposita preferentemente arriba y debajo de la cámara pulpar.
- La dentina terciaria se forma como reacción a estímulos nocivos, como son caries o fracturas.<sup>[16]</sup>

Aunque la dentina es un tejido dinámico (metabólicamente activo), lo que permite que se forme tejido dentario durante toda la vida y que pueda repararse cuando sufre algún daño<sup>[18] [50]</sup>, en la literatura se encuentran autores que señalan que la dentina no sufre remodelaciones a lo largo de la vida del diente.<sup>[17] [26] [39]</sup> El debate respecto a este tema aún está vigente.

En la parte externa de la corona se encuentra el esmalte, es un tejido duro sintetizado por ameloblastos. Está compuesto en un 96% por materia inorgánica, principalmente  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , de 2 a 4% aproximadamente corresponde a  $\text{CaCO}_3$ <sup>[3]</sup>, 1.7% se compone de proteínas como son amelogeninas y enamelinas, y el 2.3% restante es agua. Debido a su alto grado de mineralización el esmalte es translúcido y, después de ser formado por los ameloblastos, éstos son destruidos mediante apoptosis durante la erupción dental, por lo que el esmalte no posee poder regenerativo.<sup>[15]</sup>

La superficie de la raíz está recubierta por cemento que se compone en un 46% por cristales de  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , un 22% de colágeno y el 32% restante es agua. Su formación sucede después de formarse la dentina y tiene la capacidad de

formarse aún después de que el diente ha hecho erupción para compensar alguna pérdida que pueda ocurrir debido al desgaste del diente. [18]

### Crecimiento dental

Según los estudios realizados en 1960 por Nolla, donde analizó radiografías de niños americanos, cada diente tiene 10 etapas de desarrollo (figura 1.9). En los dientes temporales, la formación comienza con la aparición de la cripta ósea dental y en el caso de los dientes permanentes, la formación comienza en la etapa 2 donde sucede la calcificación inicial y comienza a formarse la corona. [37]

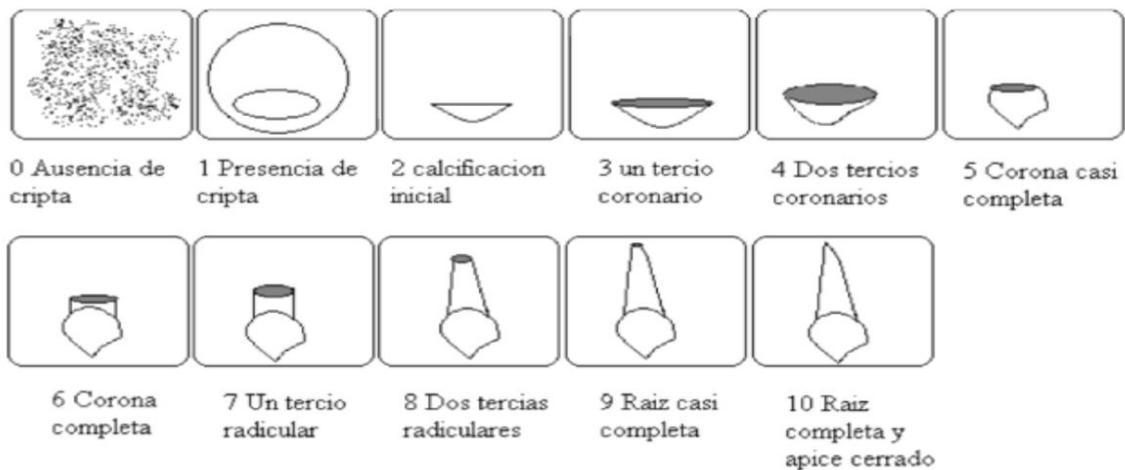


Figura 1.9. Etapas de crecimiento dental establecido por Nolla (1960).

Imagen obtenida de "Etapas de Desarrollo Dental (Tabla de Nolla), Extracciones seriadas, Orden de Erupción Favorable en Ambas Arcadas" <http://m.exam-10.com/medicina/7121/index.html>

El esmalte termina de formarse antes que la raíz como se observa en la tabla 1.1 donde se muestra la edad promedio en la que terminan de formarse los distintos tipos de dientes.

Tabla 1.1. Tiempo en que terminan de formarse el esmalte y la raíz en piezas dentales según el estudio realizado por Schour y Massler en 1940 <sup>[50]</sup>

Tipo de diente	Dientes superiores		Dientes inferiores	
	Formación de esmalte (años)	Formación de raíz (años)	Formación de esmalte (años)	Formación de raíz (años)
Incisivo central	4.5 ± 0.5	10	4.5 ± 0.5	9
Incisivo lateral	4.5 ± 0.5	11	4.5 ± 0.5	10
Canino	6.5 ± 0.5	14.0 ± 1.0	6.5 ± 0.5	13.0 ± 1.0
Primer premolar	5.5 ± 0.5	12.5 ± 0.5	5.5 ± 0.5	12.5 ± 0.5
Segundo premolar	6.5 ± 0.5	13.0 ± 1.0	6.5 ± 0.5	13.5 ± 0.5
Primer molar	2.75 ± 0.25	9.5 ± 0.5	2.75 ± 0.25	9.5 ± 0.5
Segundo molar	7.5 ± 0.5	15.0 ± 1.0	7.5 ± 0.5	14.5 ± 0.5
Tercer molar	14.0 ± 2.0	21.5 ± 3.5	14.0 ± 2.0	21.5 ± 3.5

### Aplicaciones forenses

La Odontología Forense es la rama de la Odontología que, en interés de la justicia, examina la evidencia dental. Entre sus principales aplicaciones se encuentra la identificación de cadáveres y restos humanos y la valoración de heridas hechas por mordedura. <sup>[33]</sup>

El uso de los dientes se debe a que estas piezas soportan diversos traumatismos debido a que el esmalte es el tejido más duro del cuerpo humano y la raíz se encuentra protegida por el hueso alveolar. Además, pueden soportar temperaturas de hasta 1600°C sin pérdida importante de su micro estructura, por lo que permanecen casi intactos mucho tiempo después de que los tejidos blandos y esqueléticos se han destruido por incineración, e inclusive a pesar de que el cuerpo fuera expuesto a una explosión o incineración. <sup>[31]</sup>

Anteriormente se mencionaron los métodos de Lamendin y Mann para determinar la edad de un cadáver, a continuación se enlistan otros métodos y técnicas para la estimación de edad de un sujeto:

- Por desgaste dental. Este proceso tiene dos componentes, el primero es el resultado del contacto diente contra diente y se conoce como atrición, el segundo es el contacto del diente con otros materiales y lleva por nombre abrasión.<sup>[43]</sup> En este método se establecieron una escala de desgaste<sup>[20]</sup>:  
 Grado 0 No existe desgaste.  
 Grado 1 El esmalte se encuentra pulido.  
 Grado 2 Se observa desgaste de las puntas de las cúspides de la corona.  
 Grado 3 Aparecen puntos aislados de dentina expuesta.  
 Grado 4 Se unen varios puntos y se afecta la cavidad pulpar.  
 Grado 5 La corona se expone y se observa destruida en un 50%.  
 Grado 6 La corona está completamente destruida.

Tabla 1.2. Grados de desgaste dental a distintas edades. Donde I= Incisivo, C=Canino, P= Premolar, M1= Primer molar, M2=Segundo molar.<sup>[20]</sup>

Edad	I	C	P	M1	M2
10-13	0	0	0	0	0
13-14	0-1	0	0	0	0
14-16	1	0	1	0	0
16-18	1-2	1	1	1	0
18-20	2-3	2	2	2	1
20-25	2-3	2	2	2	2
25-30	3	2	2-3	2-3	2
30-35	3	2-3	2-3	3	2-3
35-40	3	3	3	3-4	3
45-50	3-4	3-4	3-4	4	3-4
50-60	4-5	4	4	5	4-5
60-70	5-6	5	5-6	5-6	6

- Racemización del ácido aspártico. La racemización es un proceso natural en el que los compuestos ópticamente activos se convierten en una mezcla racémica. Por ejemplo, en el caso de un aminoácido, éste tiene dos isómeros L (levógiro) y D (dextrógiro) y la racemización es el proceso en el

que se busca convertir la forma D en L o L en D para tener la misma cantidad de ambas formas. La forma levógira de los aminoácidos predomina en el organismo humano ya que es la que se utiliza en la síntesis de proteínas. Cuando las proteínas se forman a temprana edad, se observa un aumento de ácido D-aspártico y conforme aumenta la edad de un individuo, también aumenta esta forma de ácido. [23] La composición de la matriz orgánica de la dentina es suficientemente homogénea para permitir una determinación reproducible de la edad al momento de la muerte. Esto se logra mediante el análisis del total o extractos crudos acídicos de dentina sin más que la purificación de las proteínas permanentes que muestran una acumulación edad dependiente de ácido D-aspártico. [4]

### **Dientes y el Pico de la bomba**

Se han realizado diversos estudios sobre la aplicación del  $^{14}\text{C}$  en el área forense, basados en la curva conocida como “Pico de la bomba”, que ilustra la concentración de  $^{14}\text{C}$  presente en la atmósfera a partir de 1950 hasta el año actual. Ya que nosotros incorporamos  $^{14}\text{C}$  a lo largo de toda nuestra vida, el nivel de este radioisótopo se refleja en nuestros tejidos. Uno de los primeros estudios fue publicado en el año 1998 donde analizaron cabello, colágeno de huesos y lípidos de la médula ósea para conocer la fecha de deceso de un bebé, hombres de 20, 30 y 73 años y mujeres 46 y 85 años [52]. En el año 2000 se determinó el  $^{14}\text{C}$  también en cabello, colágeno de hueso y lípidos de la médula ósea y huesos correspondientes a dos hermanas que fueron encontradas muertas en Viena en 1992. [53] En ambos estudios se concluyó que la variación de carbono por remodelación de los tejidos, es importante para determinar qué material se va a utilizar para determinar la fecha de muerte de una persona, en el caso del cabello y los lípidos que se encuentran en huesos y en la médula ósea la remodelación es muy rápida y cesa cuando la persona fallece, por lo que es posible determinar el año de muerte. Por otro lado, la remodelación del colágeno de los huesos es más

lenta por lo que, al analizarlo, no podemos obtener el año en que murió una persona, sino años anteriores al deceso.

En el 2005 se propuso determinar el año de nacimiento de las personas analizando el  $^{14}\text{C}$  presente en el esmalte dental debido a que, una vez que se termina de formar el esmalte, no sufre remodelaciones y refleja la cantidad de  $^{14}\text{C}$  que había en la atmósfera cuando terminó de formarse. En ese estudio se estableció que el error absoluto asociado a este método es de aproximadamente  $1.6 \pm 1.3$  años. <sup>[47]</sup>

A partir de ahí se han publicado diversos estudios donde se analiza el carbono presente en el esmalte y en la parte orgánica de la raíz, que en este estudio llamamos “colágeno” pero no es más que restos de proteínas. <sup>[22]</sup> En estos estudios se concluyó que se prefiere estudiar el esmalte ya que, como se había mencionado antes, no se remodela a lo largo del tiempo. <sup>[24] [7]</sup> Pero se encontró que si solo conocemos la información del esmalte, no es posible determinar si ese valor de  $F^{14}\text{C}$  corresponde al lado ascendente o descendente de la curva del Pico de la Bomba, pero sí es posible saber a qué lado de la curva corresponde si también conocemos la información de la fracción orgánica de la dentina <sup>[9] [27]</sup> ya que el esmalte y la raíz dental tienen distintos tiempos en los que terminan de formarse como se observa en la tabla 1.1. Y aunque aún sigue vigente el debate sobre si la dentina sufre remodelaciones o no a lo largo de la vida, podría ser que en la dentina se presenta cierto “recambio o remodelación” <sup>[7]</sup>, pero no es tan significativa como para determinar el año de muerte de una persona como se señala en algunos estudios. <sup>[50]</sup>

# Capítulo 2

## Objetivos

### Objetivo general

Determinar el año de nacimiento de una persona, a partir de la cuantificación de  $^{14}\text{C}$  presente en esmalte y colágeno de dentina de dientes permanentes de personas que viven en la Ciudad de México mediante Espectrometría de Masas con Aceleradores, como propuesta de técnica para ayudar a establecer el perfil de cadáveres y restos humanos.

### Objetivos particulares

- Extraer el colágeno presente en la dentina de la raíz dental por tratamiento ácido.
- Extraer el carbono que se encuentra en el  $\text{CaCO}_3$  del esmalte dental mediante digestión ácida.
- Determinar el contenido de  $^{14}\text{C}$  de cada muestra por Espectrometría de Masas con Aceleradores.
- Establecer el año en que terminó de formarse el diente utilizando la curva de calibración del software CALIBomb que corresponde a la zona 2 del Hemisferio Norte.
- Comparar los años de nacimiento obtenidos cuando se analiza colágeno y cuando se analiza el esmalte con el año de nacimiento conocido.

# Hipótesis

Debido a que el tiempo de formación de la raíz y esmalte de cada tipo de pieza dental es conocido, es posible estimar el año de nacimiento de individuos de la población mexicana a través del contenido de  $^{14}\text{C}$  en sus dientes.

# Capítulo 3

## Materiales y métodos

Los dientes que se utilizaron para realizar este trabajo fueron proporcionados por la C.D. Graciela Solís y la Dra. Ivet Gil. Estas piezas pertenecieron a personas que nacieron entre 1935 y 2002 en México y todas fueron extraídas en la Ciudad de México en los años 2014, 2015 y 2016.

A cada muestra se le asignó una clave de registro y se incluyó en el inventario del LEMA (tabla 3.1).

Tabla 3.1. Tipos de dientes que fueron analizados y su clave de registro

Muestra	Tipo de diente
223	Tercer molar inferior
269	Tercer molar inferior
373	Primer premolar superior
374	Primer premolar superior
399	Tercer molar inferior
404	Canino superior
584	Primer premolar inferior
595	Canino superior
596	Canino superior
637	Incisivo central inferior

En la figura 3.1 se muestran fotografías de algunos de los dientes analizados donde se puede observar el estado físico de los mismos.

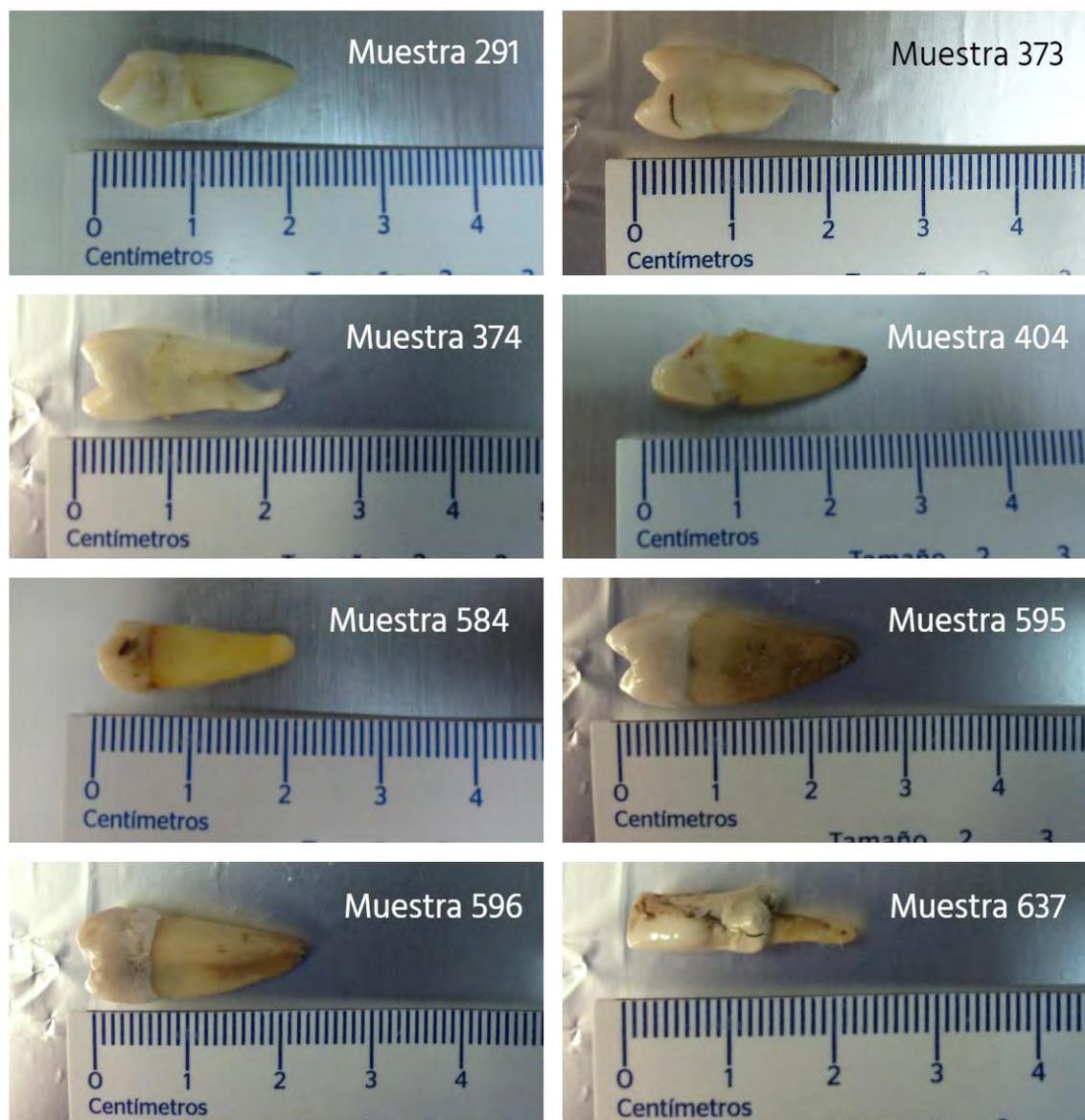


Figura 3.1. Estado físico de las muestras dentales

### **Limpieza de las muestras dentales**

Para retirar los restos de sangre, tejido, algodón y otro tipo de contaminantes que se encontraba en la superficie de algunas de las muestras, se colocó cada diente en un tubo transparente de polipropileno que contenía agua desionizada y se sumergió en un baño ultrasónico marca Cole-Parmer modelo 08895-02 a temperatura ambiente durante 15 minutos y posteriormente se desechó el agua

desionizada. Estos pasos se repitieron hasta que el agua desionizada ya no presentara turbidez después del baño ultrasónico.

Los contaminantes adheridos que no se lograron retirar con los baños ultrasónicos, se separaron mecánicamente utilizando una espátula de acero inoxidable.

### **Corte de las piezas dentales**

Como lo indica la figura 3.2, cada pieza dental fue dividida en dos partes realizando un corte longitudinal, y una de esas mitades fue cortada transversalmente en la zona que corresponde al cuello. La mitad completa se utilizó para la extracción de colágeno de la dentina, y al esmalte de corona de la otra mitad se le realizó el tratamiento del carbonato de calcio.



Figura 3.2. Cortes dentales.

A cada pieza dental (a) se le realiza un corte longitudinal (b). Posteriormente una mitad es cortada transversalmente por el cuello que separa la corona de la raíz (c).

Estos cortes se realizaron con una pieza de mano de alta velocidad y una fresa punta diamante *standard* ISO 166-010M.

En el caso de que las muestras tuvieran algún tratamiento dental como amalgamas o algún tipo de resina, estas se retiraban para que no interfirieran en el análisis.

Después de que se cortaron las muestras, se les realizó un lavado con agua desionizada y se secaron en una estufa Barnstead (Lab-Line modelo 3512) a 65°C durante aproximadamente 48 horas.

### **Extracción y combustión de colágeno**

A la mitad completa de diente se le agregaron 7mL de HCl 0.5 M y se enfriaron a 5°C durante varios días hasta que ya no se observó burbujeo. Posteriormente se realizaron lavados con agua desionizada hasta que se llegó a pH=5. Posteriormente, para gelatinizar el colágeno, se agregaron 7mL de HCl 0.2 M y se mantuvieron a 75°C durante aproximadamente 13 horas en un bloque de calentamiento. La muestra se transfirió a un tubo de polipropileno marca Roth y se congeló con nitrógeno líquido, para posteriormente ser liofilizada durante 24 horas.

Para obtener carbono en forma de CO<sub>2</sub>, se pesaron 4 mg de muestra en un crisol de estaño que se combustionó en el Analizador Elemental vario MICRO cube marca Ionplus (Figura 3.3) a 950°C, los gases que son resultado de la combustión son CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub> y SO<sub>2</sub>, estos gases fueron transportados por He (INFRA, pureza al 99.998%) a un tubo de reducción y después fueron selectivamente separados en una columna de desorción a temperatura programada y se desplazaron por un detector de termoconductividad. Cabe mencionar que el N<sub>2</sub> es el primero en ser detectado ya que fluye libremente por los tubos de separación, la temperatura de la columna se incrementa y a 60°C se libera CO<sub>2</sub>, a 100°C se libera H<sub>2</sub>O<sub>(g)</sub> y a 200°C se libera SO<sub>2</sub>. Posteriormente el CO<sub>2</sub> se inyectó al grafitizador AGE III marca Ionplus.



Figura 3.3. Analizador Elemental vario MICRO cube acoplado a grafitizador AGE III.

### **Digestión de iones carbonatos**

A la mitad de corona dental se le agregaron 7mL de NaOH 10M, el tubo que contiene la muestra se sumergió en un baño ultrasónico a 50°C durante 30 minutos, posteriormente se renovaron los 7mL de NaOH 10M y la muestra se mantuvo a 50°C durante aproximadamente 24 horas en un bloque de calentamiento. Este proceso se repitió durante una semana. Posteriormente la muestra fue lavada 4 veces con 7mL de HCl 0.25M y con múltiples lavados con agua desionizada hasta que el pH fuera neutro. La muestra se secó en una estufa *Barnstead (Lab-Line modelo 3512)* a 60°C durante aproximadamente 48 horas. Con una espátula de acero inoxidable se removieron los remanentes de dentina que aún estaban adheridos al esmalte. La muestra se sumergió en un baño ultrasónico con agua desionizada a temperatura ambiente durante 15 minutos y nuevamente la muestra se secó a 65°C durante aproximadamente 48 horas.

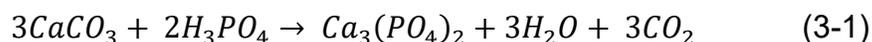
Para la formación de CO<sub>2</sub>, se pesaron 240mg de esmalte dental y se colocaron en un tubo de borosilicato con tapa septum (*Labco Exetainers*<sup>®</sup>), el tubo se colocó en

el bloque de calentamiento del Sistema de Manejo de Carbonatos (*CHS*, por sus siglas en inglés) marca Ionplus que se muestra en la figura 3.4, este equipo cuenta con muestreador automático, trampa de agua ( $P_2O_5$ ) y adaptador de flujo de helio. El sistema de manejo de carbonatos se encuentra acoplado al grafitizador AGE III, Ionplus.



Figura 3.4. Sistema de manejo de carbonatos y muestreador automático.

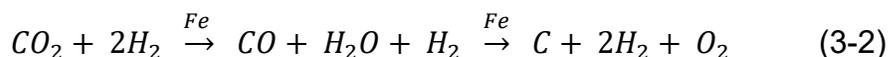
En el tubo de reacción se realizó la digestión del  $CaCO_3$  presente en el esmalte con 1mL de  $H_3PO_4$  al 85%. La digestión se llevó a cabo durante 1 hora siguiendo la reacción 3-1.



El  $CO_2$  formado se desplazó al reactor del grafitizador AGE III utilizando helio como gas transportador.

## Grafitización

Para realizar mediciones de radiocarbono por EMA sólo se requiere introducir un miligramo de carbono en forma de grafito al separador isotópico, por lo que es necesario reducir el CO<sub>2</sub> a grafito utilizando hierro como catalizador, este proceso es conocido como reacción de Bosch (3-2).



El CO<sub>2</sub> de cada muestra quemada en el analizador elemental o tratada en el sistema de manejo de carbonatos es adsorbido en una trampa de zeolita tipo 13X (Na<sub>86</sub>[(AlO<sub>2</sub>)<sub>86</sub>(SiO<sub>2</sub>)<sub>106</sub>] · H<sub>2</sub>O) y al ser calentada a 490°C libera el dióxido de carbono. Cada reactor del AGE III se encuentra conectado a un tubo de reacción, el cual contiene aproximadamente 5mg de hierro en polvo marca Alfa Aesar con número de malla 325 al que, antes de tener contacto con la muestra, se le generó una atmósfera inerte con Ar (INFRA, 99.997% de pureza). A cada reactor que se ha transferido el CO<sub>2</sub>, se le añade H<sub>2</sub> (INFRA, 99.999% de pureza). Los hornos del equipo fueron calentados a 580°C y se llevó a cabo la reacción de Bosch (3-2) durante dos horas.<sup>[36]</sup> El agua, producto de la reacción, se enfrió (-10°C) mediante enfriadores tipo Peltier compacto y el carbono en forma de grafito fue depositado en el polvo de hierro.

## Prensado de las muestras

El carbono depositado en hierro se prensó en un cátodo (figura 3.5) de aluminio con una presión mínima de 150 psi hasta que se observó una superficie compacta, lisa y homogénea. Posteriormente el cátodo se colocó sobre un portacátodos de acero inoxidable y se introdujo en el separador isotópico.

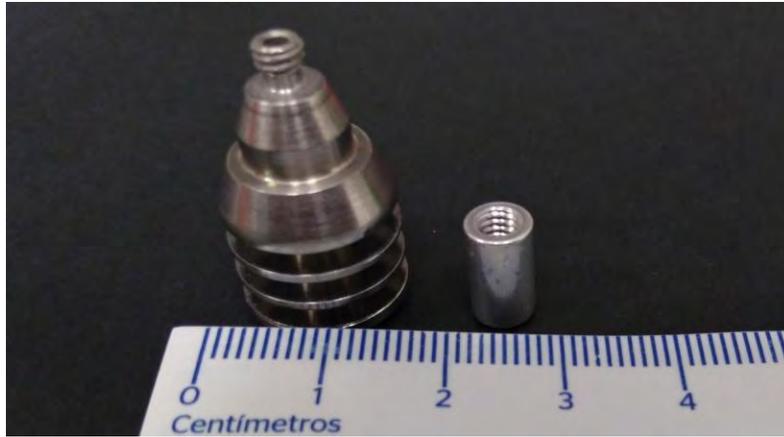


Figura 3.5. Portacátodo y cátodo donde se prensa el grafito.

### Análisis por radiocarbono

El Laboratorio de Espectrometría de Masas con Aceleradores (LEMA) cuenta con un acelerador tipo Tándem de 1 millón de Volts, diseñado y fabricado por la empresa holandesa High Voltage Engineering Europe (HVEE), y se encuentra acoplado a dos espectrómetros de masas. Esto permite realizar el análisis de radioisótopos como  $^{10}\text{Be}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{26}\text{Al}$ ,  $^{129}\text{I}$ ,  $^{239}\text{Pu}$ ,  $^{240}\text{Pu}$  y  $^{242}\text{Pu}$ .



Figura 3.6. Separador isotópico con acelerador tipo tándem de 1MV.

Este sistema se divide en tres partes:

- Zona de baja energía, la cual está conformada por la fuente de iones y el sistema de inyección.
- Acelerador, donde son acelerados los iones del haz y se lleva a cabo el proceso *stripping*.
- Zona de alta energía, mediante un deflector electrostático, uno magnético y detectores de partículas, se lleva a cabo la última selección de masas.

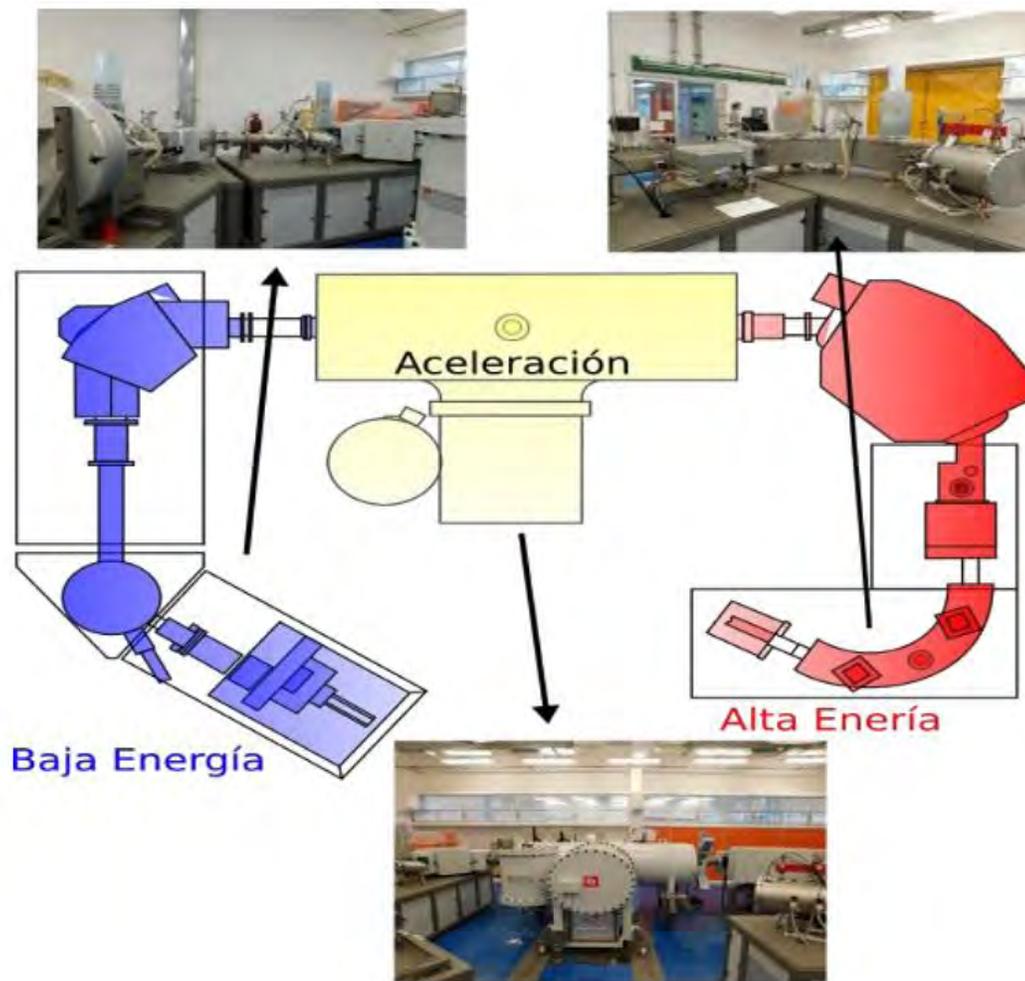


Figura 3.7. Esquema ilustrado del separador isotópico con que cuenta el LEMA. La zona azul representa el espectrómetro de masas de baja energía, en amarillo se ilustra el acelerador electrostático tipo Tandem y en rojo el espectrómetro de masas de alta energía.

## Baja Energía

En esta zona es donde son eliminados los átomos que no son de nuestro interés. El portacátodos que contiene la muestra es colocado en la fuente de iones (HVEE modelo SO-110) en el centro de un toroide metálico con una tensión de -35kV, denominada voltaje del cátodo. La fuente cuenta con un reservorio de cesio, que es el elemento con potencial de ionización más bajo y se ioniza térmicamente con una eficiencia de casi 100%, y un ionizador con voltaje de extracción de -27.72 kV. El Cs es calentado hasta 90°-100°C y, ya en estado gaseoso, se adhiere a la superficie del ionizador que se encuentra a 1100°C, ionizándose térmicamente forma un haz de iones de Cs<sup>+</sup> que se incide sobre la muestra fraccionándola en partículas positivas, negativas y neutras. Por la diferencia de potencial en el toroide y el ionizador, un flujo de iones negativos es extraído de la fuente.

Estos iones negativos se “filtran” mediante un deflector electrostático esférico, el cual se compone de dos placas curvas con radios  $r_1$  y  $r_2$  con un voltaje constante entre ellas, y solo se permite el paso de partículas con una energía cinética de 35keV y con carga (-).

El haz de iones negativos se somete a un sistema de inyección secuencial (dos placas con potencial electrostático) para que de esta manera se puedan inyectar al acelerador los isótopos de <sup>12</sup>C, <sup>13</sup>C y <sup>14</sup>C.

## Acelerador

El LEMA cuenta con un acelerador tipo tándem, por lo tanto, es un acelerador electrostático; es decir, el campo eléctrico con el cual se aceleran las partículas, es el mismo todo el tiempo.

Cuando el haz de iones ingresa al acelerador las partículas cargadas son aceleradas hacia una terminal de alto voltaje cuando son negativas, en el caso de ser positivas se dirigen al exterior del acelerador a través de un tubo a alto vacío. En el centro del acelerador se encuentra la terminal metálica que llega hasta un millón de volts, esta terminal se aísla del medio externo con SF<sub>6</sub> a una presión de

5-6 bar para evitar ruptura dieléctrica. En esta zona se lleva a cabo el proceso de *stripping*, en el cual los iones negativos del haz pierden electrones y adquieren carga positiva en atmósfera inerte de argón a baja presión. Posteriormente las partículas vuelven a ser aceleradas hacia la zona de alta energía.

### **Alta Energía**

En esta zona se lleva a cabo la separación de los isótopos usando un deflector magnético y un deflector electrostático y se realiza el conteo de los isótopos estables de  $^{12}\text{C}$  y  $^{13}\text{C}$  ya que su trayectoria depende de sus distintos radios de curvatura y cada isótopo se coloca en su respectiva caja de Faraday dónde se mide su corriente eléctrica.

El detector que se utiliza para identificar el isótopo de interés es la cámara de ionización que contiene gas isobutano (PRAXAIR 99.99% de pureza). El ion atraviesa ese gas, ioniza las moléculas de isobutano y los electrones generados son colectados por electrodos. El ánodo está dividido en dos partes, por lo tanto, la señal detectada es la pérdida de energía de los iones.

De los resultados que se obtienen a partir de los isótopos de  $^{12}\text{C}$  y  $^{13}\text{C}$  detectados en las cajas de Faraday y las cuentas de  $^{14}\text{C}$  obtenidas en la cámara de ionización se obtienen los cocientes de valor isotópico del estándar, blancos y muestras de grafito obtenidos a partir de colágeno o esmalte.

# Capítulo 4

## Resultados y discusión

En este apartado se muestran los resultados de fracción moderna de  $^{14}\text{C}$  en esmalte y colágeno de 10 dientes de diferentes personas con nacionalidad mexicana cuya edad era conocida y de estándares para mostrar la validez de las mediciones.

### Validación de las mediciones

Se compararon los valores de estándares internacionales ya reportados con los valores de los mismos estándares medidos en el LEMA (Tabla 4.1) para realizar la validación de nuestras mediciones.

Los estándares de colágeno extraído de hueso corresponden a la 5ta Intercomparación Internacional de Radiocarbono (VIRI) y son de cinco tipos diferentes, pero en este estudio únicamente se utilizaron los tipo F y H. El estándar VIRI F es un hueso de caballo que proviene de una investigación arqueológica en Siberia en 2001, la muestra fue proporcionada por el Dr. Ganna Zaitseva del Instituto de Historia de Material Cultural de San Petesburgo, Rusia. El estándar VIRI H es de hueso de la mandíbula de una ballena que se encontraba en un depósito de arena en una playa en Svalbard, Spitsbergen, Noruega. <sup>[45]</sup>

Los estándares de carbonato y de celulosa se adquirieron en la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA por sus siglas en inglés). El estándar IAEA-C1 fue preparado por el Organismo Internacional de Energía Atómica a partir de una losa de mármol de Carrara recién cortado y molido hasta una fracción libre de polvo de 1,6 a 5,0 mm. El IAEA-C2 se obtuvo de un depósito de agua dulce de travertino (roca carbonatada, precipitada alrededor de manantiales con alta concentración de carbonato de calcio) recogido cerca de Múnich, Alemania y

homogeneizado. El IAEA-C3 fue preparado por W.G. Mook y J. van der Plicht en Groningen, Holanda. El material de partida era un lote de celulosa producida en 1989 a partir de una cosecha de árboles de 40 años. <sup>[13]</sup>

Tabla 4.1. Estándares utilizados durante las mediciones.

Estándar	Material	Valor promedio medido en LEMA pMC $\pm \sigma$	Valor certificado pMC $\pm \sigma$
VIRI F n=3	Hueso de caballo	73.73 $\pm$ 0.31	73.19 $\pm$ 0.40
VIRI H n=3	Hueso de ballena	30.30 $\pm$ 0.20	30.46 $\pm$ 0.80
IAEA-C1 n=3	Mármol	0.060 $\pm$ 0.007	0
IAEA-C2 n=8	Travertino	41.11 $\pm$ 0.26	41.14 $\pm$ 0.03
IAEA-C3 n=7	Celulosa	129.32 $\pm$ 0.86	129.41 $\pm$ 0.06

## Rendimiento de colágeno y esmalte

A continuación se presenta en la tabla 4.2 el rendimiento promedio de colágeno y en la tabla 4.3 el porcentaje de esmalte en la corona según el tipo de pieza dental que fue utilizada en este trabajo.

Tabla 4.2. Rendimiento de colágeno

Tipo de diente	Colágeno		
	Masa de la muestra (g)	Masa de colágeno (g)	Rendimiento %
Incisivo central (n=1)	0.2735	0.0179	36.38
Canino (n=3)	0.4102	0.0258	34.95
Primer premolar (n=2)	0.4095	0.0531	72.05
Segundo molar (n=1)	0.7261	0.0740	56.62
Tercer molar (n=3)	0.4976	0.0402	44.87

Tabla 4.3. Porcentaje de esmalte en la corona

Tipo de diente	Esmalte		
	Masa de la corona (g)	Masa de esmalte después del tratamiento con NaOH (g)	Esmalte en la corona (%)
Incisivo central (n=1)	0.5280	0.0602	11.40
Canino (n=3)	0.3793	0.2833	74.69
Primer premolar (n=3)	0.6124	0.2769	45.22
Segundo molar (n=1)	0.3419	0.1857	54.31
Tercer molar (n=3)	0.3724	0.1944	52.20

En el caso del esmalte se obtiene apenas lo suficiente para analizar la muestra por EMA sólo una vez ya que cada análisis necesita 0.240 g de esmalte, aunque se puede realizar con menor masa, y en el caso del colágeno se obtiene lo suficiente para realizar el análisis de la misma muestra al menos 8 veces. Los tipos de dientes con mejores porcentajes para realizar el análisis son el primer premolar y segundo molar.

### Medida de $^{14}\text{C}$

En la Tabla 4.4 se muestran los valores de  $F^{14}\text{C}$  en esmalte y colágeno de cada muestra dental. Debido a que el esmalte termina de formarse antes que la raíz, se puede observar que, en las muestras donde las personas nacieron antes de 1964, el valor de  $F^{14}\text{C}$  es mayor en la fracción de colágeno que en el esmalte. En el caso contrario, para las muestras dentales en las que las personas nacieron después de 1964,  $F^{14}\text{C}$  es menor en la fracción de colágeno que en la de esmalte. Únicamente en la muestra 269, en la que el valor de  $F^{14}\text{C}$  es más bajo de lo que marca la tendencia,  $F^{14}\text{C}$  es mayor en la fracción de colágeno que en la de esmalte.

Tabla 4.4.  $F^{14}C$  correspondiente a la fracción de esmalte y a la fracción de colágeno de muestras dentales modernas, medidos mediante EMA.

Muestra	Año de nacimiento	$F^{14}C$	
		Colágeno (1.1)	Esmalte (2.1)
584	1935	1.007 ± 0.004	0.987 ± 0.004
404	1936	1.046 ± 0.004	0.994 ± 0.004
272	1939	1.124 ± 0.004	0.982 ± 0.004
223	1944	1.438 ± 0.007	1.117 ± 0.004
637	1964	1.444 ± 0.012	1.575 ± 0.007
595	1993	1.031 ± 0.008	1.097 ± 0.004
596	1993	1.052 ± 0.009	1.095 ± 0.004
269	1995	1.044 ± 0.005	1.030 ± 0.006
399	1999	1.042 ± 0.004	1.046 ± 0.004
373	2002	1.025 ± 0.012	1.049 ± 0.004

Una vez obtenida la razón  $^{14}C/^{12}C$  ( $F^{14}C$ ), utilizando el software CALIBomb, se obtuvo la calibración del intervalo de años en los que terminó de formarse la raíz o el esmalte dental. A dicho intervalo se le restó el promedio de los años que tarda en formarse el esmalte o la raíz, según el caso de estudio, obteniendo un intervalo de años de nacimiento estimado. Este software cuenta con la curva de calibración de la zona 2 del hemisferio norte (zona a la que pertenece México).

Como se observa en la tabla 4.5, al ingresar el valor de  $F^{14}C$  al software CALIBomb obtenemos los distintos intervalos de años a los cuales les corresponde ese valor de  $F^{14}C$  en la curva. Para determinar cuál es el correcto se midió la  $F^{14}C$  del esmalte y del colágeno de la raíz dental debido a que tardan distinto tiempo en formarse (Tabla 1.1).

Tabla 4.5. Intervalos de años que corresponden a los valores de  $F^{14}C$ .  
 Cada intervalo se reporta con la probabilidad obtenida por CALIBomb y se subraya el intervalo más cercano al año en que termina de formarse la raíz o el esmalte.

Muestra	Colágeno (1.1)			Esmalte (2.1)		
	$F^{14}C$	Año de formación de raíz	Intervalo de año de formación de raíz calibrados por CaliBomb	$F^{14}C$	Año de formación de esmalte	Intervalo de año de formación de esmalte calibrados por CaliBomb
584	$1.007 \pm 0.004$	$1947.5 \pm 0.5$	<u><b>1955.09–1955.91 100%</b></u>	$0.987 \pm 0.004$	$1940.5 \pm 0.5$	1681.00–1739.00 28.2% 1750.00–1766.00 2.0% 1802.00–1938.00 69.1% <u><b>1952.00–1955.00 0.7%</b></u>
404	$1.046 \pm 0.004$	$1950 \pm 1.0$	<u><b>1956.30–1957.17 36.3%</b></u> 2007.41–2007.47 0.6% 2007.88–2009.52 63.1%	$0.994 \pm 0.004$	$1942.5 \pm 0.5$	1694.00–1727.00 22.8% 1812.00–1864.00 24.6% 1866.00–1919.00 51.3% <u><b>1955.00–1956.00 1.3%</b></u>
272	$1.124 \pm 0.004$	$1953.5 \pm 0.5$	<u><b>1957.90–1958.57 6.0%</b></u> 1992.10–1992.21 0.7% 1993.08–1996.21 93.3%	$0.982 \pm 0.004$	$1946.5 \pm 0.5$	1668.00–1712.00 17.1% 1716.00–1782.00 29.8% 1797.00–1830.00 12.3% 1830.00–1891.00 22.0% 1909.00–1949.00 16.9% <u><b>1950.00–1955.00 1.9%</b></u>

223	1.438 ± 0.007	1965.5 ± 3.5	<b><u>1962.79–1963.00 11.1%</u></b> 1971.52–1971.53 0.1% 1972.97–1974.86 88.7%	1.117 ± 0.004	1958.0 ± 2.0	<b><u>1957.82–1958.53 6.8%</u></b> 1993.82–1997.79 93.2%
637	1.444 ± 0.012	1973.0	1962.76–1963.07 12.6% 1970.10–1970.13 0.3% 1971.11–1971.16 0.3% 1971.50–1971.57 1.5% <b><u>1972.23–1974.90 85.2%</u></b> 1975.52–1975.53 0.1%	1.575 ± 0.007	1968.5 ± 0.5	1963.25–1963.32 2.4% 1966.99–1967.07 1.5% 1967.35–1967.43 1.1% <b><u>1967.68–1969.91 91.4%</u></b> 1970.28–1970.40 3.6%
595	1.031 ± 0.008	2007.0 ± 1.0	1955.62–1956.95 88.0% <b><u>2007.94–2008.43 6.1%</u></b> 2009.10–2009.50 5.9%	1.097 ± 0.004	1999.5 ± 0.5	1957.61–1958.27 6.5% 1996.11–1996.15 0.2% <b><u>1997.24–2001.12 89.4%</u></b> 2001.47–2001.89 3.9%
596	1.052 ± 0.009	2007.0 ± 1.0	1956.28–1957.54 19.4% <b><u>2004.82–2009.52 80.6%</u></b>	1.095 ± 0.004	1999.5 ± 0.5	1957.59–1958.24 6.8% 1997.25–1997.31 0.4% 1997.83–1997.91 0.4% <b><u>1998.12–2001.98 92.4%</u></b>
269	1.044 ± 0.005	2016.5 ± 3.5	1956.18–1957.19 43.4% 2007.40–2007.47 0.6% <b><u>2007.87–2009.52 56.0%</u></b>	1.030 ± 0.006	2009.0 ± 2.0	1955.67–1956.82 99.2% 2008.35–2008.37 0.1% <b><u>2009.39–2009.46 0.7%</u></b>

399	1.042 ± 0.004	2020.5 ± 3.5	1956.19–1957.04 57.1% 2007.92–2008.46 20.2% <b><u>2008.97–2009.52 22.7%</u></b>	1.046 ± 0.004	2013.0 ± 2.0	1956.30–1957.17 36.3% 2007.41–2007.47 0.6% <b><u>2007.88–2009.52 63.1%</u></b>
373	1.025 ± 0.012	2014.5 ± 0.5	1686.98–1730.38 12.2% 1808.59–1926.44 37.6% 1954.50–1957.53 41.9% <b><u>2005.18–2009.52 8.3%</u></b>	1.049 ± 0.004	2007.5 ± 0.5	1956.40–1957.25 26.3% <b><u>2007.01–2007.49 4.4%</u></b> 2007.75–2009.52 69.3%

En la muestra 404, en la fracción de colágeno, se obtuvieron los siguientes valores que pertenecen a ambos lados de la curva: 1956.30–1957.17, 2007.41–2007.47 y 2007.88–2009.52. En el esmalte, los intervalos obtenidos fueron 1694.00–1727.00, 1812.00–1864.00, 1866.00–1919.00 y 1955.00–1956.00. Ambas fracciones coinciden en que, tanto el esmalte como el colágeno, terminaron de formarse en los años 50 (en nuestro caso se conocía la edad de la persona, en caso de que no lo conociéramos solo basta con restar del intervalo en que coinciden ambas fracciones el tiempo en que tarda en formarse la raíz o el esmalte para obtener el año de nacimiento).

En las muestras 637, 595, 596, 269, 399 y 373 los años de los intervalos de ambas fracciones son muy similares. Por ejemplo, en la muestra 399 los valores en la fracción de colágeno son 1956.19–1957.04, 2007.92–2008.46 y 2008.97–2009.52 y en el esmalte 1956.30–1957.17, 2007.41–2007.47 y 2007.88–2009.52. Estos valores son prácticamente iguales pero, como se había mencionado anteriormente, para saber si la muestra corresponde a los años 50 o 2000 solo debemos ver cual valor de  $F^{14}C$  es mayor que el de la otra fracción para saber si corresponde a un año antes o después del punto máximo del Pico de la Bomba que fue en 1963.

El Software CALIBomb cuenta con información sobre  $F^{14}C$  hasta el año 2009.52, por lo que para años posteriores se utilizó una extrapolación a la curva de calibración (figura 4.1) realizada por el M. en C. Javier Aragón. [2]

El ajuste exponencial sigue la ecuación 4.1

$$F^{14}C \text{ ajustada } (t) = e^{119.5970} e^{-0.06111t} + 0.9563 \quad \text{Ecuación 4-1}$$

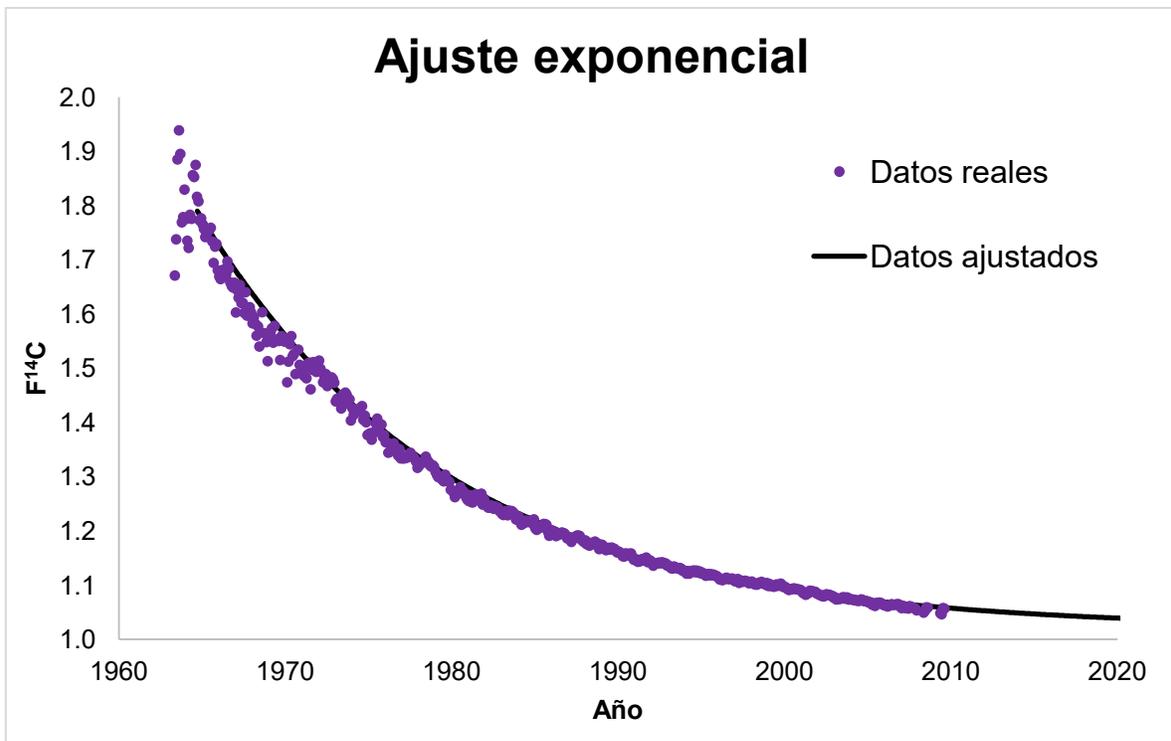


Figura 4.1. Ajuste exponencial de  $F^{14}C$  hasta 2020.

Dado que se nos proporcionó el año de nacimiento o la edad y el año de extracción de todas las piezas dentales, se estimó un año en que terminó de formarse la raíz o el esmalte dental sumando al año de nacimiento real el tiempo que tarda en formarse cada tejido dependiendo del tipo de diente que se analizó (tabla 1.1). En la figura 4.2 se presentan los valores de  $F^{14}C$  de las fracciones de colágeno y esmalte en el año en que se estima que los tejidos de las piezas dentales terminaron de formarse y se comparan con la curva del Pico de la Bomba. Las muestras de esmalte se ajustan bastante bien a la curva. En el caso del colágeno, las muestras en que los dientes terminaron de formarse antes de 1960, el valor de  $F^{14}C$  es más elevado al que se esperaba de acuerdo con la información proporcionada, es decir, las muestras resultaron ser más jóvenes de lo que se esperaba. Las muestras de colágeno en las que la raíz se termina de formar después de 1963 se ajustan bastante bien a la parte descendente de la curva.

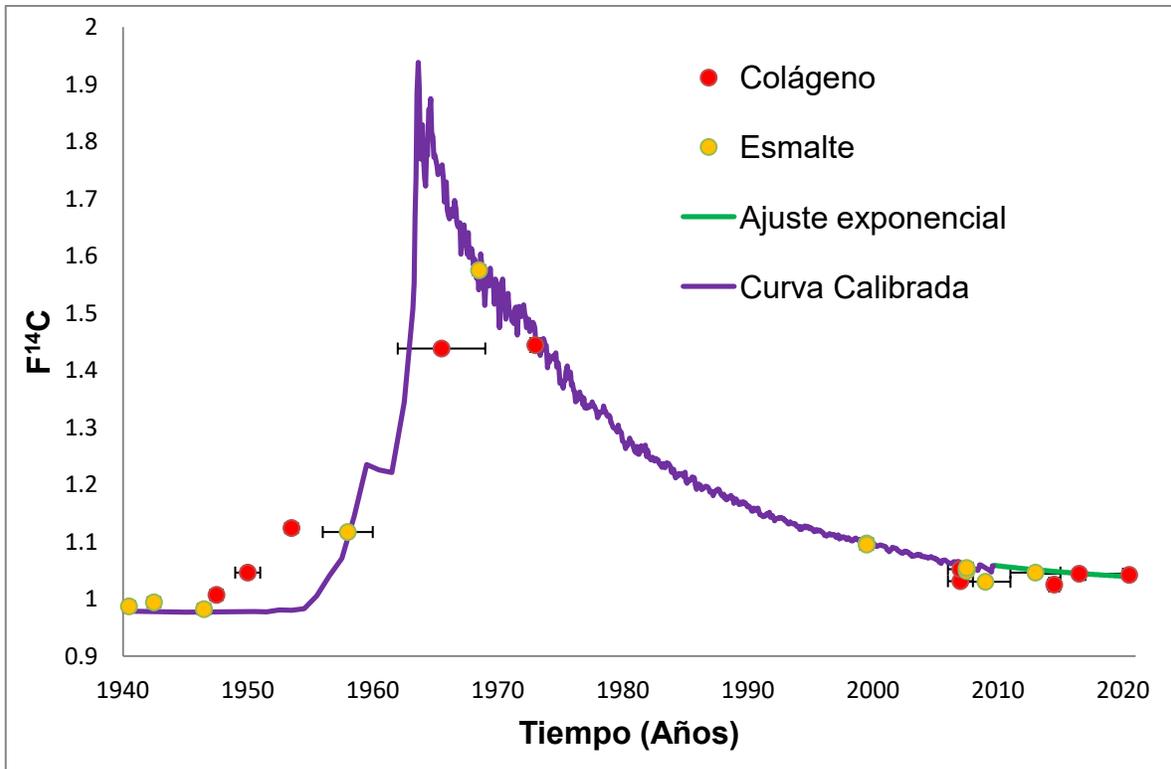


Figura 4.2. F<sup>14</sup>C correspondiente a la Zona 2 hemisferio norte.

En rojo se observa el año en que terminó de formarse la raíz dental de cada muestra, en amarillo el esmalte dental. El error asociado al valor de F<sup>14</sup>C (barras de error verticales) es tan pequeño que no se logra observar.

Las muestras posteriores al máximo de la curva muestran valores ligeramente por debajo de ésta, este mismo comportamiento se observa en los árboles de la Ciudad de México donde se presenta una disminución en los niveles atmosféricos de <sup>14</sup>C debido al crecimiento significativo en el consumo de combustibles fósiles, la quema de biomasa, la deforestación y el cambio en el uso de la tierra asociado con el crecimiento del área urbana. [6] Como se ha mencionado anteriormente, el <sup>14</sup>C en nuestro cuerpo lo obtenemos de la dieta, la cual proviene principalmente de provincia, por lo que este mismo efecto ocurre en los estados de la República.

A continuación se discuten los resultados de los tejidos por separado.

## Colágeno

En la tabla 4.6 se muestran los valores de  $F^{14}C$  que se obtuvieron de la fracción orgánica de cada tipo de diente. El año en que terminó de formarse la raíz es el año de nacimiento más los años que tarda en terminar de formarse la raíz según la tabla 1.1. El año calibrado en que terminó de formarse la raíz es el rango obtenido con el software CALIBomb que corresponde a la  $F^{14}C$  que había en ese momento en la atmósfera. En la tabla 4.5 se señalan todos los intervalos obtenidos con el programa CALIBomb y seleccionamos el que es más cercano al año que nosotros esperábamos para el análisis. El año calibrado de nacimiento es el rango de años calibrados en que terminó de formarse la raíz menos los años que tardó en formarse según la tabla 1.1. El año de nacimiento calculado es la media del rango de año calibrado de nacimiento.

En las tres primeras muestras, el año de nacimiento calculado resultó ser mayor (más joven) que el año de nacimiento que ya conocíamos. Esto puede deberse a que en dichas muestras la raíz terminó de formarse antes de 1954 y, en ese tiempo, la precisión de la datación por Pico de la Bomba es menor. Esto se puede deber a que  $F^{14}C$  en la atmósfera varió muy poco o que la fecha de nacimiento que nos proporcionaron fue errónea. En estos tres casos, esta hipótesis puede afirmarse o rechazarse con la información del análisis de esmalte que aparece en el apartado siguiente. Otra opción es que el colágeno sí presentó remodelaciones, pero esta opción puede descartarse ya que este comportamiento no se observa en las 6 muestras restantes.

Para la muestra 373.1.1 se esperaba un valor de  $F^{14}C$  aproximadamente de 1.048 y el obtenido fue más bajo. Esto se puede deber a que la pieza dental se extrajo antes de que la raíz terminara de formarse por completo.

Tabla 4.6. Valores de  $F^{14}C$ , años de formación y nacimiento calibrados y calculados correspondientes a la fracción orgánica “colágeno” de la dentina. Las muestras 223.1.1, 269.1.1 y 272.1.1, fueron realizadas previamente por el Fis. Eduardo Solís <sup>[44]</sup>

Muestra	Tipo de diente	Año real de nacimiento	Año en que terminó de formarse la raíz	$F^{14}C$	Año calibrado en que terminó de formarse la raíz ( $2\sigma$ )	Año calibrado de nacimiento	Año de nacimiento calculado	Año de nacimiento real - Año de nacimiento calculado
584.1.1	Primer premolar I	1935	1947.5 ± 0.5	1.007 ± 0.004	1955.09 - 1955.91	1942.59 - 1943.41	1943.00 ± 0.91	-8
404.1.1	Canino S	1936	1950.0 ± 1.0	1.046 ± 0.004	1956.30 - 1957.17	1942.30 - 1943.7	1942.735 ± 1.435	-6.735
272.1.1	Segundo molar I	1939	1953.5 ± 0.5	1.124 ± 0.004	1957.90 - 1958.57	1943.4 - 1944.07	1943.735 ± 0.835	-4.735
223.1.1	Tercer molar I	1944	1965.5 ± 3.5	1.438 ± 0.007	1962.79-1963.00	1941.29 - 1941.5	1941.395 ± 3.605	2.605
637.1.1	Incisivo central I	1964	1973.0	1.444 ± 0.012	1972.23 - 1974.90	1963.23 - 1965.9	1964.565 ± 1.335	-0.565
595.1.1	Canino S	1993	2007.0 ± 1.0	1.031 ± 0.008	2007.94 - 2008.43	1993.94 - 1994.43	1994.185 ± 1.245	-1.185
596.1.1	Canino S	1993	2007.0 ± 1.0	1.052 ± 0.009	2004.82 - 2009.52	1990.82 - 1995.52	1993.17 ± 3.35	-0.17
269.1.1	Tercer molar I	1995	2016.5 ± 3.5	1.044 ± 0.005	2016.42 – 2017.01	1994.92 – 1995.51	1995.215 ± 3.795	-0.215
399.1.1	Tercer molar I	1999	2020.5 ± 3.5	1.042 ± 0.004	2017.69 – 2018.29	1996.19 – 1996.79	1996.49 ± 3.80	2.51
373.1.1	Primer premolar S	2002	2014.5 ± 0.5	1.025 ± 0.012	≥ 2020 según la curva exponencial			

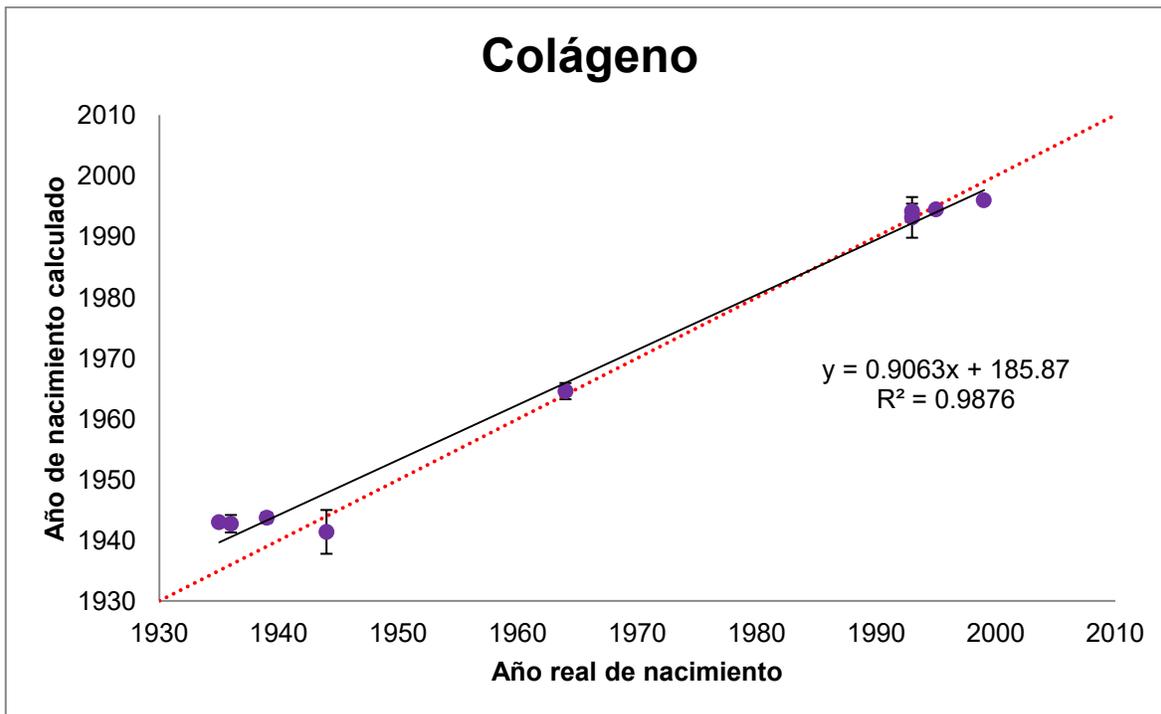


Figura 4.3. Comparación entre el año de nacimiento real y el año de nacimiento calculado mediante análisis de  $^{14}\text{C}$  en la fracción orgánica (colágeno) de la raíz dental por EMA, la línea continua en negro representa la línea de tendencia con ecuación y la línea punteada roja corresponde a la función  $f(x)=x$ .

Exceptuando las tres primeras muestras, los valores estimados para el año de nacimiento se ajustan bastante bien a la línea 1 a 1 (figura 4.3) y el error absoluto promedio de los resultados de datación por  $^{14}\text{C}$  de colágeno de la dentina de la raíz dental es de 3.05 años y, sin considerar las tres primeras muestras, es de 1.34 años.

## **Esmalte**

El esmalte termina de formarse antes que la raíz dental y es el tejido que se prefiere para datación ya que, una vez formado, ya no sufre remodelaciones ni intercambio metabólico, y al ser un tejido duro, puede soportar diversos tratamientos térmicos o traumatismos como se había mencionado anteriormente.

En la tabla 4.7 se muestran los resultados de esmalte dental y el año de nacimiento que nos proporcionaron. Para establecer el año en que terminó de formarse el esmalte se le sumó al año de nacimiento real, los años en que se tarda en formarse este tipo de tejido según el tipo de diente (Tabla 1.1). El año de nacimiento es la media del rango calibrado de nacimiento, el cual se obtiene restando al rango de años en que terminó de formarse el esmalte calibrados por el software CALIBomb ( $2\sigma$ ) el tiempo que tarda en formarse el esmalte dental.

Al igual que en el colágeno, en las 3 primeras muestras el año de nacimiento calculado resultó ser mayor (más joven) que el año de nacimiento que ya conocíamos.

Tabla 4.7. Valores de  $F^{14}C$ , años de formación y nacimiento calibrados y calculados correspondientes a esmalte dental.

Muestra	Tipo de diente	Año real de nacimiento	Año en que terminó de formarse el esmalte	$F^{14}C$	Año calibrado en que terminó de formarse el esmalte ( $2\sigma$ )	Año calibrado de nacimiento	Año de nacimiento calculado	Año de nacimiento real - Año de nacimiento calculado
584.2.1	Primer premolar I	1935	1940.5 ± 0.5	0.987 ± 0.004	1952 - 1955	1946.5 - 1949.5	1948.0 ± 2.0	-13
404.2.1	Canino S	1936	1942.5 ± 0.5	0.994 ± 0.004	1955 - 1956	1948.8 - 1949.5	1949.0 ± 1.0	-13
272.2.1	Segundo molar I	1939	1946.5 ± 0.5	0.982 ± 0.004	1950 - 1955	1942.5 - 1947.5	1945.0 ± 3.0	-6
223.2.1	Tercer molar I	1944	1958.0 ± 2.0	1.117 ± 0.005	1957,8 - 1958.55	1943.8 - 1944.55	1944.175 ± 2.375	-0.175
637.2.1	Incisivo central I	1964	1968.5 ± 0.5	1.575 ± 0.007	1967.68 - 1969.91	1963.18 - 1965.41	1964.295 ± 1.65	-0.295
595.2.1	Canino S	1993	1999.5 ± 0.5	1.097 ± 0.004	1997.24 - 2001.12	1991.74 - 1995.62	1993.68 ± 2.44	-0.68
596.2.1	Canino S	1993	1999.5 ± 0.5	1.095 ± 0.004	1998.12 - 2001.98	1991.62 - 1995.48	1993.55 ± 2.43	-0.55
269.2.1	Tercer molar I	1995	2009.0 ± 2.0	1.030 ± 0.006	2009.39 - 2009.46	1995.39 - 1995.46	1995.425 ± 2.035	-0.425
399.2.1	Tercer molar I	1999	2013.0 ± 2.0	1.046 ± 0.004	2015.31 - 2015.74	2001.31 - 2001.74	2001.525 ± 2.215	-2.525
373.2.1	Primer premolar S	2002	2007.5 ± 0.5	1.049 ± 0.004	2007.01 - 2007.49	2001.6 - 2001.99	2001.795 ± 0.695	0.205
374.2.1	Primer premolar S	2002	2007.5 ± 0.5	1.054 ± 0.004	2006.95 - 2009.52	2000.45 - 2003.2	2001.825 ± 1.875	0.175

En la muestra 584 el año de nacimiento proporcionado fue 1935. Según el análisis de colágeno el año de nacimiento estimado fue en  $1943.00 \pm 0.91$  y en el análisis de esmalte  $1948.00 \pm 2.00$ . En la muestra 404 el año de nacimiento proporcionado fue 1936, mientras que los análisis de colágeno y esmalte fueron  $1942.735 \pm 1.435$  y  $1949.0 \pm 1.0$  respectivamente. En la muestra 272 el año de nacimiento proporcionado fue 1939, en el análisis de colágeno fue  $1943.735 \pm 0.835$  y en el análisis de esmalte  $1945.0 \pm 3.0$ .

En los tres casos los años de nacimiento de las dos fracciones son similares tomando en cuenta la desviación estándar. Por lo anterior podemos aceptar la hipótesis de que el año de nacimiento que nos proporcionaron es incorrecto sin despreciar que la precisión en esos años sea menor por el cambio poco significativo en la concentración de  $^{14}\text{C}$  atmosférico.

El análisis de colágeno de la muestra 373 presentó un valor de  $F^{14}\text{C}$  menor al esperado. Sin embargo, en el esmalte el año de nacimiento calculado fue muy cercano al año de nacimiento que nos proporcionaron, por lo que podemos afirmar que cuando se extrajo el diente, la raíz aún no terminaba de formarse pero el esmalte, que tiene un tiempo de formación menor, sí.

El error absoluto promedio del año de nacimiento determinado por el análisis de  $^{14}\text{C}$  del esmalte dental por EMA fue de 3.31 años y, sin considerar las 3 primeras muestras, de 0.57 años.

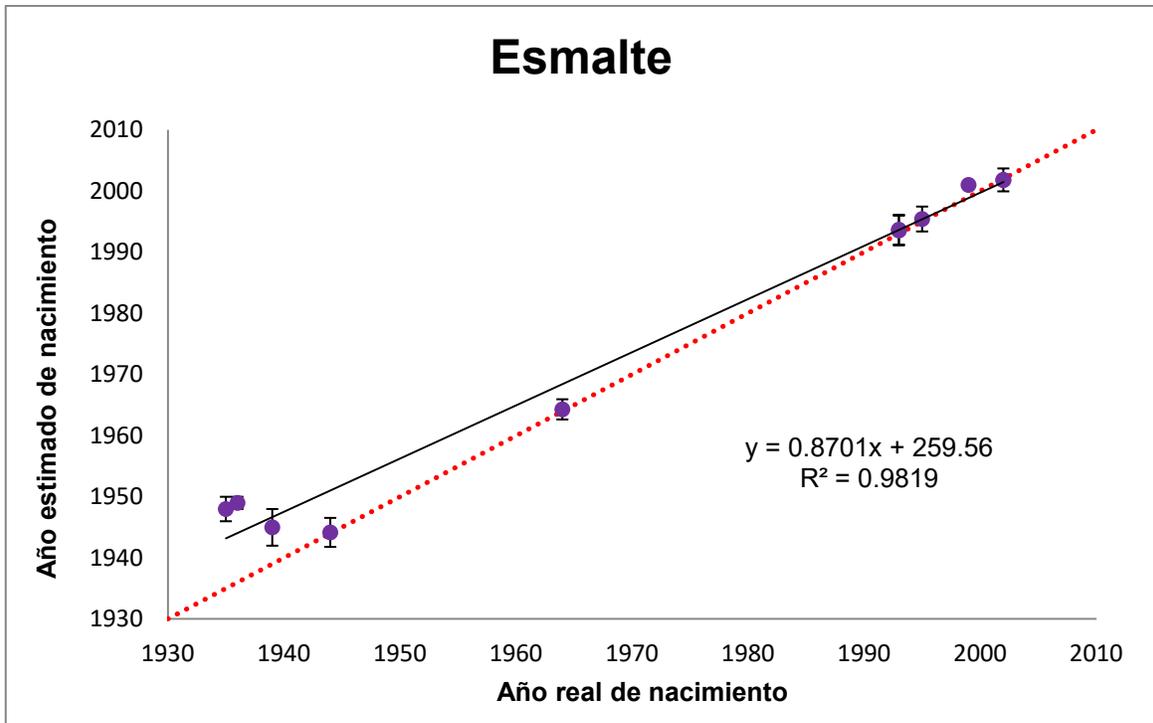


Figura 4.4. Comparación entre el año de nacimiento real y el año de nacimiento calculado mediante análisis de  $^{14}\text{C}$  en esmalte dental por EMA, con negro se representa la línea de tendencia con ecuación y la línea punteada roja corresponde a la función  $f(x)=x$ .

El inconveniente de analizar el esmalte es que no se pueden realizar repeticiones a la misma pieza dental. Debido al poco contenido de carbonatos, se debe utilizar el esmalte dental del diente completo para obtener la masa de grafito suficiente para el análisis.

El error en los terceros molares es más grande que en los demás tipos de dientes en ambos tejidos debido a que su tiempo de formación es mayor.

Con las muestras que nos fueron entregadas no se analizó una cantidad mayor a 3 dientes de cada tipo de pieza dental, pero con los datos aquí presentados, para esta técnica se prefieren utilizar dientes que terminaron de formarse después de los años 50, caninos, primer premolar e incisivo central. Sin embargo, se requiere llevar a cabo más experimentos para determinar qué tipo de diente nos arroja mejores resultados.

# Capítulo 5

## Conclusiones

En este trabajo se presentaron los análisis de  $^{14}\text{C}$  presente en esmalte y colágeno de dentina de dientes pertenecientes a individuos mexicanos sanos, cuya fecha de nacimiento se conoce. La aplicación de la Espectrometría de Masas con Aceleradores permite un análisis a ambos tejidos de un solo diente gracias a la alta sensibilidad y precisión de la técnica.

La estimación del año de nacimiento de los individuos a partir del contenido de  $^{14}\text{C}$  en sus dientes, el conocimiento del tiempo de maduración para cada tipo de diente y la aplicación del programa CaliBomb, arrojó en general, valores concordantes con el año real de nacimiento. Los mejores resultados se obtuvieron para individuos menores a 80 años de edad resultando en una desviación de 0.88 años. Para individuos nacidos entre 1935 y 1939 la estimación del año de nacimiento arrojó mayores errores (8.6 años en promedio) y se obtuvieron años de nacimiento posteriores al año real de nacimiento. En estos casos solo puede afirmarse que el nacimiento fue anterior al año 1955 cuando inicia el Pico de la bomba.

Al obtener el valor de  $F^{14}\text{C}$ , tanto del esmalte como del colágeno de la dentina de la raíz dental, fue posible determinar si el año en que terminó de formarse el diente corresponde al lado ascendente o descendente de la curva denominada como Pico de la bomba. Esto se debe a que ambos tejidos tienen tiempos de formación distintos, siendo el esmalte primero en terminar de formarse. Es por esto que, si el valor de  $F^{14}\text{C}$  del esmalte es menor que el valor de  $F^{14}\text{C}$  del colágeno el diente terminó de formarse en el periodo del lado ascendente de la curva, en el caso contrario, si el valor de  $F^{14}\text{C}$  del esmalte es mayor que el valor de  $F^{14}\text{C}$  del colágeno el diente terminó de formarse en el periodo del lado descendente de la curva.

En las muestras de colágeno el error promedio absoluto es de 1.34 años, en las muestras de esmalte 0.57 años. En ambos casos no se consideran, las tres primeras muestras debido a que el año de nacimiento proporcionado es incorrecto.

Se observa que los niveles de  $F^{14}C$  de las muestras posteriores al máximo de la curva son ligeramente menores que los niveles de la curva calibrada para la Zona 2 del Hemisferio Norte, que se construyó a partir de anillos anuales de crecimiento de árboles en zonas no contaminadas. Recordemos que el  $^{14}C$  lo incorporamos por nuestra alimentación que proviene principalmente de los estados del interior de la República Mexicana en los que posiblemente la quema de combustibles fósiles es importante y esto se ve reflejado en el contenido de  $^{14}C$  de los alimentos.

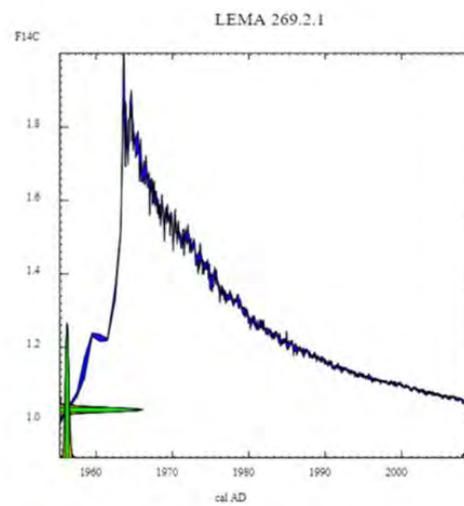
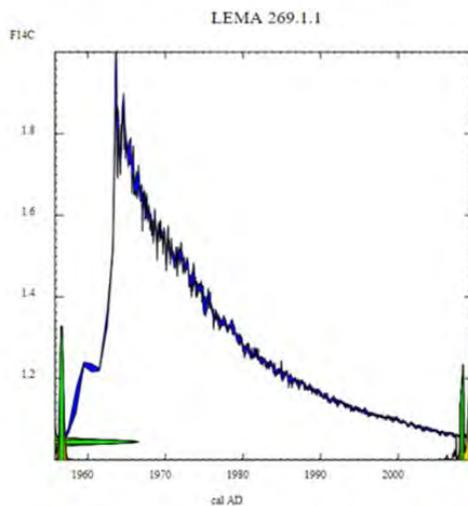
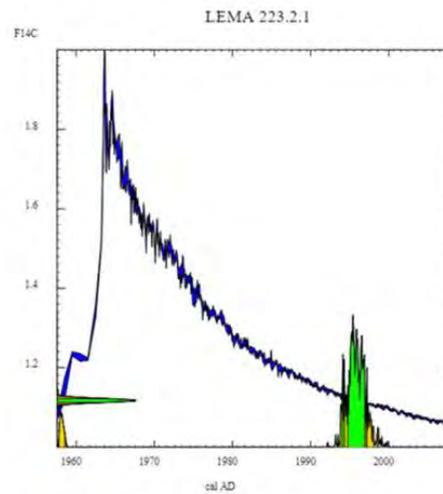
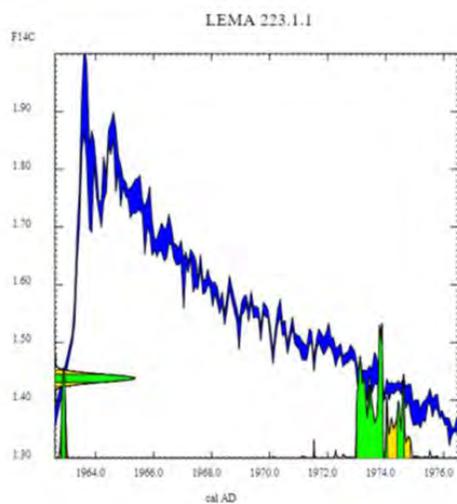
En general, los valores estimados muestran una estrecha concordancia con los valores esperados para el año de nacimiento. Puede considerarse que el error en la estimación es pequeño si se considera que los tiempos de maduración de los dientes no son exactos y varían entre los individuos.

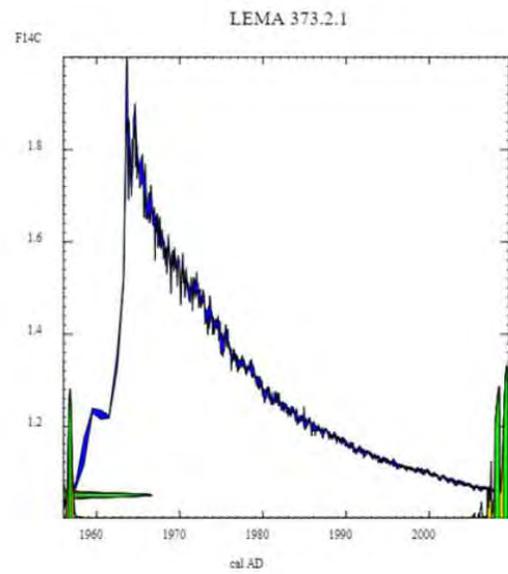
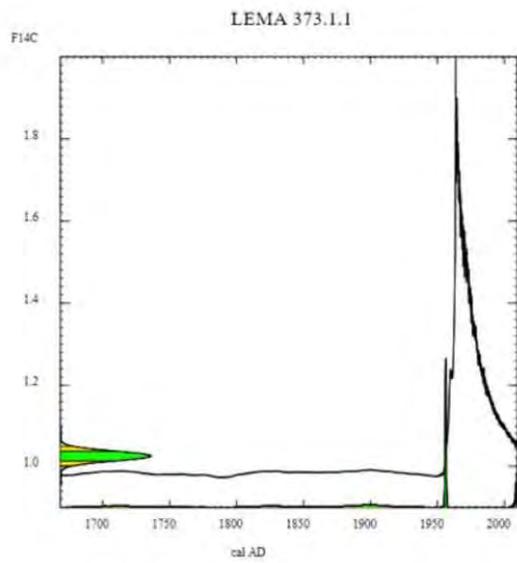
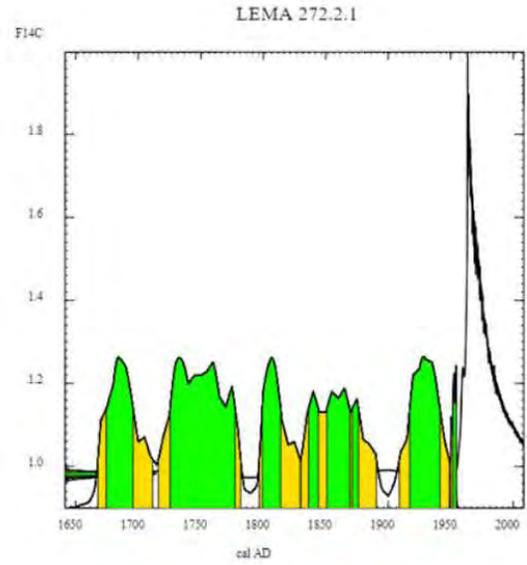
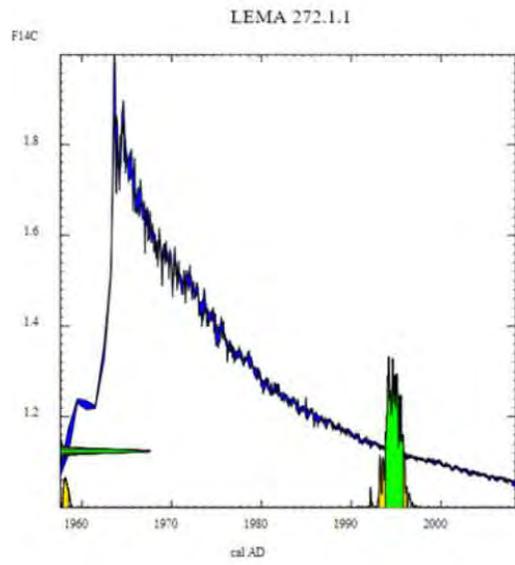
Esta técnica podría optimizarse e implementarse como técnica forense para la estimación del año de nacimiento de cadáveres o restos humanos con la ventaja de que únicamente es necesario un diente.

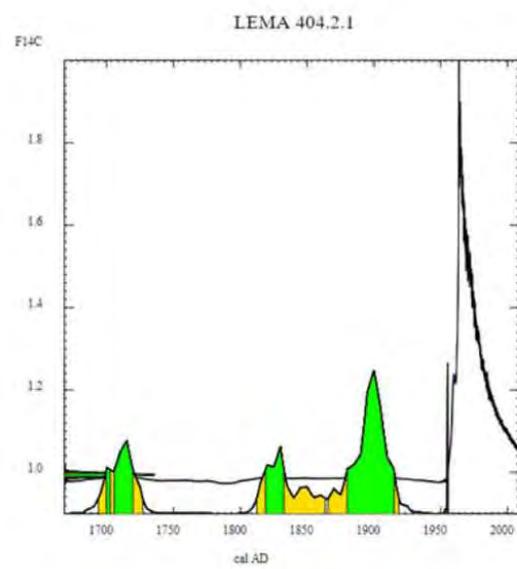
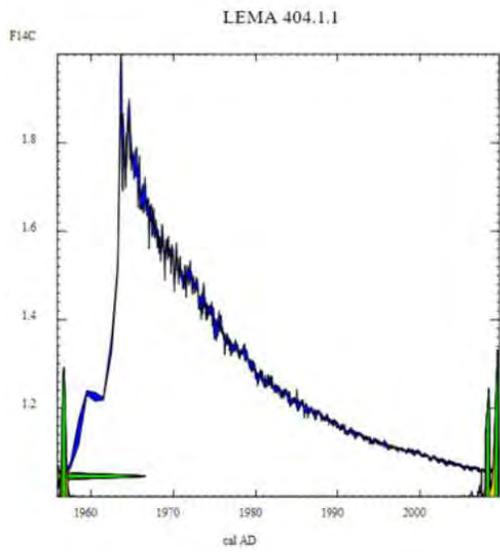
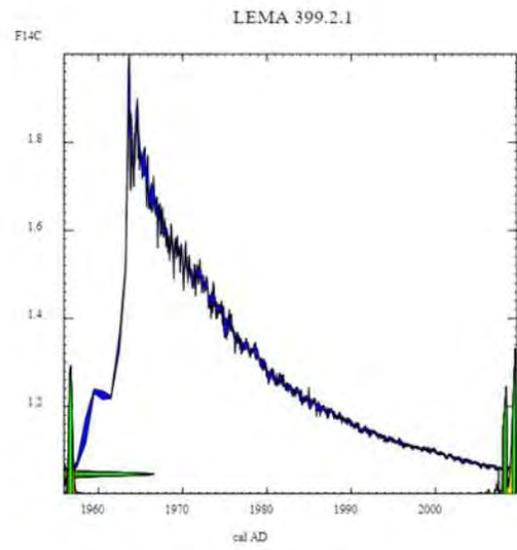
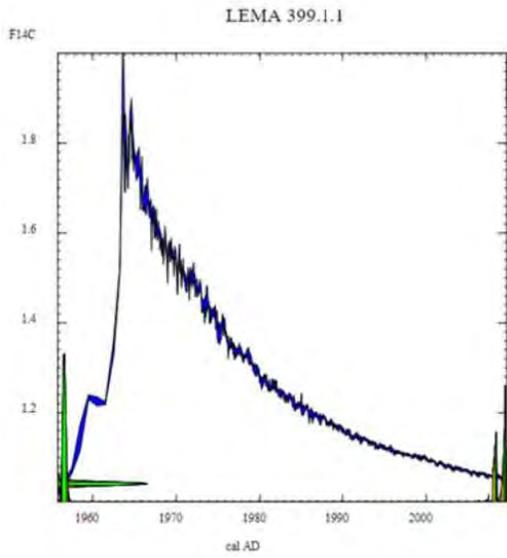
# Anexo

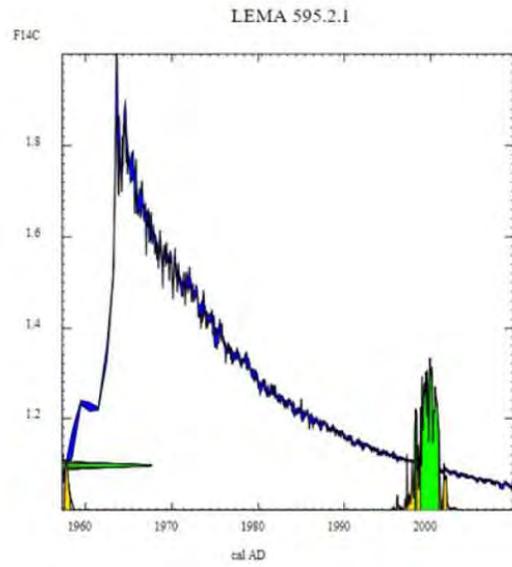
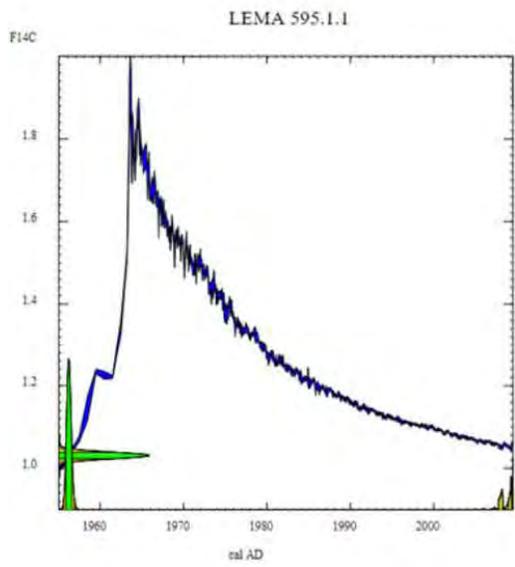
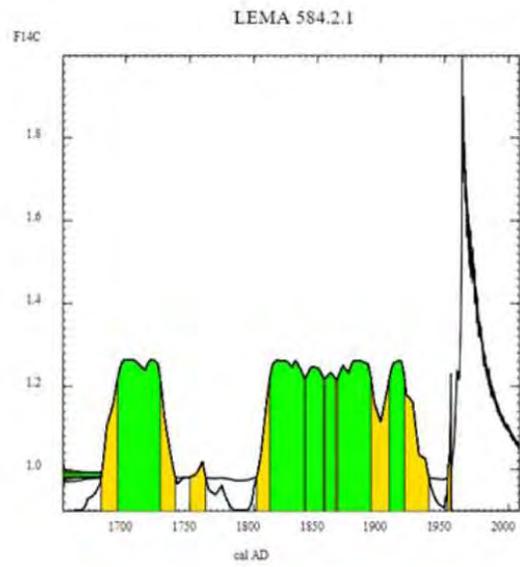
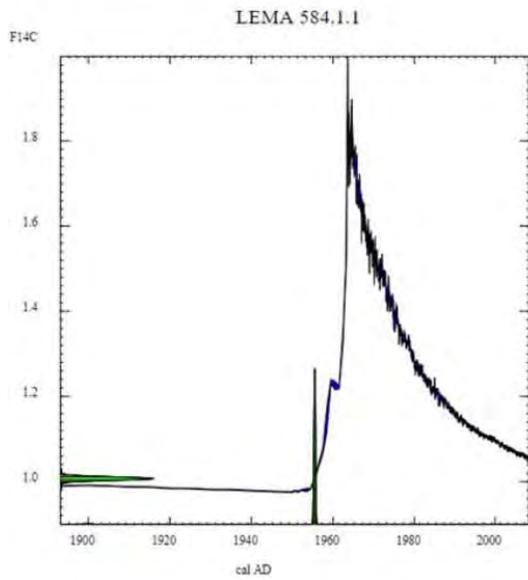
## Calibración con software CALIBomb

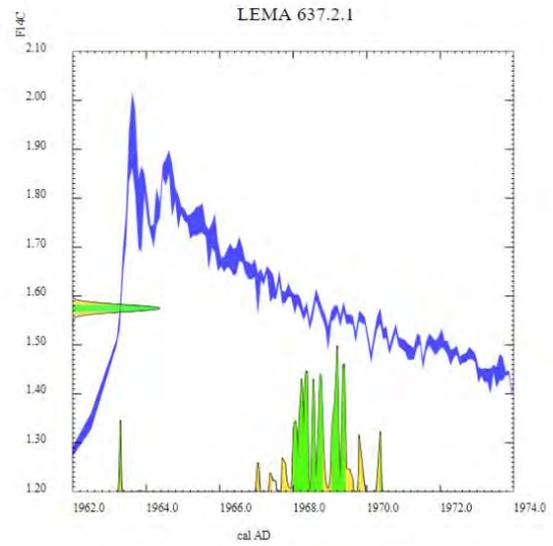
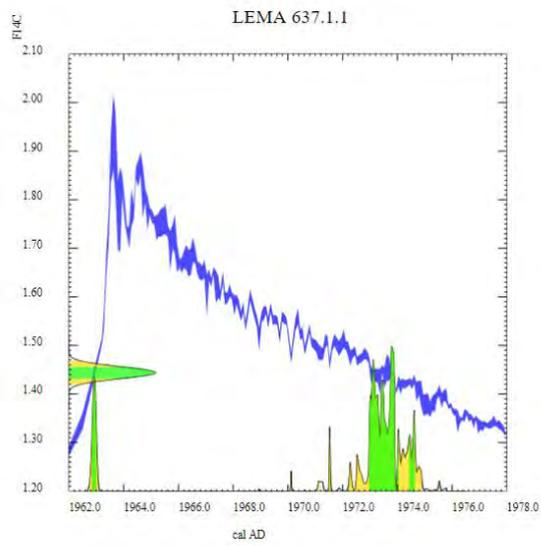
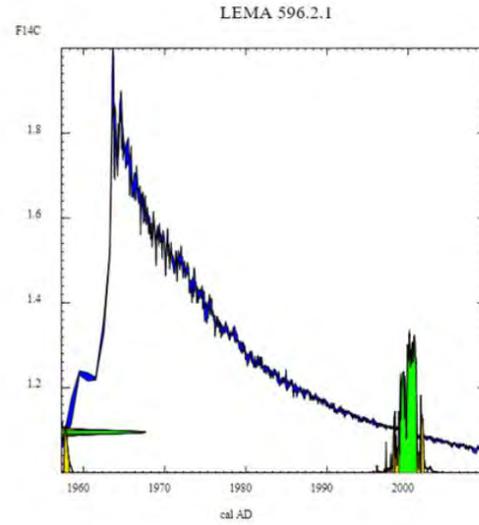
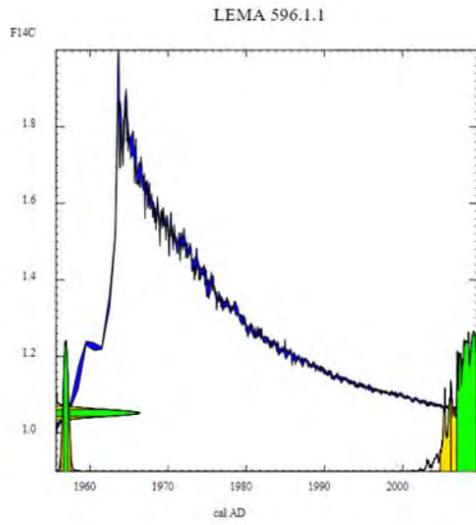
A continuación se presentan las gráficas obtenidas con el software CALIBomb de cada una de las muestras presentadas en este trabajo. En ellas se observa la curva calibrada del Pico de la Bomba (azul) y el intervalo de años a los cuales corresponde el valor obtenido de  $F^{14}C$  (verde). Con estos datos se generó la tabla 4.5.











# Bibliografía

- [1] Alvarez L. W. y Cornog R. Helium and Hydrogen of mass 3. *Physical Review*, 56(6):613, 1939.
- [2] Aragón-Navarro Javier. *Corrección numérica de los datos de  $^{14}\text{C}$  por Espectrometría de Masas con Aceleradores: Estudio de Aerosoles Atmosféricos*. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, 2018.
- [3] Barrancos J., Barrancos P. J., (2006), *Operatoria Dental. Integración clínica*, 4<sup>a</sup> ed., Buenos Aires, Ed. Médica Panamericana.
- [4] Barriga C., Rivera C. y Suazo I. Datación mediante racemización del ácido aspártico en dentina humana. *Medicina Legal de Costa Rica*, 29(1):35-41, 2012.
- [5] Bennett C. L., Beukens R. P., Clover M. R., Gove H. E., Liebert R. B., Litherland A., Purser K. H. y Sondheim. Radiocarbon dating using electrostatic accelerators: negative ions provide key. *Science*, 198(4316):508-510, 1977.
- [6] Beramendi-Orozco L., González-Hernández G., Martínez-Jurado A., Martínez-Reyes A., García-Samano A., Villanueva-Díaz J., Santos-Arévalo F., Gomez-Martinez I. y Amador-Muñoz O. Temporal and spatial variations of atmospheric radiocarbon in the Mexico City Metropolitan Area. *Radiocarbon*, 57(3):363-375, 2015.
- [7] Buchholz B. A. y Spalding K. L. Year of birth determination using radiocarbon dating of dental enamel. *Surface and Interface Analysis*, 42(5):398-401, 2010.
- [8] Canalda C. y Brau E., (2014), *Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas*, 3<sup>a</sup> ed., Barcelona, Ed. Elsevier Masson.
- [9] Cook G. T., Black S. M., Dumbar E. y Xu S. A preliminary assessment of age at death determination using the nuclear weapons testing  $^{14}\text{C}$  activity of dentine and enamel. *Radiocarbon*, 48(3):305-313, 2006.

- [10] Craig H. The geochemistry of the stable carbon isotopes. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 3(2):53-92, 1953.
- [11] Craig H. The natural distribution of radiocarbon and the exchange time of carbon dioxide between atmosphere and sea. *Tellus*, 9(1):1-17, 1957.
- [12] Craig, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1(2):133–149, 1957.
- [13] Dargie M. y Gröning M. Reference Sheet for Quality Control Materials: IAEA–C1 to IAEA–C9. Isotope Hydrology Laboratory, IAEA. 2007.
- [14] Druffel E. M. y Suess H. E. On the radiocarbon record in banded corals: exchange parameters and net transport of  $^{14}\text{CO}_2$  between atmosphere and surface ocean. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 88(C2):1271-1280, 1983.
- [15] Esponda R., (2009), *Anatomía Dental, 8ª ed.*, México, Ed. Universidad Nacional Autónoma de México.
- [16] García J., (2014), *Patología y terapéutica dental. Operatoria dental y endodoncia, 2ªed.*, Barcelona, Ed. Elsevier.
- [17] Goldberg M., Kulkarni A. B., Young M. y Boskey A. Dentin: Structure, Composition and Mineralization: The role of dentin ECM in dentin formation and mineralization. *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*, 3:711-735, 2011.
- [18] Gómez M. E. y Campos A., (2009), *Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental, 3ªed.*, México, Ed. Médica Panamericana.
- [19] Gonfiantini R., Stichler, W., y Rozanski, K. Standards and intercomparison materials distributed by the International Atomic Energy Agency for stable isotope measurements. *International Atomic Energy Agency (IAEA) (IAEA-TECDOC--825)* 27(7), 1995.

- [20] Guerasimov M. M. (1955) *La reconstrucción del rostro a partir del cráneo*. Nauka, Moscú.
- [21] Gutiérrez E. (2009) La dendrocronología: métodos y aplicaciones. *Arqueología nautica mediterrània*. Nieto X. y Cau M. A. (eds). Monografies del CASC. Generalitat de Catalunya. pp. 309-322.
- [22] Hajdas I., Michczynski A., Bonani G., Wacker L. y Furrer H. Dating bones near the limit of the radiocarbon dating method: study case mammoth from niederweningen, zh Switzerland. *Radiocarbon*, 51(2):675-680, 2009.
- [23] Helfman P. M. y Bada J. L. Aspartic acid racemization in tooth enamel from living humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72(8): 2891–2894, 1975.
- [24] Hodgins G. W. Measuring atomic bomb-derived <sup>14</sup>C levels in human remains to determine year of birth and year of death, 2009.
- [25] Hua Q., Barbetti M. y Rakowski A. Z. Atmospheric radiocarbon for the period 1950-2010. *Radiocarbon*, 55(4):2059-2072, 2013.
- [26] Kim S G. Biological Molecules for the Regeneration of the Pulp-Dentin Complex. *Dental Clinics*, 61(1):127-141, 2017
- [27] Kunita K., Nakamura T. y Kato K. Accurate age estimation using <sup>14</sup>C content in Japanese human teeth. *Radiocarbon*, 59(3):739-756, 2017.
- [28] Lamendin H., Baccino E., Humbert J. F., Tavernier J. C., Nossintchouk R. M. y Zerilli A. Simple Technique for Age Estimation in Adult Corpses: The Two Criteria Dental Method. *Journal of Forensic Sciences*, 37(5):1373-1379, 1992.
- [29] Mann, R. W. *Maxillary Suture Obliteration: A Method for Estimating Skeletal Age*. Master's Thesis, Universidad de Tennessee, 1987.
- [30] Mann W., Marlow W. y Hughes E. The half-life of Carbon-14. *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, 11(2):57-67, 1961.

- [31] Marín L., Moreno F. Odontología forense: identificación odontológica de individuos quemados, reporte de dos casos. *Revista Estomatología*, 12(2): 57-70, 2004.
- [32] Martini M., Milazzo M. y Piacentini M., (2004), *Physics Methods in Archaeometry*, Volumen 154. IOS Press.
- [33] Moya V., Roldán B. y Sánchez J. A., (1994), *Odontología legal y forense*. Barcelona, Ed. Masson.
- [34] Müller R. A. Radioisotope dating with a cyclotron. *Science*, 196:489-494, 1977.
- [35] Müller R. A. Radioisotope dating with accelerators. *Physics Today*, 32(2):23-30, 1979.
- [36] Nemec M., Wacker L. y Gaggeler H. Optimization of the graphitization process at AGE-1. *Radiocarbon*, 52(3):1380-1393, 2010.
- [37] Nolla C. M., *The development of permanent teeth*. PhD thesis, Universidad de Michigan, 1952.
- [38] Olsson I. U., Karlen I., Turnbull A. H. y Prosser J. D. A determination of the half-life of  $C^{14}$  with a proportional counter. *Arkiv Fysik*, 22, 1962.
- [39] Opsahl S., Gaucher C., Bardet C., Rowe P. S., George A., Linglart A. y Chaussain C. Tooth dentin defects reflect genetic disorders affecting bone mineralization. *Bone*, 50(4):989-997, 2012.
- [40] Park R. y Epstein S. Metabolic fractionation of  $C^{13}$  &  $C^{12}$  in plants. *Plant Physiology*, 36(2):133-138, 1961.
- [41] Reimer P. J., Brown T. A. y Reimer R. W. Discussion: Reporting and calibration of post-bomb  $^{14}C$  data. *Radiocarbon*, 46(3):1299-1304, 2004.
- [42] Reyes E. Geoquímica de isótopos estables: Fundamentos, técnicas y aplicaciones. *Geoquímica Isotópica Aplicada al Medioambiente, seminario de la Sociedad Española Mineralogía*, 1:1-19, 2004.

- [43] Rodríguez J. V., (2004), *La Antropología Forense en la identificación humana*. Bogotá, Ed. Universidad Nacional de Colombia.
- [44] Ruben S. y Kamen M. D. Radioactive carbon of long half-life. *Physical Review*, 57(6):549, 1940.
- [45] Scott E. M., Cook G. T., Naysmith P., Bryant P. y O'Donnell D. Areport on phase 1 of the 5<sup>th</sup> International Radiocarbon Intercomparison (VIRI). *Radiocarbon*, 49(2):409-426, 2007.
- [46] Solís-Meza Eduardo. *Fechamiento de piezas dentales modernas con Carbono-14 por espectrometría de masas con aceleradores*. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, 2016.
- [47] Spalding K. L., Buchholz B. A., Bergman L. E., Druid H. y Frisén J. Age written in teeth by nuclear tests. *Nature*, 437(7057):333-334, 2005.
- [48] Stuiver M. y Polach H. Discussion. Reporting of <sup>14</sup>C data. *Radiocarbon*, 19(3):355-363, 1977.
- [49] Van Amerongen J. P., Lemmens I. G. y Tonino G. J. The concentration, extractability and characterization of collagen in human dental pulp. *Archives of oral biology*, 28(4):339-345, 1983.
- [50] Wang N., Shen C. D., Ding P., Yi W. X., Sun W. D., Liu K. X., Ding X. F., Fu D. P., Yuan J., Yang X. Y. y Zhou L. P. Improved application of bomb carbon in teeth for forensic investigation. *Radiocarbon*, 52(2):706-716, 2010.
- [51] Watt D., Ramsden D. y Wilson H. The half-life of Carbon-14. *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, 11(2):68-74, 1961.
- [52] Wild E., Golser R., Hille P., Kutschera W., Priller A., Puchegger S., Rom W. y Steier P. First <sup>14</sup>C results from archaeological and forensic studies at the Vienna Environmental Research Accelerator. *Radiocarbon*, 40(1):273-81, 1998.

[53] Wild E. M., Arlamovsky K. A., Golser R., Kutschera W., Priller A., Puchegger S., Rom W., Steier P. y Vycudilik W.  $^{14}\text{C}$  dating with the bomb peak: An application to forensic medicine. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 172(1):944-950, 2000.