

06.72.01

C. N. E. A. Biblioteca	
ARCHIVO PUBLICACIONES	
Nº 1	AÑO 1972

Reprint from

"NUCLEAR ACTIVATION TECHNIQUES
IN THE LIFE SCIENCES"
1972

CONCENTRACION DE FLUOR EN ESMALTE Y DENTINA DE DIENTES HUMANOS NORMALES Y VETEADOS

Corrección por variaciones del tiempo muerto en la determinación instrumental del ^{20}F

Eva Y. DE AISENBERG, I. M. COHEN,
R. O. KOROB, M. D. RUDELLI

Comisión Nacional de Energía Atómica,
Buenos Aires, Argentina

Abstract-Resumen

FLUORINE CONCENTRATION IN THE ENAMEL AND DENTIN OF NORMAL AND MOTTLED HUMAN TEETH - CORRECTION FOR DEAD-TIME VARIATIONS DURING INSTRUMENTAL ANALYSIS FOR ^{20}F .

The instrumental analysis of biological material for fluorine using reactor neutrons is difficult. The nuclides produced by the reactions $^{19}\text{F}(\text{n}, \gamma)^{20}\text{F}$, $^{19}\text{F}(\text{n}, \text{p})^{19}\text{O}$ and $^{19}\text{F}(\text{n}, \alpha)^{16}\text{N}$ all involve the same disadvantages from the point of view of analysis: (a) very short half-lives; (b) low activation cross-sections; (c) the fact that oxygen interferes in the last two reactions. With fission neutrons, the yield of the reaction $^{19}\text{F}(\text{n}, 2\text{n})^{18}\text{F}$ is extremely low owing to the high threshold value. The authors determined the fluorine in samples of enamel and dentin from normal and mottled human teeth (the latter being obtained in areas where there is endemic fluorosis) by irradiating the samples for 30 sec in the RA-3 reactor and, after rapid transfer, measuring the 1633.7-keV gamma line of the ^{20}F by means of a Ge(Li) detector connected with a 4096-channel analyser. As the very short half-life of ^{20}F ($T_{1/2} = 11.4$ sec) makes it impossible to do measurements on a standard sample irradiated at the same time as the samples being investigated, the internal-standard technique was employed; with this technique, known amounts of fluorine are added, after an appropriate decay period, to the samples already irradiated and measured, and the latter are then irradiated and measured once more. Variations in the neutron flux were determined by using the activity of the total energy peak of the ^{40}Ca 3084.4-keV gamma line. By using a Ge(Li) detector it is possible, despite its relatively low efficiency, to measure the ^{20}F without interference from ^{38}Cl , with gamma activity of a similar level (1642.7 keV), or from the high activity of the ^{28}Al produced by the reaction $^{31}\text{P}(\text{n}, \alpha)^{28}\text{Al}$, which involves one of the main matrix components. The fact that the active measurement times differed for the consecutive irradiations of each sample made it necessary to derive equations for correcting the activity of the nuclides for decay during the measurement period. In deriving these equations, the authors propose modifications to the guidelines laid down by Junod. The experimental detection limit was 50 ppm, which is better than the theoretical limit (without interference) and agrees with other authors' estimates of the practical limit.

CONCENTRACION DE FLUOR EN ESMALTE Y DENTINA DE DIENTES HUMANOS NORMALES Y VETEADOS - CORRECCION POR VARIACIONES DEL TIEMPO MUERTO EN LA DETERMINACION INSTRUMENTAL DEL ^{20}F .

La determinación instrumental de flúor en material biológico, usando neutrones de reactor, es dificultosa. Los núclidos formados por las reacciones $^{19}\text{F}(\text{n}, \gamma)^{20}\text{F}$, $^{19}\text{F}(\text{n}, \text{p})^{19}\text{O}$ y $^{19}\text{F}(\text{n}, \alpha)^{16}\text{N}$ comportan los mismos inconvenientes para el analista: a) períodos de semidesintegración muy cortos; b) secciones eficaces de activación bajas; c) interferencia del oxígeno para las dos últimas reacciones. El rendimiento de la reacción $^{19}\text{F}(\text{n}, 2\text{n})^{18}\text{F}$, debido al valor alto del umbral, es sumamente bajo con neutrones de fisión. Para determinar flúor en una serie de muestras de esmalte y dentina de dientes humanos normales y veteados (provenientes estos últimos de zonas de fluorosis endémica) se irradiaron las mismas durante 30 s en el tubo neumático del reactor RA-3, midiendo luego de una transferencia rápida el rayo gamma de 1633,7 keV del ^{20}F con un detector de Ge(Li) acoplado a un analizador multicanal de 4096 canales. Como el período de semidesintegración muy corto del ^{20}F ($T_{1/2} = 11,4$ s) impide la medición de un patrón de

comparación irradiado simultáneamente con las muestras, se recurrió al uso de la técnica del «standard interno». Para ello se agregó a la muestra ya irradiada y medida, luego de un decaimiento adecuado, una cantidad de flúor conocida, volviendo a irradiar y medir. Para determinar variaciones del flujo de neutrones se utilizó la actividad del pico de energía total del rayo gamma de 3084,4 keV del ^{49}Ca . La utilización de un detector de Ge (Li) permite, a pesar de su eficiencia relativamente baja, la medición sin interferencia del ^{20}F en presencia de actividad de ^{38}Cl , de energía gamma próxima (1642, 7 keV) y de alta actividad de ^{28}Al , producido por la reacción $^{31}\text{P}(n, \alpha)^{28}\text{Al}$ sobre uno de los componentes mayores de la matriz. La existencia de tiempos activos de medición diferentes entre las irradiaciones consecutivas de cada muestra hizo necesario el desarrollo de ecuaciones de corrección de la actividad de los núclidos, debido al decaimiento de la misma durante el tiempo real de la medición. En su elaboración se proponen modificaciones a los lineamientos dados por Junod. El límite de detección experimental fue de 50 ppm, valor que es superior al teórico (libre de interferencias) y en coincidencia con la apreciación del límite práctico de otros autores.

INTRODUCCION

Ha sido demostrada la importancia del flúor en la prevención de las caries dentales. Se ha comprobado que hay una relación directa entre la ausencia de flúor y la producción de caries.

Por otra parte el flúor es un elemento muy tóxico y la toxicosis endémica o fluorosis se encuentra en muchos lugares del mundo debida principalmente al alto contenido de dicho elemento en el agua. Una característica del exceso de ingestión de flúor se da en el llamado «veteado» de los dientes [1].

Con el fin de determinar valores del contenido de flúor en esmalte y dentina en dientes limpios y en dientes con diversos grados de veteados hemos puesto a punto una técnica experimental que utiliza el análisis por activación neutrónica.

La determinación instrumental de flúor en material biológico, usando neutrones de reactor, es dificultosa. Los núclidos formados por las reacciones $^{19}\text{F}(n, \gamma)^{20}\text{F}$, $^{19}\text{F}(n, p)^{19}\text{O}$ y $^{19}\text{F}(n, \alpha)^{16}\text{N}$ comportan los mismos inconvenientes para el analista:

- a) períodos de semidesintegración muy cortos;
- b) secciones eficaces de activación bajas;
- c) interferencia del oxígeno para las dos últimas reacciones.

El rendimiento de la reacción $^{19}\text{F}(n, 2n)^{18}\text{F}$, debido al valor alto del umbral, es sumamente bajo con neutrones de fisión.

La interferencia del oxígeno puede eliminarse para la segunda de las reacciones citadas, mediante irradiación bajo cadmio. Aún en este caso, la energía relativamente baja del ^{19}O (197, 4 keV) hace que la determinación de flúor mediante este núclido no sea aconsejable. Para su análisis en esmalte y dentina nos decidimos por la cuantificación a partir del rayo gamma de 1633, 7 keV de ^{20}F ($T_{1/2}$: 11,4 s). La utilización de un detector de Ge (Li) permite, a pesar de su eficiencia relativamente baja, la medición sin interferencia del ^{20}F en presencia de actividad de ^{38}Cl , de energía gamma próxima (1642, 7 keV) y de alta actividad de ^{28}Al , producido por la reacción $^{31}\text{P}(n, \alpha)^{28}\text{Al}$ sobre uno de los componentes mayores de la matriz.

La existencia de tiempos activos de medición diferentes entre las irradiaciones consecutivas de cada muestra hizo necesario el desarrollo de ecuaciones de corrección de la actividad de los núclidos, debido al decaimiento de la misma durante el tiempo real de la medición. En su elaboración se proponen modificaciones a los lineamientos dados por Junod [2].

El límite de detección experimental fue de 50 ppm, valor que es superior al teórico (libre de interferencias) y en coincidencia con la apreciación del límite práctico de otros autores [3].

METODO EXPERIMENTAL

Las muestras provenientes de servicios hospitalarios fueron trabajadas a torno. Dividido el diente en dos partes, se separó el esmalte y la dentina de una de las mitades, quedando la otra para estudios histológicos. Las fracciones molidas fueron pesadas en recipientes de polietileno.

En uno de los tubos neumáticos del reactor RA-3 del Centro Atómico Ezeiza, se efectuaron las irradiaciones, en la mayoría de los casos a una potencia de 4 MW ($\Phi = 1,5 \cdot 10^{13} \text{ n/cm}^2 \text{ s}$).

Como el período de semidesintegración de ^{20}F impide la medición de un patrón de comparación irradiado simultáneamente con las muestras, se recurrió a la técnica del «standard interno». Para ello, luego de un decaimiento adecuado (> de 100 min) se agregaron volumétricamente 0,2 ml de solución de F^-NH_4 previamente valorada (4,842 mg de F/ml). Como monitor de las variaciones del flujo neutrónico recibido por las muestras en las dos irradiaciones se usó la actividad inducida en uno de los componentes mayores de la matriz (^{49}Ca - $T_{1/2}$: 8,8 min).

En el diagrama en bloques (figura 1) se muestra el dispositivo experimental utilizado.

Los espectros gamma se obtuvieron con un detector de $\text{Ge}(\text{Li})$ acoplado a un analizador multicanal de 4096 canales y los datos se registraron con impresor paralelo y cinta perforada.

Mediante un conjunto de relojes electrónicos y una unidad de control, diseñada y construida en el laboratorio, se comandaron automáticamente las operaciones de irradiación y medición.

Los tiempos utilizados fueron:

Irradiación	30 s
Transferencia de la muestra	12 s
Medición	72 s (efectivos)

Con el fin de disminuir el tiempo muerto instantáneo del multicanal se fijó el umbral de discriminación en aproximadamente 1500 keV. Para atenuar la actividad total a la entrada del preamplificador y amplificador lineal se interpusieron absorbentes de plomo entre la muestra y el detector.

En el rango de medición los picos gamma identificables son los de ^{20}F , ^{38}Cl , ^{28}Al , ^{24}Na (pico de energía total, simple y doble escape) y de ^{49}Ca .

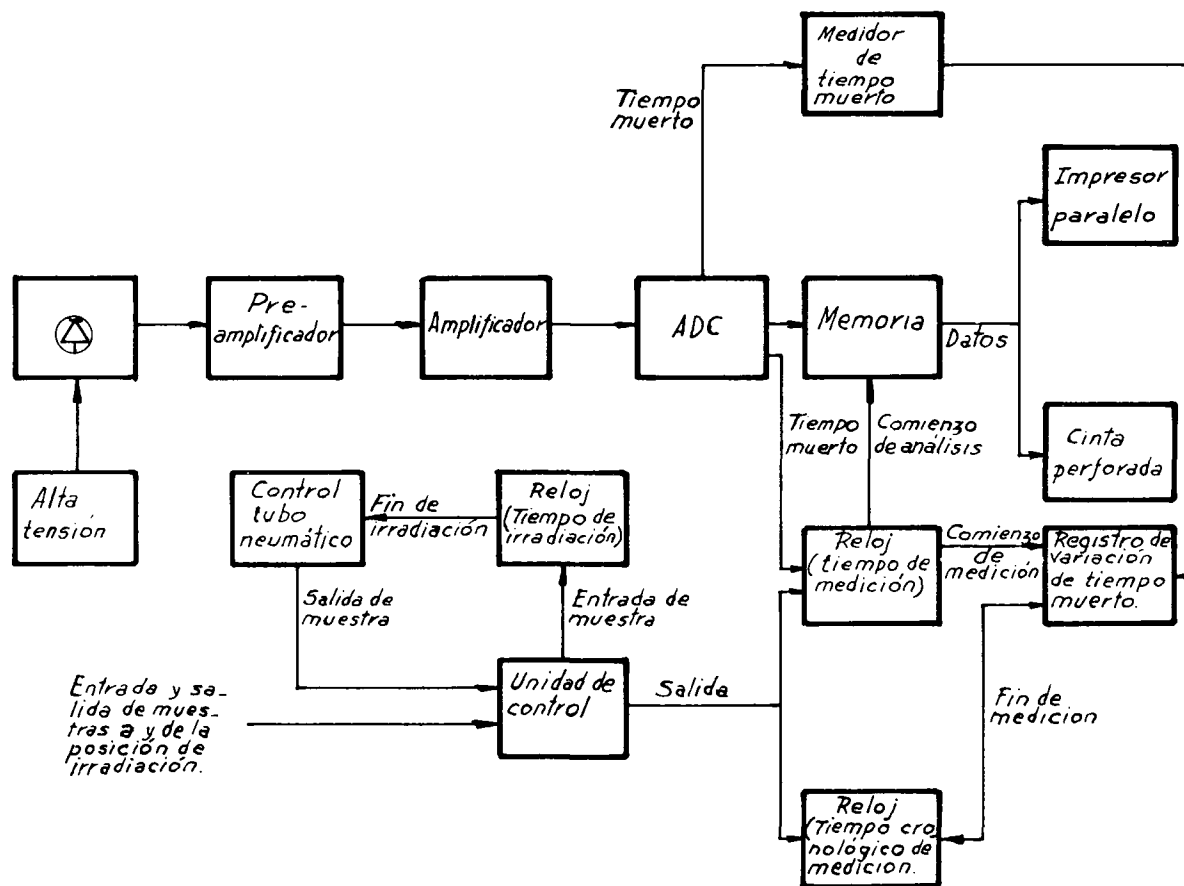


FIG. 1. Diagrama en bloques del dispositivo experimental.

ANÁLISIS DE DATOS

El cálculo de la concentración de flúor en cada muestra se realizó según la fórmula:

$$\text{Concentración de flúor (ppm)} = \frac{b}{a} \frac{A_{0F}(1)}{A_{0F}(2) z - A_{0F}(1)} = \frac{b}{a} \frac{\frac{N'_F(1)}{f(1)}}{\frac{N'_F(2)}{f(2)} z - \frac{N'_F(1)}{f(1)}}$$

donde:

b = masa de flúor agregada después de la primera irradiación, expresada en microgramos;

a = masa de muestra utilizada, expresada en gramos;

$A_{0F}(1)$ = actividad inicial de ^{20}F después de la primera irradiación (sin agregado de flúor);

$A_{0F}(2)$ = actividad inicial de ^{20}F después de la segunda irradiación (con agregado de flúor);

z = relación de flujos en la primera y segunda irradiación. Si llamamos $A_{Ca}(1)$ y $A_{Ca}(2)$ a las actividades de ^{49}Ca después de la primera y segunda irradiación:

$$z = \frac{A_{Ca}(1)}{A_{Ca}(2)}$$

$N'_F(1)$ = número de cuentas de ^{20}F analizadas por el multicanal en la primera irradiación;

$N'_F(2)$ = número de cuentas de ^{20}F analizadas por el multicanal en la segunda irradiación;

f = factor de cálculo de la actividad inicial de ^{20}F en cada una de las irradiaciones, definido según $f = N'_F/A_{0F}$ que corrige las variaciones por tiempo muerto en ambos casos, teniendo en cuenta el decaimiento de la actividad de ^{20}F .

f(1) y f(2) son los factores correspondientes a la primera y segunda irradiación, respectivamente. El cálculo de f se verá más adelante.

Cálculo de áreas

Para la cuantificación de las áreas de los picos correspondientes a los rayos gamma de ^{20}F y ^{49}Ca se utilizó una computadora HP 2116 B con un programa que integra las áreas ajustando gaussianas, luego de corregir las fluctuaciones del fondo [4].

CORRECCION POR VARIACIONES DEL TIEMPO MUERTO

La evaluación de las correcciones por tiempo muerto se efectuó siguiendo los lineamientos propuestos por E. Junod.

El tiempo muerto instantáneo para la medición de un núclido puro es:

$$\text{TMI}(t) = \omega A'(t) = \frac{\omega A(t)}{1 + \omega A(t)} = \frac{\omega A_0 e^{-\lambda t}}{1 + \omega A_0 e^{-\lambda t}}$$

donde:

TMI(t) = tiempo muerto instantáneo;

ω = tiempo muerto medio por impulso analizado;

$A'(t)$ = número de cuentas analizadas por el multicanal en la unidad de tiempo;

$A(t)$ = número de cuentas que salen del detector por unidad de tiempo;

$A(t) = A_0 e^{-\lambda t}$;

A_0 = número de cuentas que salen del detector por unidad de tiempo, en el instante inicial, $t = t_0$;

λ = constante de desintegración del núclido medido;

t = tiempo.

Cuando se miden varios núclidos simultáneamente se tiene:

$$TMI(t) = \sum_{i=1}^n TMI_i(t) = \sum_{i=1}^n \omega_i A'_i(t) = \sum_{i=1}^n \frac{\omega_i A_{0i} e^{-\lambda_i t}}{1 + \omega_i A_{0i} e^{-\lambda_i t}}$$

donde:

n = número de núclidos presentes;

$TMI_i(t)$ = contribución al tiempo muerto instantáneo total de cada uno de dichos núclidos.

Consideraremos $\omega_i A_{0i} = C_i$, factores constantes en la medición.

Llamando al número total de cuentas de ^{20}F analizadas N'_F , encontraremos el valor del factor f que definimos según la ecuación $f = N'_F / A_{0F}$, para la medición de ^{20}F en presencia de ^{28}Al , ^{49}Ca , ^{38}Cl y ^{24}Na .

$$N'_F = A_{0F} \int_0^{t_f} e^{-\lambda_F t} \left[1 - TMI(t) \right] dt$$

t_f = instante en que finaliza la medición.

En aquellos núclidos donde $A(t)$ no tiene variación apreciable durante el tiempo de medición (^{49}Ca , ^{38}Cl , ^{24}Na), la contribución al TMI es aproximadamente constante, y puede englobarse en un sólo término, que llamaremos k . En los restantes, ^{20}F y ^{28}Al , cuyas actividades varían considerablemente en el mismo tiempo, la expresión de la contribución surge de la ecuación (1). Teniendo en cuenta esta ecuación y la aproximación antedicha:

$$f = \int_0^{t_f} e^{-\lambda_F t} \left[1 - \frac{C_F e^{-\lambda_F t}}{1 + C_F e^{-\lambda_F t}} - \frac{C_{Al} e^{-\lambda_{Al} t}}{1 + C_{Al} e^{-\lambda_{Al} t}} - k \right] dt$$

donde k = constante.

$$f = \int_0^{t_f} \frac{e^{-\lambda_F t}}{1 + C_F e^{-\lambda_F t}} dt - \int_0^{t_f} \frac{C_{Al} e^{-(\lambda_F + \lambda_{Al})t}}{1 + C_{Al} e^{-\lambda_{Al} t}} dt - \int_0^{t_f} k e^{-\lambda_F t} dt'$$

Resolviendo estas integrales, la expresión final del factor f es:

$$f = \frac{1}{\lambda_F C_F} \ln \frac{1 + C_F}{1 + C_F e^{-\lambda_F t_f}} - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{n+1} C_{Al}^n}{\lambda_F + n\lambda_{Al}} \left[1 - e^{-(\lambda_F + n\lambda_{Al})t_f} \right] - \frac{k}{\lambda_F} \left[1 - e^{-\lambda_F t_f} \right]$$

En nuestro caso particular, solamente tres de los términos de la serie que figura en el segundo miembro de esta ecuación son necesarios para el cálculo de f con suficiente precisión (error relativo $< 10^{-4}$).

Las constantes C_F , C_{Al} y k se calcularon partiendo de tres lecturas del tiempo muerto instantáneo en los instantes inicial y final de la medición, y en un instante intermedio.

$$TMI(t = 0) = \frac{C_F}{1 + C_F} + \frac{C_{Al}}{1 + C_{Al}} + k$$

$$TMI(t = t_m) = \frac{C_F e^{-\lambda_F t_m}}{1 + C_F e^{-\lambda_F t_m}} + \frac{C_{Al} e^{-\lambda_{Al} t_m}}{1 + C_{Al} e^{-\lambda_{Al} t_m}} + k$$

$$TMI(t = t_f) = \frac{C_F e^{-\lambda_F t_f}}{1 + C_F e^{-\lambda_F t_f}} + \frac{C_{Al} e^{-\lambda_{Al} t_f}}{1 + C_{Al} e^{-\lambda_{Al} t_f}} + k \approx \frac{C_{Al} e^{-\lambda_{Al} t_f}}{1 + C_{Al} e^{-\lambda_{Al} t_f}} + k$$

El término suprimido en la última ecuación puede despreciarse respecto a los demás, por ser el tiempo de medición cronológico mayor que siete períodos de ^{20}F . Esta aproximación es válida aún en el caso de que C_F fuera superior en un orden de magnitud a las otras constantes. En nuestro caso, se estuvo muy por debajo de este límite.

Considerando la simplificación antedicha este sistema conduce a una ecuación de cuarto grado, fácilmente resoluble en computadoras de mesa, de cuyas raíces puede extraerse C_{Al} . Conocido este factor, el cálculo de C_F y k es inmediato.

Los factores hallados afectan al número de cuentas obtenido en las mediciones, en un rango comprendido entre 6 y 18%.

RESULTADOS TÍPICOS DE CONCENTRACION DE FLUOR (expresados en ppm)

Dientes veteados Dientes normales	Clases de muestra	Valor medio	Dispersión (s)	Mediana	Número de muestras	t de Student	Nivel de significación
	Esmalte	148 ±	69	130	22	2,36	< 5%
	Dentina	198 ±	94	170	20		
	Esmalte	1040 ±	860	630	19	6,14	<< 1%
	Dentina	1750 ±	950	1700	18		

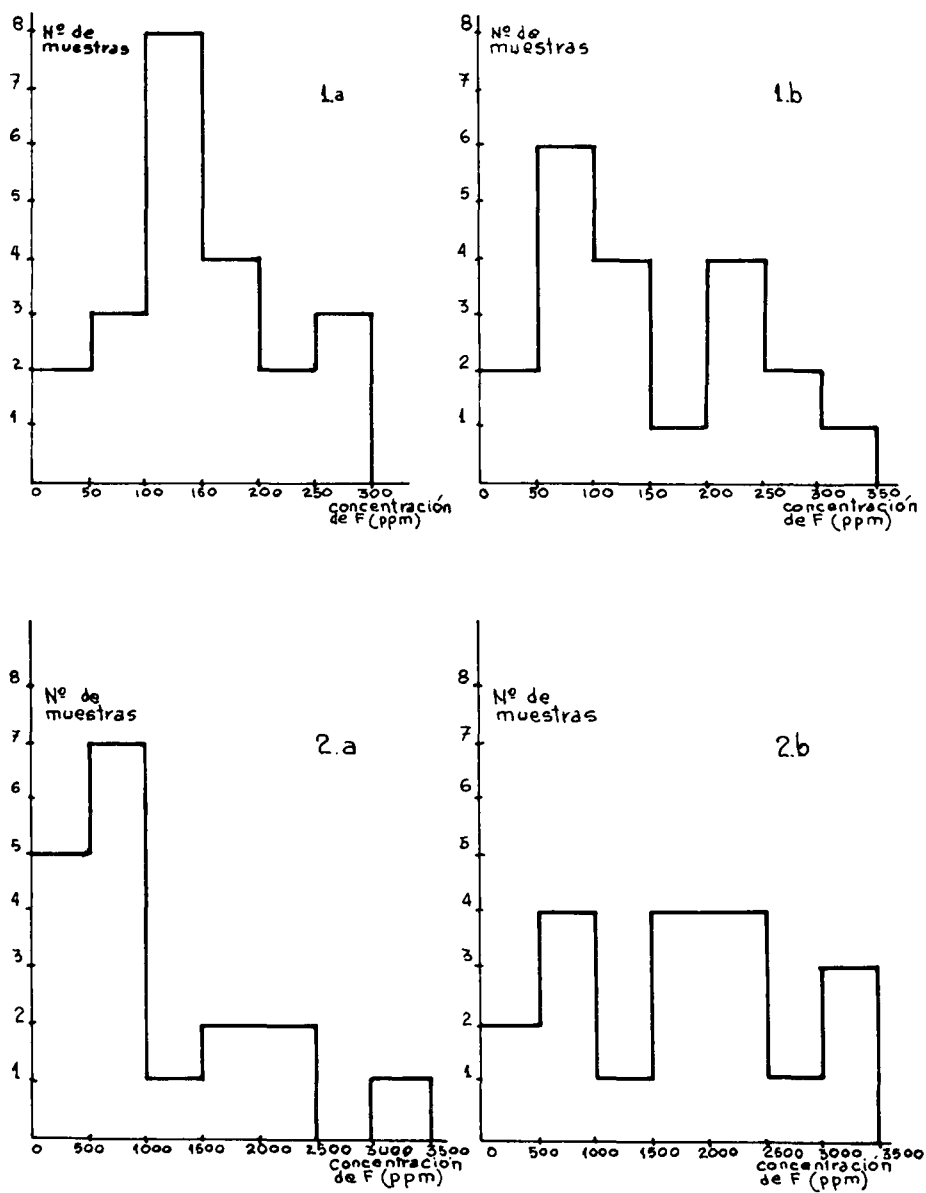


FIG.2. Distribución de los datos obtenidos: 1. Dientes normales; 2. Dientes veteados; a) Esmalte; b) Dentina.

RESULTADOS

Los datos obtenidos tienen un error que varía desde un 4% en la muestra de mayor concentración hasta cerca del 50% en aquellos casos donde la concentración de flúor es cercana al límite de detección. La sensibilidad obtenida es de $10\mu\text{g}$ en este tipo de matriz.

Las concentraciones de flúor han sido evaluadas separadamente para esmalte y dentina en dientes normales y veteados.

Para cada caso se ha hallado el valor medio con el desvío típico correspondiente y la mediana (cuadro).

En los dientes normales las concentraciones de flúor se mantienen por debajo de 300 ppm mientras que en los veteados se observaron distintos grados de contaminación que van desde un factor 2 hasta un factor 15-20 con respecto al valor medio obtenido para los normales.

Las concentraciones muestran un desvío sistemático en favor de las concentraciones en dentina respecto a las de esmalte. Ese desvío es más marcado en los dientes veteados que en los normales. Para comparar los valores obtenidos se ha aplicado la prueba de t de Student a las diferencias de concentración en cada par esmalte-dentina. Los valores de t encontrados indican que las concentraciones en dentina son significativamente superiores a las de esmalte.

El número de muestras estudiado no es suficiente para discernir la forma de la distribución y decidir si el elemento estudiado pertenece a los llamados esenciales. Alguna indicación al respecto se puede obtener aplicando el criterio dado por Lenihan y Smith [5], a las muestras normales. El 68% de los valores obtenidos para concentraciones en esmalte y el 60% de los de dentina están comprendidos entre $\bar{X}/1,6$ y $1,6 \bar{X}$ (figura 2).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dra. J. Ubioz, que preparó y facilitó las muestras de dientes; al personal del reactor RA-3 y a nuestros colaboradores del Grupo de análisis por activación, especialmente al Ing. J. C. Dezzutti por su trabajo en la electrónica de control.

Asimismo, se agradece la ayuda prestada por el Ing. J. Suárez y el Lic. F. Iglesias en el uso de la computadora para el análisis de datos.

REFERENCIAS

- [1] SCHUTTE, K.H., The Biology of the Trace Elements, Cap. VI. «Normal and abnormal anatomy as a function of trace elements nutrition», Crosby Lockwood and Son Ltd., Londres (1964) 62.
- [2] JUNOD, E., Etudes d'analyse par activation. Le Comptage des radionucléides de périodes courtes, Rapport CEA-R 2980 (1966).
- [3] JEFFREY, P.G., BAKES, J.M., The Determination of Fluorine by Neutron-activation Analysis, Proc. Soc. Analyt. Chem. 7 4 (1970) 71.
- [4] ACHTERBERG, E. et al., Automatic Analysis of Gamma-ray Spectra on Small Computers (a publicarse).
- [5] LENIHAN, J.M.A., SMITH, H., «Activation Analysis and Public Health», Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences (Actas Simp. Amsterdam, 1967), IAEA, Vienna (1967) 601.

DISCUSSION

W. B. NELP: How did you prepare the samples for measurement, and how did you separate the enamel from the remainder of the tooth? Another point is that, in my opinion, the fluoride is not homogeneously distributed within the enamel.

M. D. RUDELLI: The samples were prepared by the Dental School staff, who cut the tooth into two parts and cleaned out the dentine from the upper part. This part was supplied to us as the enamel. The dentine sample was separated from the root simply by removing the cement.

A. B. H. SPEECKE: Is it useful to take counts for seven half-lives? The sensitivity, in the case of fast-decaying radioisotopes, is based on the counts/background ratio, and the optimum counting time has been demonstrated to be approximately two half-lives.

M. D. RUDELLI: Counting for more than seven half-lives is explained by the need mathematically to solve all the unknown quantities in the equations. I quite agree with you that if the background is fairly stable, it is better to count for only two half-lives.

G. F. A. DEMORTIER: In connection with Mr. Nelp's question relating to the mechanical separation of enamel from dentine, I would like to report that a research team at our laboratory (Prof. Deconninck and others at LARN, Namur) is at present studying the distribution of fluorine in different parts of teeth. An oblique section is cut and a localized low-energy proton bombardment is applied to study the prompt emission of 6-MeV gammas in the $^{19}\text{F}(p, \alpha \gamma)^{16}\text{O}$ reaction or of 197-keV gammas in the $^{19}\text{F}(p, p'\gamma)^{19}\text{F}$ reaction. The former reaction is free from interference, while in the latter an interference from ^{18}O can sometimes be observed. The diameter of the proton beam used in this work can be reduced to less than $50\mu\text{m}$; with it we can perform a fast scan of the fluorine concentrations in different parts of the tooth. The experiments now being carried out at LARN use stag's teeth. The variations observed in the concentrations in enamel and dentine are close to the values for mottled teeth given in Table I of the paper under discussion.

Printed by the IAEA in Austria