



ARTÍCULO  
ORIGINAL

## Trabajo ganador del Premio al Mejor Artículo Científico Universidades de la CAM 2016

# ESTUDIO ANALÍTICO DE MTA-ANGELUS® Y BIODENTINE® CON TÉCNICAS SPME-GCMS Y AFM

Díaz-Flores García, V., Martínez Pérez, L., Escribano Otero, A., Kayali Sayadi, N.  
*Estudio analítico de MTA-Angelus® y Biodentine® con técnicas SPME-GCMS y AFM. Cient. Dent. 2016; 13; 2: 87-96.*



**Díaz-Flores García, Víctor**  
Licenciado en Derecho. Licenciado en Odontología. Profesor del Máster Universitario en Endodoncia Avanzada. Universidad Europea de Madrid.

**Martínez Pérez, Lucía**  
Licenciada en Odontología. Máster Universitario en Endodoncia Avanzada por la Universidad Europea de Madrid.

**Escribano Otero, Amparo**  
Doctora en Química. Universidad Complutense de Madrid.

**Kayali Sayadi, Nour**  
Doctor en Química. Universidad Complutense de Madrid.

### Indexada en / Indexed in:

- IME
- IBECS
- LATINDEX
- GOOGLE ACADÉMICO

### Correspondencia:

Víctor Díaz-Flores García  
Universidad Europea de Madrid  
C/ Tajo s/n  
28670 Villaviciosa de Odón - Madrid  
victor.diaz-flores@universidadeuropea.es  
Tel.: 916 647 800

Fecha de recepción: 8 de junio de 2016.  
Fecha de aceptación para su publicación:  
1 de julio de 2016.

## RESUMEN

**Introducción:** El objetivo del estudio fue obtener información analítica sobre la pureza química y homogeneidad de los materiales de uso endodóntico MTA-Angelus® y Biodentine®.

**Material y métodos:** Se analizaron ambos materiales mediante la técnica de microextracción en fase sólida (SPME), combinada con cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas (GC-MS) para separar e identificar los compuestos orgánicos volátiles (COVs) contenidos. Por otro lado, utilizando microscopía de fuerza atómica (AFM) se estudió la topografía y rugosidad de las superficies de dientes tras la realización de obturaciones a retro in vitro con ambos cementos.

**Resultados:** Se identificaron diversos COVs en ambos materiales mediante SPME GC-MS. Entre los compuestos detectados, destacaron el alfa - metilestireno (presente en MTA-Angelus®) y el diclorometano (detectado tanto en MTA-Angelus® como en Biodentine®) que son potencialmente tóxicos y perjudiciales para la salud. Los resultados del estudio con AFM demostraron la existencia de diferencias en la superficie de los cementos. Las imágenes y rugosidad finales fueron más homogéneas en Biodentine®.

**Conclusiones:** Los cementos endodónticos MTA-Angelus® y Biodentine® contienen ciertos compuestos perjudiciales para la salud. Se evidencia la necesidad de un control más exigente de los riesgos para la salud de estos. El estudio AFM mostró que Biodentine® presenta un superficie más homogénea.

## PALABRAS CLAVE

Biodentine; MTA; Microextracción en fase sólida; Cromatografía de gases; Espectrómetro de masas; Compuestos orgánicos volátiles; Alfa - metilestireno; Diclorometano.

## ANALYTICAL STUDIES OF MTA ANGELUS AND BIODENTINE MATERIALS BY SPME-GCMS AND AFM TECHNIQUES

## ABSTRACT

**Introduction:** The aim of this research was to obtain analytical information about the chemical purity and the homogeneity of the endodontic materials MTA Angelus™ and Biodentine™.

**Methods:** On the one hand, solid phased microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GCMS) was carried out with MTA Angelus and Biodentine materials, isolating and identifying the contained volatile organic compounds (VOCs). On the other hand, atomic force microscopy (AFM) was used to study topography and roughness aspects on teeth after in vitro root end fillings with both materials.

**Results:** First, several VOCs have been detected by SPME-GCMS in both materials. It is noteworthy alpha methylstyrene (identified in MTA Angelus™) or dichloromethane (detected both in MTA Angelus™ and Biodentine™) due to its potential toxicity and harmful health effects. Secondly, AFM study showed differences among the surface materials. Final images and roughness results showed more homogeneous cement in the Biodentine product.

**Conclusions:** Endodontic cements MTA Angelus and Biodentine contains some harmful health compounds. The need of a stricter health risks control of both materials became evident. AFM study demonstrated a more homogenous surface in Biodentine.

## KEY WORDS

Biodentine; MTA; Solid phased microextraction; Chromatography-mass spectrometry; Volatile organic compounds; Alpha methylstyrene; dichloromethane.

## INTRODUCCIÓN

El Agregado de trióxido mineral (MTA) es un cemento endodóntico a base silicatos cálcicos descrito por primera vez en 1993<sup>1</sup>. Fue el primer material desarrollado y recomendado específicamente para sellar las vías de comunicación entre el sistema de conductos radiculares y la superficie externa del diente<sup>2</sup>. Según lo indicado en la patente, el MTA es cemento Portland tipo I refinado al que se le añade óxido de bismuto para aportarle radiopacidad<sup>3</sup>. Está compuesto fundamentalmente por un 75% de silicato tricálcico, silicato dicálcico y aluminato férrico tetracálcico; un 20% de óxido de bismuto; un 4,4% por sulfato de calcio dihidratado y sílica cristalina; y, finalmente, por residuos insolubles como óxido de calcio, óxido de magnesio y sulfato de potasio y sodio en un 0,6%<sup>2-7</sup>.

Las principales ventajas son su biocompatibilidad, gran capacidad de sellado y bioactividad<sup>1,4,8</sup>, que han convertido al MTA en el material de elección en sus múltiples aplicaciones clínicas: recubrimiento pulpar, pulpotomía, apicogénesis, apicoformación, reparación de lesiones furcales, reabsorciones y perforaciones radiculares, así como obturación a retro en cirugías apicales<sup>4,8</sup>. Sin embargo, este cemento presenta ciertos inconvenientes muy relevantes en la práctica odontológica como un tiempo de fraguado largo, dificultad de manejo y posibilidad de tinción dentaria<sup>4,9-11</sup>.

Recientemente han aparecido nuevos materiales basados en silicatos cálcicos, desarrollados con el objetivo de mejorar las desventajas del MTA<sup>12,13</sup>. Han recibido una considerable atención<sup>4,8,14,15</sup> gracias a su parecido con el MTA<sup>16-18</sup> y a que comparten aplicaciones clínicas<sup>18</sup>.

Biodentine® (Septodont, Saint-Maur-des-Fosse's Cedex, Francia), comercializado en 2009 y diseñado específicamente como sustituto de la dentina<sup>19</sup>, es uno de los que mayor popularidad ha obtenido. Se presenta en un sistema de polvo en cápsula y líquido en pipeta que se mezcla en una vibradora. El polvo está compuesto fundamentalmente por silicato tricálcico, con pequeñas porciones de silicato dicálcico, carbonato cálcico y óxido de zirconio como radiopacificador<sup>19-21</sup>. Básicamente, la composición del líquido es agua que lleva disueltos cloruro cálcico como acelerador de la reacción para disminuir el tiempo de fraguado y un polímero hidrosoluble como agente reductor del agua<sup>19,20,22</sup> para mantener un equilibrio entre la disminución de la cantidad de agua y la consistencia de la mezcla al disminuir el ratio cemento-agua<sup>19-23</sup>. Las investigaciones realizadas hasta el momento ensalzan las propiedades de Biodentine®, biocompatibilidad<sup>24,25</sup>, bioactividad<sup>26</sup> y buena capacidad de sellado<sup>27,28</sup>.

A pesar de que el MTA y el Biodentine® se colocan en contacto con la pulpa dental y los tejidos perirradiculares, están catalogados como productos sanitarios y no como medicamentos. Por tanto, no se realizan los controles de calidad exigidos para estos últimos; como por ejemplo, la conformidad de las normas internacionales de correcta fabricación y buenas prácticas en laboratorio GMP (Good Manufacturing Laboratory Practice) y GLP (Good Laboratory Practice) con sus inspecciones corres-

pondientes. A pesar de que se han realizado muchas investigaciones para evaluar la composición y las propiedades físicas y químicas de estos materiales<sup>10,13,20,21,30</sup>, la información disponible sobre el proceso de fabricación tanto de MTA-Angelus®<sup>29</sup> y Biodentine® es escasa y está limitada a la que proporcionan los fabricantes. Dada la similitud existente entre estos materiales basados en silicato y el cemento Portland, la posible inclusión de metales pesados ha generado preocupación porque se emplazan en contacto directo con los tejidos y podrían liberarse al medio biológico adyacente<sup>23-31-33</sup>. Sin embargo, existe escasa información analítica sobre la posible presencia de impurezas orgánicas volátiles.

La microextracción en fase sólida o SPME (por sus siglas en inglés) es una técnica potente, simple y rápida muy utilizada en química analítica de extracción de compuestos químicos para su posterior identificación<sup>34</sup>. Esta técnica de preparación de muestra se fundamenta en la extracción y concentración de compuestos orgánicos directamente en una fibra (o fase estacionaria) de sílice fundida, la cual está recubierta de un sorbente que, en la mayoría de los casos, se trata de uno o más polímeros extractantes<sup>35-37</sup>. La microextracción en fase sólida combinada con cromatografía de gases (SPME GC) acoplada a detector de espectrometría de masas (SPME GC-MS) se aplica exitosamente en la extracción de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles de un amplio rango de muestras<sup>16</sup>, ya sean gaseosas como por ejemplo aire<sup>38</sup> o aliento<sup>17</sup>, líquidas como agua y bebidas<sup>18</sup>, o sólidas como sedimentos y alimentos<sup>19</sup>.

El microscopio de fuerza atómica o AFM (por sus siglas en inglés) es una técnica microscópica de alta resolución, que genera imágenes topográficas precisas de una muestra escaneando su superficie con una sonda a escala nanométrica<sup>20</sup>. Esa sonda recorre la superficie de una muestra, midiendo su morfología y propiedades, construyendo así una imagen en 3D de la superficie<sup>20</sup>. Además de las imágenes de superficies con resolución nanométrica, el AFM también permite determinar la rugosidad de una superficie, sondear los cambios locales bajo fricción, medir las fuerzas de superficie y comprobar los cambios en la elasticidad local sobre la superficie de la muestra<sup>21</sup>. Entre otras áreas, el AFM se utiliza en bioquímica<sup>39</sup> y nanotecnología<sup>40</sup>.

El objetivo de este estudio es ofrecer información analítica para un mejor conocimiento de las ventajas e inconvenientes, no sólo en el manejo, sino también en la calidad química de MTA-Angelus® y Biodentine®. Para ello, se identificarán los compuestos orgánicos volátiles presentes mediante SPME GC-MS y se investigará la homogeneidad en superficie mediante el uso de AFM.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material y equipamiento

El análisis realizado en el presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio CSI Analítica (CIF B87163168 - Tres Cantos, Madrid).

## Análisis SPME-GCMS

El análisis mediante GCMS se realizó en un cromatógrafo de gases modelo GC7890B acoplado a un espectrómetro de masas de cuadrupolo simple modelo 5977A, ambos de El cromatógrafo dispone de un inyector automático COMBI PAL. Para la separación cromatográfica se utilizó una columna capilar modelo VA624 de VARIAN con fase estacionaria 5% con difenil-95%-dimetil polixilosano y dimensiones 60 mm x 0,25 mm ID, de 1 µ de grosor.

La retención de los compuestos volátiles mediante SPME se realizó en modo automático utilizando una fibra SPME de Supelco (Bellefonte, PA, EE.UU) con fase estacionaria de 85 µm carbonato/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS, código de color azul claro). Para el acondicionamiento y limpieza de las fibras se utilizó el sistema de acondicionamiento independiente de fibras Nurka 390© (Nurka, Madrid, España).

Las muestras fueron introducidas en viales de SPME de vidrio con tapón de rosca y PTFE/silicona de Supelco (Bellefonte, PA, USA) y pesadas con balanza analítica. La relación de materiales, modelos y casa comercial utilizados en el estudio puede observarse en la Tabla 1.

Tabla 1. Instrumental, modelo y casa comercial utilizado en el estudio

Instrumento/Material	Modelo	Casa comercial
CG-MS	7890B-5977A	Agilent Technologies (Palo Alto, E.E.U.U.)
Inyector automático COMBI PAL	PAL	COMBI PAL
Balanza analítica	HR-120EC	A Y D Instrument
Acondicionador fibras SPME	Nurka390®	Nurka
Fibra SPME de 85 µm de espesor, PDMS/CAR	Código azul claro	SUPELCO
Viales SPME de 20 mL con septum PTFE	--	SUPELCO

## Análisis AFM

El análisis se realizó con un microscopio multimodo Nanoscope III de Bruker AXS (Billerica, Massachusetts, EE.UU), un soporte de acero inoxidable AFM y una punta tipo FEST.

## PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

### Análisis SPME-GCMS

El estudio se realizó sobre dos materiales endodónticos basados en silicato: envase de 1 gr de polvo MTA-Angelus® (Angelus Soluções Odontológicas, Londrina, Brasil) con número de lote 33467 y una cápsula monodosis de Biodentine® polvo y otra monodosis de Biodentine® líquido (Septodont, Saint Maurice-Fosses, Francia) con número de lote B13296. Todos los envases eran nuevos y nunca habían sido abiertos.

Se utilizaron 6 viales de vidrio SPME a los que se transfirieron:

- 200 mg de polvo de MTA-Angelus® a dos viales (100 mg en cada uno).
- 200 mg de polvo de Biodentine® a dos viales (100 mg en cada uno).
- 3 gotas de Biodentine® líquido a un vial.
- 1 vial vacío para ser utilizado como blanco o control negativo.

Los viales se posicionaron en la gradilla del inyector automático del GC-MS. La fibra SPME se colocó en el soporte del inyector automático tras ser acondicionada durante 30 minutos a un flujo de 20 ml/min en el Nurka® 390 Fiber Conditioning.

La extracción de los analitos mediante SPME en espacio de cabeza fue llevada a cabo en modo automático a una temperatura de 70 °C, con agitación a 250 rpm y durante 60 minutos.

La desorción térmica de los analitos extraídos fue realizada en el interior del inyector automático del cromatógrafo de gases en modo splitless, durante 5 minutos a 240 °C de temperatura (recomendación del fabricante).

Para la separación de los distintos compuestos se siguió el siguiente programa de temperaturas en el horno cromatográfico: durante los primeros 15 minutos la temperatura fue de 40° C. Posteriormente se incrementó hasta 60 °C a 3° C/min, manteniéndose a esta temperatura durante un minuto. Volvió a elevarse hasta 160 °C a 5 °C/min y a mantenerse durante un minuto. Por último, se incrementó hasta 240°C a 10 °C/min y se mantuvo durante 11,3 minutos. El tiempo total de análisis fue de 63 minutos. La temperatura de la interfase y de la fuente de iones fue de 280 y 230 °C respectivamente. La ionización en la fuente de impacto de electrones se hizo a 70 eV, utilizando un modo de adquisición total tipo SCAN en el rango de masas 25-650 m/z.

La identificación de los compuestos detectados se realizó en modo manual mediante comparación de su espectro de masas con los disponibles en la base de datos de la librería W9N08.

### Análisis AFM

Se seleccionaron dos incisivos centrales humanos extraídos y preservados durante 4 meses en solución salina. Los dientes se radiografiaron y examinaron con un microscopio óptico quirúrgico (Zeiss, Oberkochen, Alemania) con una magnificación de 21,2 para comprobar si existía algún defecto en la raíz. Los dientes seleccionados no tenían tratamiento endodóntico previo, reabsorción radicular, fractura, crack, ápice abierto o perforación.

Se separaron las coronas clínicas a la altura de la unión amelo-cementaria con un disco de diamante a baja velocidad (Komet Dental, Lemgo, Alemania) bajo constante refrigeración con agua. La longitud de la raíz se estandarizó a 16 mm.

Con una lima manual tipo K #10 de 21 mm (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza) se permeabilizaron los conductos hasta que

el final de la lima era visible en el foramen. Ambos dientes se instrumentaron hasta una lima #40 utilizando la técnica step-back, utilizándose como irrigante 10 ml de NaOCl al 4,25% durante toda la instrumentación. Los conductos se secaron con puntas de papel y se obturaron con técnica de condensación lateral con gutapercha y cemento AH Plus® (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza).

A cada diente se le realizó una resección apical de 90° en relación al eje longitudinal a 3 mm del ápice radicular con un disco de diamante a baja velocidad (Komet Dental, Lemgo, Alemania) y constante refrigeración con agua. Posteriormente se prepararon cavidades retrógradas de 3 mm en cada conducto radicular con una punta de ultrasonidos AS3D (Satelec, Acteon y Merignac, Francia). La obturación de las cavidades se realizó de forma aleatoria: la muestra nº 1 con MTA-Angelus® (Angelus Soluções Odontológicas, Londrina, Brasil) y la muestra nº 2 con Biodentine® (Septodont, Saint Maur-des-Fosses, Francia), siguiendo las instrucciones de los fabricantes y condensándolo con un atacador de doble extremo (Analytic, SybronEndo: Orange, CA, EE.UU). Se realizó un pulido inicial con un condensador de bola (Kerr Dental, Orange, CA, EE.UU) para eliminar los excesos y mejorar la adaptación de los materiales. A continuación se pulieron con una fresa de pulido final de carbono de tungsteno (Komet Dental, Lemgo, Alemania) colocada en una pieza de mano de alta velocidad bajo refrigeración continua de agua. Las muestras se radiografiaron en varias proyecciones para verificar la calidad de las obturaciones y asegurar que no existían imperfecciones en el tercio apical. Tras ello, se almacenaron en una gasa húmeda a 37°C durante 24 horas para permitir el fraguado de los materiales.

Se seccionaron 2 mm del tercio apical de cada muestra, perpendicularmente al eje axial de la raíz con un disco de diamante a baja velocidad (Komet Dental, Lemgo, Alemania) bajo continua refrigeración con agua. Las dos secciones obtenidas fueron cuidadosamente almacenadas en un recipiente hermético con una gasa húmeda durante 24 horas.

Los experimentos del AFM se realizaron en modo descarga con el fin de analizar la superficie topográfica de cada muestra. Este tipo de microscopio está equipado con tres escáneres de 1, 1,5 y 150  $\mu$ . Cada sección de 2 mm se colocó en la sonda del manoscopio y se realizaron medidas en 3 áreas:

sobre el material de obturación, sobre el diente y sobre la interfase entre diente y material (Figura 1).

## RESULTADOS

### Identificación de COVs por SPME-GCMS

En las Tablas 2, 3 y 4 se describen los compuestos identificados en las muestras de MTA-Angelus®, Biodentine® polvo y Biodentine® líquido respectivamente. Se han detectado menos compuestos en la muestra MTA-Angelus® (5 COV), seguida de Biodentine® polvo (6 COV) y de Biodentine® líquido (8 COV).

En la muestra en blanco no se ha detectado ninguno de los compuestos identificados en las muestras de MTA-Angelus®, Biodentine® polvo y Biodentine® líquido. Los picos cromatográficos presentados en la muestra en blanco corresponden a compuestos derivados del silicio propios del sangrado de la fase estacionaria de la fibra o columna cromatográfica y, por tanto, no son atribuibles a las muestras.

Han sido identificados varios tipos de compuestos según su grupo funcional orgánico, entre los que cabría destacar los alcoholes, hidrocarburos aromáticos y compuestos halogenados, estos últimos a nivel de traza. Se identificó alfa-metilestireno en las muestras de MTA-Angelus®. En todas las muestras, excepto en el blanco, se detectan trazas de diclorometano.

No se realizó un espectro del diclorometano porque se localizó a nivel de trazas. Sin embargo, se sospechó que dicho compuesto era diclorometano porque su espectro sí se encontró en el cluster de iones moleculares. Para conocer la identificación final sería necesario inyectar diclorometano puro para obtener el mismo tiempo de retención (tr) para ambos.

Los cromatogramas obtenidos en el análisis de las muestras se presentan en las Figuras 1 a 4, entre las que se incluye un análisis del blanco.

### AFM

En la Figura 5 se pueden observar las posiciones de las medidas realizadas en las muestras mediante AFM. Los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 6-10. Para dichas imágenes, los resultados destacados se detallan en la Tabla 5.

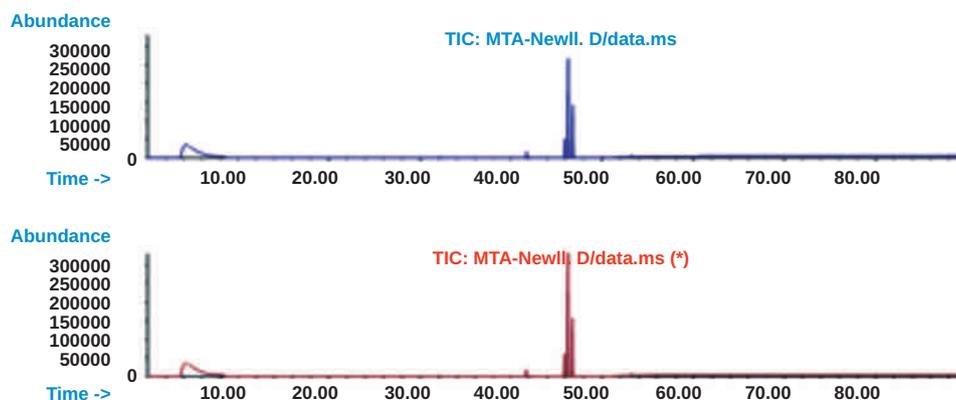


Figura 1. Cromatogramas TIC de la muestra de MTA Angelus® por duplicado.

TABLA 2. COV<sub>s</sub> Presentes en La muestra MTA ANGELUS®

Nº	Compuesto	tr	Factor match	CAS	Área
1	* Dichloromethane	18,480	--	75-09-2	107.930
2	.alpha.-Methylstyrene	41,625	95	98-83-9	1.070.520
3	Benzenamine, 2,4,6-trimethyl-	45,887	60	88-05-1	1.924.344
4	Acetophenone	46,270	94	98-86-2	12.104.162
5	Benzenemethanol, .alpha.,.alpha.-dimethyl-	46,750	91	617-94-7	4.442.177

\* A nivel de trazas

TABLA 3. COV<sub>s</sub> Presentes en La muestra BIODENTINE® POLVO

Nº	Compuesto	tr	Factor match	CAS	Área
1	* Dichloromethane	18,480	--	000075-09-2	141.184
2	Heptane, 2,2,4,6,6-pentamethyl	40,832	83	013475-82-6	12.920.068
3	Nonane, 2,2,4,4,6,8,8-heptamethyl	42,430	50	004390-04-9	1.996.552
4	Oxalic acid, isobutyl pentyl ester	42,758	74	1000309-37-0	433.365
5	Octane, 2,5,6-trimethyl	50,772	72	062016-14-2	213.309
6	Pentane, 2,2,3,4-tetramethyl	50,877	61	001176-53-4	238.492

\* A nivel de trazas

## DISCUSIÓN

### Identificación COVs

El análisis mediante SPME GC-MS ha resultado ser eficaz y fiable en la identificación de compuestos orgánicos volátiles MTA-Angelus® y Biodentine® polvo y líquido. El carácter de esta identificación es cualitativa, es decir, el área detectada se refiere a la calidad del pico cromatográfico y no a la concentración. Los compuestos detectados a nivel de traza sólo indican una menor cantidad, pero no concentraciones exactas.

Según los resultados obtenidos y detallados en las Tablas 2 a 5, han sido identificados varios COVs potencialmente tóxicos en todas las muestras, exceptuando la muestra en blanco. En la muestra de MTA-Angelus®, se identificó alfa-metilestileno. Este compuesto está clasificado como posible carcinogénico para humanos (nivel 2B) por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), organismo dependiente de la Organización Mundial de la Salud<sup>26</sup>. El alfa-metil-estileno es un líquido incoloro. Se trata de un hidrocarburo

TABLA 4. COV<sub>s</sub> Presentes en La muestra BIODENTINE® LÍQUIDO

Nº	Compuesto	tr	Factor match	CAS	Área
1	Isopropyl Alcohol	9,336	83	000067-63-0	5.498.361
2	* Dichloromethane	18,502	--	000075-09-2	31.893
3	Cyclohexanone	39,251	90	000108-94-1	188.919
4	* Benzomethanol	45,562	--	000100-51-6	209.400
5	Benzenemethanol, .alpha.,.alpha.-dimethyl-	46,743	78	000617-94-7	91.330
6	** Butanoic acid, butyl ester	53,045	64	000109-21-7	33.228
7	Adipic acid, di (but-2-en-1-yl) ester	58,008	50	1000324-71-1	988.046
8	** Phthalic acid, allyl ethyl ester	58,491	64	033672-94-5	114.545

\* A nivel de trazas \*\* Relacionado con plásticos (recipiente)

aromático de alto volumen de producción que se emplea en la industria principalmente para mejorar la dureza y la resistencia de los polímeros frente a altas temperaturas, fundamentalmente plásticos, gomas y revestimientos. Las investigaciones sobre la toxicidad y carcinogenicidad en humanos son escasas. En animales de experimentación ha ocasionado cáncer renal y leucemia en ratones macho y cáncer hepático en hembras tras su inhalación. También se han observado nefropatías y hepatotoxicidad en roedores<sup>24</sup>. Puede ser absorbido por el cuerpo mediante inhalación, ingestión o a través de la piel<sup>41</sup>.

Cabe destacar también la presencia de diclorometano, compuesto halogenado detectado en todas las muestras de estudio excepto en la muestra en blanco. Está clasificado como posible carcinogénico para humanos (nivel 2A) por la IARC<sup>24</sup>. Se trata de un líquido incoloro de olor penetrante y puede ser absorbido por el organismo por inhalación o ingestión<sup>42</sup>. Existe evidencia limitada de carcinogenicidad en humanos, pero suficiente evidencia en animales de experimentación<sup>43,44</sup>. Este compuesto se fabrica para ser utilizado en multitud de procesos industriales, fundamentalmente como solvente extractante<sup>26</sup>. También se encuentra en pinturas, aerosoles, pesticidas y decapantes de metal y pinturas<sup>26</sup>.

En la muestra Biodentine® líquido se han identificado alcoholes y cetonas, compuestos encontrados habitualmente en los productos farmacéuticos. Debido a la rapidez en el secado, estos alcoholes podrían explicar la disminución en el tiempo de fraguado de Biodentine® comparado con el de MTA que emplea sólo agua destilada para mezclar el polvo. Sin embargo, no existe información disponible sobre la benzeamina 2,4,6-trimetil-acetofenona, identificada en la muestra de MTA-Angelus®. Se debe resaltar también la presencia de hidrocarburos saturados ramificados en la muestra de Biodentine®, ya que este tipo de productos está asociado usualmente a los productos petrolíferos.

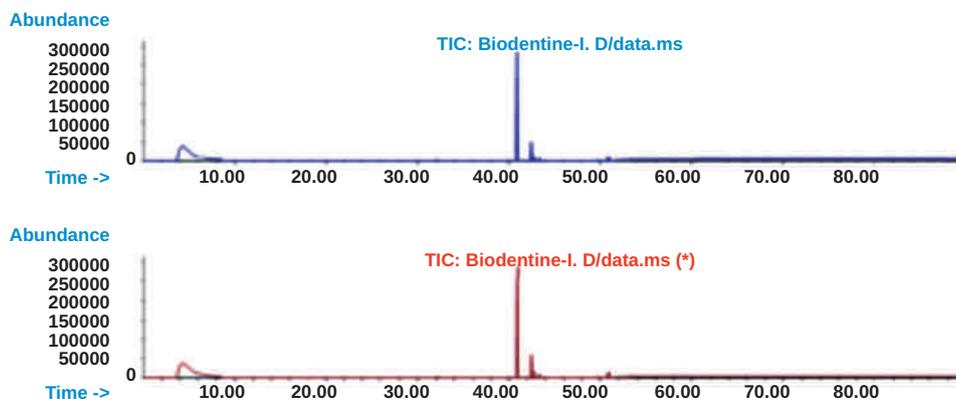


Figura 2. Cromatogramas TIC de la muestra de Biodentine® polvo por duplicado.

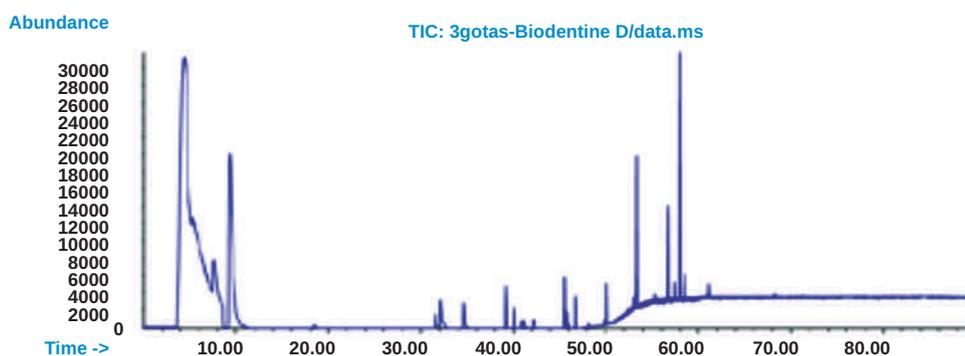


Figura 3. Cromatograma TIC de la muestra de Biodentine® líquido.

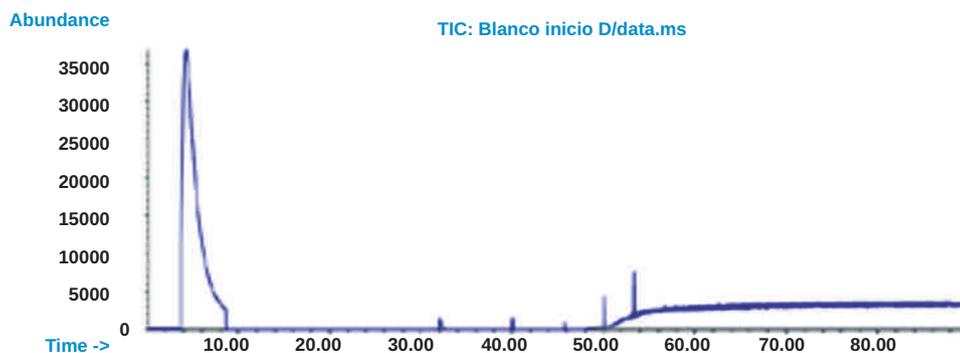


Figura 4. Cromatograma TIC de la muestra en blanco.

Los fabricantes de MTA-Angelus® y de Biodentine<sup>®19,29</sup> aseguran llevar a cabo un proceso de fabricación bajo un estricto control de calidad, a partir de materias primas de máxima pureza y hornos de altas temperaturas con gran precisión, donde obtienen un conglomerado o clinker que tras enfriarse, es triturado y pulverizado hasta conseguir un tamaño de partículas óptimo para su aplicación clínica. Tomando como referencia el proceso de fabricación del cemento Portland original, donde las altas temperaturas utilizadas en los hornos superan los 1400 °C provocarían que cualquier compuesto volátil presente

fuera eliminado por evaporación a través de la chimenea<sup>45</sup>, cabe sospechar que los COVs identificados en este estudio se habrían incorporado en los procesos posteriores a la fabricación del clinker, como por ejemplo, durante el molido, espolvoreado o envasado del producto.

La ficha de datos de seguridad (MSDS) de un producto es un documento facilitado por el fabricante que debe incluir, entre otros datos, toda la información relativa a los peligros para la salud y el medio ambiente, identificación de los peligros, control

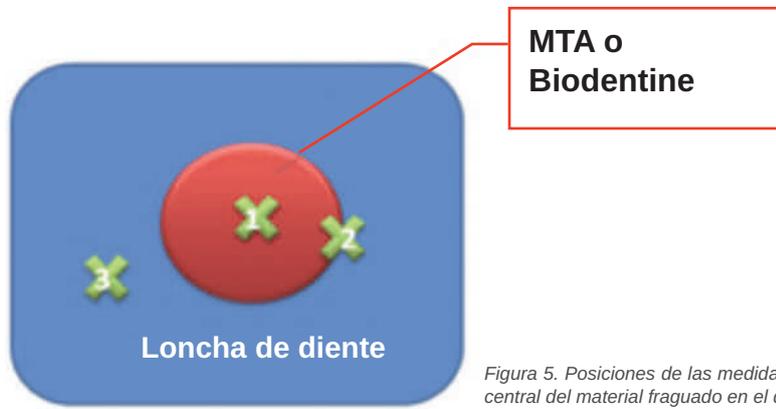


Figura 5. Posiciones de las medidas realizadas en las muestras mediante AFM: Medida 1, zona central del material fraguado en el diente; Medida 2, interfase diente-material; Medida 3, diente.

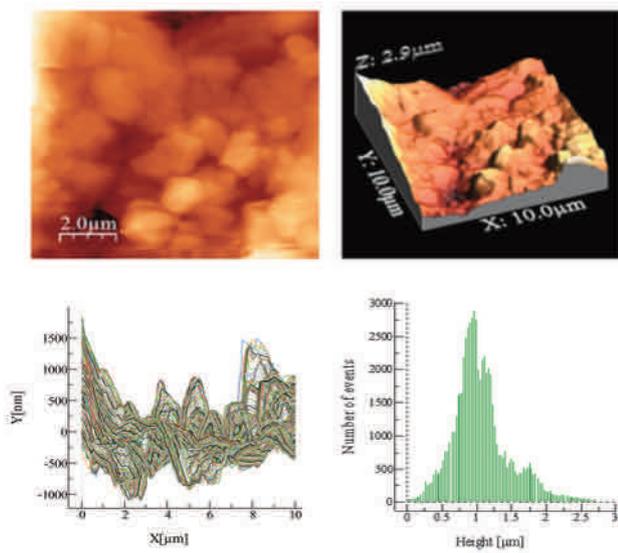


Figura 6. MTA-diente zona centro 01 (medida zona 1).

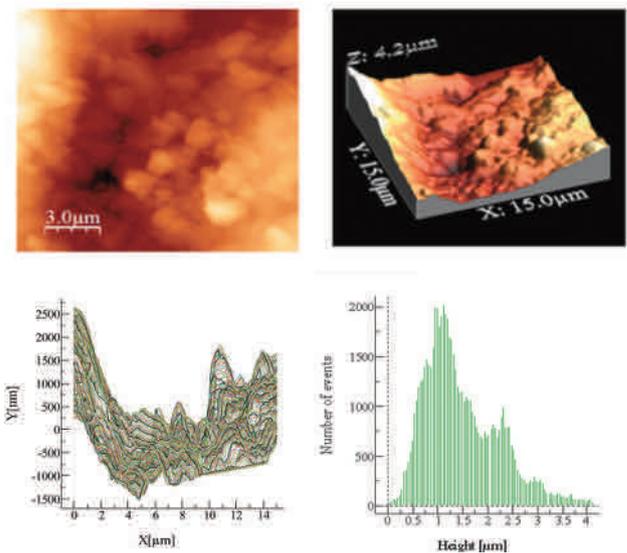


Figura 7. MTA-diente zona centro 02 (medida zona 1).

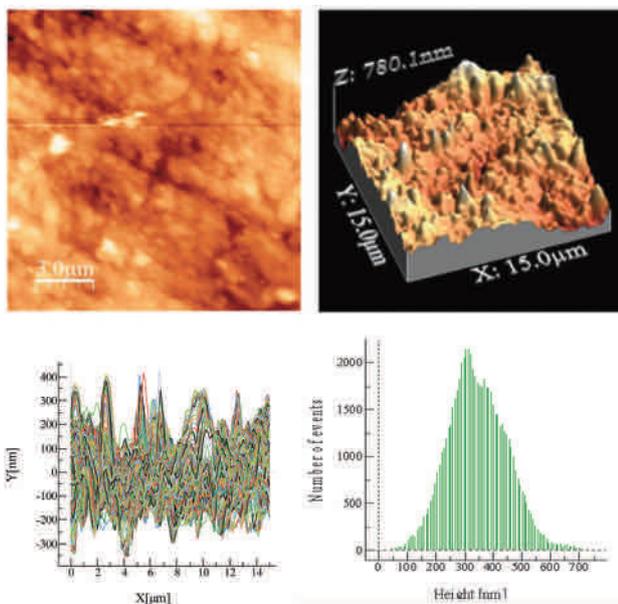


Figura 8. MTA-diente, zona diente (medida zona 3).

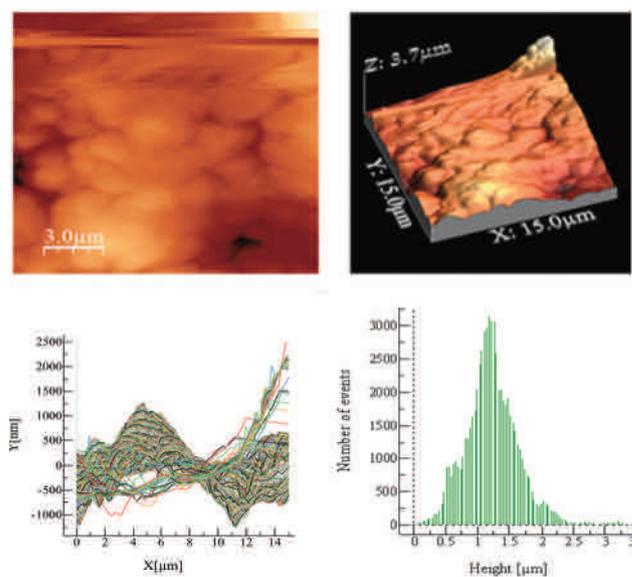


Figura 9. Biodentine-diente, zona centro (medida zona 1).

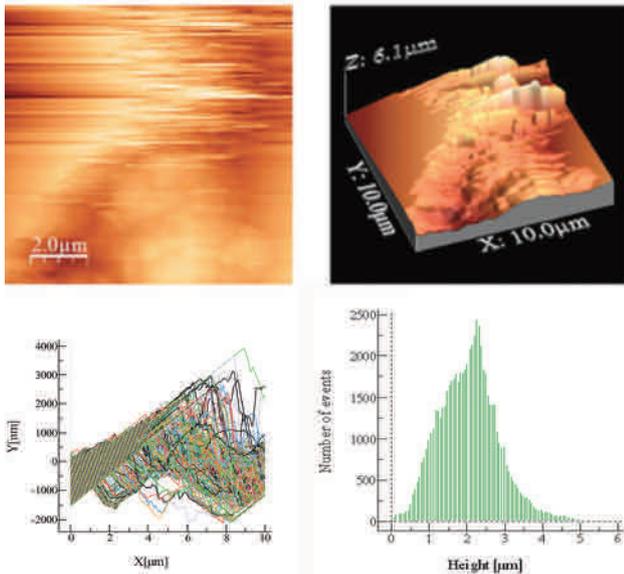


Figura 10. Biodentine-diente, zona interfase (medida zona 2).

de exposición, composición y propiedades físico químicas, información toxicológica y medidas de primeros auxilios. En la MSDS de MTA-Angelus® no existe ningún apartado sobre los COV<sup>58</sup>. En la de Biodentine® sí, pero indican la presencia de 0,00 % de los mismos<sup>59</sup>. Por tanto, este estudio demuestra que los riesgos para la salud por la utilización de MTA-Angelus® y/o Biodentine® son desconocidos o están insuficientemente descritos en sus correspondientes MSDS. Este resultado concuerda con estudios previos sobre los compuestos químicos presentes en otros materiales dentales, los cuales revelan la falta de información veraz en las mismas<sup>46,47</sup>.

El resultado de esta investigación hace cuestionar la normativa de seguridad que siguen los materiales odontológicos previos a la autorización para su venta y utilización odontológica y pone de manifiesto la necesidad de un control más exigente de los riesgos para la salud de los materiales dentales y del desarrollo de regulaciones más específicas y exhaustivas. Dichos compuestos podrían tener impacto tanto en la biocompatibilidad del producto como en la seguridad de su uso para el paciente y el profesional.

La exposición continuada a los COV en pequeñas concentraciones debe preocupar, pues, a pesar de que las cantidades detectadas en este estudio son pequeñas, estos compuestos son liposolubles y bioacumulables, es decir, que son solubles en los lípidos, por los que tienen gran afinidad, acumulándose en los tejidos grasos de los seres vivos<sup>48,49</sup>.

### AFM

El análisis mediante AFM ha mostrado que el cemento Biodentine® es más homogéneo que el MTA-Angelus® en las zonas estudiadas. Aún así, se observó una elevada rugosidad en las zona de interfase. Se obtuvieron imágenes con muchos saltos en la muestra Biodentine®, mientras que no fue posible conseguir una imagen de la muestra MTA-Angelus® debido a las continuas irregularidades de la superficie. Estas diferencias obtenidas podrían estar relacionadas con la diferente composición química de ambos materiales<sup>30</sup>.

Attik y cols., obtuvieron resultados similares de nanorugosidad al comparar Biodentine® y MTA Pro-Root® mediante un análisis con AFM<sup>32</sup>, por lo que los diferentes resultados obtenidos en este estudio al comparar Biodentine® con MTA-Angelus podrían deberse a las diferencias en la composición entre las diferentes marcas comerciales de MTA<sup>33</sup>.

Tabla 5. RESULTADOS DEL ANÁLISIS AFM

Muestra	Descripción y medida	Resultados	Figura
MTA - diente	Medida 1 zona (centro del MTA)	Histograma de rugosidades poco homogéneo, indicando una altura más frecuente en eje z de superficie comprendida entre (0.75-1.5) μm. Se calcula una rugosidad media de 0.31 μm. La medida fue realizada en un barrido de 10 μm en el eje x y fue complicado obtener una imagen nítida debido a grandes diferencias en superficie.	6 y 7
	Medida 2 zona Interfase MTA-Diente	No se pudo realizar la medida en esta zona por ser muy rugosa y heterogénea	--
	Medida 3 Centro del diente	Histograma de rugosidades homogéneo, con una altura más frecuente en eje z de superficie comprendida entre 250-325 nm, indicando superficie con poca rugosidad. Esto se verifica con la rugosidad media calculada en 82.6 nm. La medida fue realizada en un barrido de 15 μm en el eje x y no hubo complicaciones por ser superficie con rugosidad adecuada para este tipo de técnicas	8
Biodentine - diente	Medida 1 zona centro Biodentine	Histograma de rugosidades poco gaussiano, indicando una altura más frecuente en eje z de superficie comprendida entre (1-1.25) μm. Se calcula una rugosidad media de 0.32 μm. La medida fue realizada en un barrido de 15 μm en el eje x y fue complicado obtener una imagen nítida debido a grandes diferencias en superficie.	9
	Medida 2 zona interfase diente-biodentine	Se pudo conseguir imágenes y datos en esta zona con este producto, pero son imágenes poco nítidas y con muchos saltos debido a la gran rugosidad. Se calcula una rugosidad media de 0.6 μm. El histograma de rugosidades es bastante ancho, abarcando las alturas más frecuentes en el margen comprendido entre (1-2.5) μm.	10
	Medida 3 zona Centro diente	Mismo resultado que "Medida Centro del diente" en MTA	

Un aumento de la rugosidad de este tipo de materiales incrementa las propiedades de adhesión y crecimiento celular a través de las interacciones con la superficie<sup>34</sup>. Dado que tanto el MTA y como el Biodentine® son materiales bioactivos<sup>35</sup>, una mayor rugosidad topográfica supondría una mejor superficie para la adsorción proteínica y mejoraría la aposición celular. Sin embargo, una superficie más homogénea del material podría resultar en unas mejores propiedades mecánicas. Son necesarias más investigaciones para ofrecer una mejor comprensión de la importancia de la topografía de la superficie.

## CONCLUSIONES

En este estudio, se llevó a cabo un análisis físico-químico con SPME-GCMS y AFM en materiales endodónticos (MTA-Angelus® y Biodentine®) para comprender mejor las propiedades químicas y sus correspondientes ventajas e inconvenientes.



## BIBLIOGRAFÍA

- Lee S, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a Mineral Trioxide Aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod* 1993;19:541-4.
- Roberts HW, Toth J, Berzins D, Charlton D. Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: A review of the literature. *Dent Mater* 2008;24:149-64.
- Torabinejad M, White DJ. Tooth filling material and use. US Patent Number 5,769,639 A. 1998.
- Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review -- Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod* 2010;36:16-27.
- Camilleri J. Characterization and hydration kinetics of tricalcium silicate cement for use as a dental biomaterial. *Dent Mater* 2011;27:836-44.
- Malkondu Ö, Karapinar Kazandağ M, Kazanoğlu E. A review on biodentine, a contemporary dentine replacement and repair material. *Biomed Res Int* 2014;2014: Article ID 160951, 10 pages.
- Septodont®. Biodentine® scientific file. Available online at: [http://www.plandent.no/images/Marketing/Infosenter/Biodentine\\_Scientific\\_File\\_web\\_dokumentasjon.pdf](http://www.plandent.no/images/Marketing/Infosenter/Biodentine_Scientific_File_web_dokumentasjon.pdf) (último acceso enero 2016).
- Elnaghy AM. Influence of acidic environment on properties of biodentine and white mineral trioxide aggregate: a comparative study. *J Endod* 2014;40:953-7.
- Han L, Okiji T. Uptake of calcium and silicon released from calcium silicate-based endodontic materials into root canal dentine. *Int Endod J* 2011;44:1081-7.
- Camilleri J, Kralj P, Veber M, Sinagra E. Characterization and analyses of acid-extractable and leached trace elements in dental cements. *Int Endod J* 2012;45:737-43.
- Corral Nuñez CM, Bosomworth HJ, Field C, Whitworth JM, Valentine RA. Biodentine and mineral trioxide aggregate induce similar cellular responses in a fibroblast cell line. *J Endod* 2014;40:406-11.
- Luo Z, Li D, Kohli MR, Yu Q, Kim S, He WX. Effect of Biodentine™ on the proliferation, migration and adhesion of human dental pulp stem cells. *J Dent* 2014;42:490-7.
- Ravichandra PV, Vemisetty H, Deepthi K, Jayapada RS, Ramkiran D, Krishna M JN, Malathi G. Comparative evaluation of marginal adaptation of Biodentine (TM) and other commonly used root end filling materials - An in vitro study. *J Clin Diagn Res* 2014;8:243-5.
- Angelus® Science and Technology. MTA Angelus® Technical Profile. 2011. Available online at: [http://www.angelusdental.com/img/archivos/mta\\_technical\\_profile\\_download.pdf](http://www.angelusdental.com/img/archivos/mta_technical_profile_download.pdf) (último acceso enero 2016).
- Zhang Z, Pawlisygn J. Headspace solid phase microextraction. *Anal Chem* 1993;65:1843-1852.
- Vas G, Vékey K. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *J Mass Spectrom* 2004;39:233-254.
- Grote C, Pawlisygn J. Solid-phase microextraction for the analysis of human breath. *Anal Chem* 1997;69:587-96.
- González-Toledo E, Prat MD, Alpendurada MF. Solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography for the analysis of phenolic compounds in water. *J Chromatogr A* 2001;923:45-52.
- Liu Y, Jiang GB, Zhou QF, Yang KW. Headspace solid-phase microextraction of butyltin species in sediments and their gas chromatographic determination. *J Sep Sci* 2001;24:459-464.
- Binning G, Quate C.F. Atomic force microscope. *Phys Rev Lett* 1986;56:930-933.
- Butt H-J, Capella B, Kappl M. Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications. *Sur Sci Rep* 2005;59:1-152.
- Beyth N, Bahir R, Matalon S, Domb AJ, Weiss EI. Streptococcus mutans biofilm changes surface-topography of resin composites. *Dent Mater* 2008;24:732-6.
- Bahramian N, Atai M, Naimi-Jamal MR. Ultra-high-molecular-weight polyethylene fiber reinforced dental composites: Effect of fiber surface treatment on mechanical properties of the composites. *Dent Mater* 2015;3:1022-9.
- US NIH (National Institutes of Health Public Health Service). National Toxicology Pro-

- gram. Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of  $\alpha$ -methylstyrene (CAS NO. 98-83-9) in F344/N rats AND B6C3F1 mice (inhalation studies). 2007. Available online at: [http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt\\_rpts/tr543.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr543.pdf) (último acceso enero 2016).
25. Schlosser PM, Bale AS, Gibbons CF, Wilkins A, Cooper GS. Human health effects of dichloromethane: key findings and scientific issues. *Environ Health Perspect* 2015;123:114-9.
  26. EPA (U.S. Environmental Protection Agency). Toxicological review of dichloromethane (methylene chloride) (CAS No. 75-09-2) EPA/635/R-10/003F. Washington, 2011. Available online at: [http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris\\_documents/documents/toxreviews/0070tr.pdf](http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/0070tr.pdf) (último acceso enero 2016).
  27. Angelus®. Material safety data sheet MTA Angelus®. 2005. Available online at: <http://www.mta-angelus.de/Datensicherheitsblatt.pdf> (último acceso enero 2016).
  28. Septodont®. Material safety data Biodentine®. Available online at: [https://dvd-dental.com/media/attachments/MSDS\\_246S\\_BIODENTINE\\_POUDREES\\_02.2012\\_S.pdf](https://dvd-dental.com/media/attachments/MSDS_246S_BIODENTINE_POUDREES_02.2012_S.pdf) (último acceso enero 2016).
  29. Rogalewicz R, Voelkel A, Kownacki I. Application of HS-SPME in the determination of potentially toxic organic compounds emitted from resin-based dental materials. *J Environ Monit* 2006;8:377-83.
  30. Tillberg A, Järvholm B, Berglund A. Risks with dental materials. *Dent Mater* 2008;7:940-943.
  31. Setbon HM, Devaux J, Iserentant A, Leloup G, Leprince JG. Influence of composition on setting kinetics of new injectable and/or fast setting tricalcium silicate cements. *Dent Mater* 2014;30:1291-303.
  32. Atik GN, Villat C, Hallay F, Pradelle-Plasse N, Bonnet H, Moreau K, Colon P, Grosgeat B. In vitro biocompatibility of a dentine substitute cement on human MG63 osteoblasts cells: Biodentine™ versus MTA(®). *Int Endod J* 2014;47:1133-41.
  33. Song JS, Mante FK, Romanow WJ, Kim S. Chemical analysis of powder and set forms of Portland cement, gray ProRoot MTA, white ProRoot MTA, and gray MTA-Angelus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:809-15.
  34. Shi W, Mozumder MS, Zhang H, Zhu J, Perinpanayagam H. MTA-enriched nanocomposite TiO<sub>2</sub>-polymeric powder coatings support human mesenchymal cell attachment and growth. *Biomed Mater* 2012;7(5):055006.
  35. Camillery Dent Mat 2013 Camilleri J, Sorrentino F, Damidot D. Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA-Angelus. *Dent Mater* 2013;29:580-93.
  36. Yang X, Peppard T. Solid-phase microextraction for flavor analysis. *J Agric Food Chem* 1994;42:1925-1930.
  37. Zhang Z, Yang M.J, Pawliszyn J. Solid Phase Microextraction: A new solvent-free alternative for sample preparation. *Anal Chem* 1994;66:844-853.
  38. Koziel JA, Noah J, Pawliszyn J. Field sampling and determination of formaldehyde in indoor air with solid-phase microextraction and on-fiber derivatization. *Environ Sci Technol* 2001;35:1481-1486.
  39. Seker S, Elçin AE, Yumak T, Sinağ A, Elçin YM. In vitro cytotoxicity of hydrothermally synthesized ZnO nanoparticles on human periodontal ligament fibroblast and mouse dermal fibroblast cells. *Toxicol In Vitro* 2014;28:1349-58.
  40. Valois CR, Silva LP, Azevedo RB. Multiple autoclave cycles affect the surface of rotary nickel-titanium files: an atomic force microscopy study. *J Endod* 2008;34:859-62.
  41. IARC (International Agency of Research for Cancer). Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-112. 2015. Available online at: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/Classifications-GroupOrder.pdf> (último acceso 30 octubre 2015).
  42. INSHT (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo). Fichas Internacionales de Seguridad Química: Fenil propeno. Disponible en:<http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTécnicas/FISQ/Ficheros/701a800/nspn0732.pdf> (último acceso 30 octubre 2015).
  43. INSHT (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo). Fichas Internacionales de Seguridad Química. Diclorometano. Disponible en: <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTécnicas/FISQ/Ficheros/0a100/nspn0058.pdf> (último acceso 30 octubre 2015).
  44. Caldwell J, Lunn R. IARC (International Agency of Research for Cancer). Dichloromethane, methylene chloride (DCM). Available at: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Publications/techrep42/TR42-13.pdf> (último acceso 30 octubre 2015).
  45. IARC (International Agency of Research for Cancer). IARC MONOGRAPHS 1999, vol 7, p. 251-315. Available online at: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol71/mono71-10.pdf> (último acceso 30 octubre 2015).
  46. Ruíz ML. Estudio y resultados de la participación del Sector Cementero Español en el Inventario Nacional de Dioxinas y Furanos. 1ª Edición. Madrid: Centro de Investigaciones Energéticas Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT); 2000.
  47. Henriks-Eckerman ML, Kanerva L. Product analysis of acrylic resins compared to information given in material safety data sheets. *Contact Dermatitis* 1997;36:164-5.
  48. Kanerva L, Henriks-Eckerman ML, Jolanki R, Estlander T. Plastics/acrylics: material safety data sheets need to be improved. *Clin Dermatol* 1997;15:533-46.
  49. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Compuestos orgánicos volátiles. Disponible en: [http://www.magrama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/act-emis/compuestos\\_organicos\\_volatiles.aspx#](http://www.magrama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/act-emis/compuestos_organicos_volatiles.aspx#) (último acceso 30 octubre 2015).