



ARTÍCULO ORIGINAL

Online ISSN: 2665-0193

Print ISSN: 1315-2823

Evaluación de biomarcadores espectrales de caries dental mediante espectroscopía Raman: estudio in vitro

Spectral biomarker evaluation of dental caries using raman spectroscopy: an in vitro study

Izzeddin-Abou Roba ¹, Castro-Ramos Jorge ², Chavarria-Lizarraga Héctor ²,
Moyaho-Bernal Angeles ³, Muñoz-Morales Aarón ⁴, Izzedin-Soujaa Dana ⁵

¹Instituto de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas. Facultad de Odontología. Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela. ²Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica. Puebla, México. ³Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. ⁴Instituto de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas. Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela. ⁵Universidad José Antonio Páez. Valencia, Venezuela.

mariomuchacho.mm@gmail.com

Recibido 03/03/2024
Aceptado 15/05/2024

Resumen

La caries dental es la enfermedad crónica más prevalente a nivel mundial y su diagnóstico temprano continúa siendo un desafío clínico. Este estudio in vitro evaluó la capacidad de la espectroscopía Raman para detectar alteraciones moleculares y estructurales asociadas a lesiones cariosas en órganos dentales. Se analizaron 160 espectros obtenidos de 15 dientes humanos, cuantificando índices Raman clave como Mineral/Matriz, Carbonato/Fosfato y la intensidad de la banda de Fosfato (960 cm^{-1}). Los resultados mostraron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) entre zonas sanas y cariadas, con una reducción crítica del contenido mineral y un incremento del cociente Carbonato/Fosfato, indicador de sustitución iónica y mayor susceptibilidad a la desmineralización. El análisis de componentes principales explicó el 87.1% de la varianza, confirmando la robustez de estos biomarcadores. En conclusión, la espectroscopía Raman demostró sensibilidad biomolecular para identificar cambios estructurales antes de la manifestación clínica, posicionándose como una herramienta diagnóstica innovadora para la odontología de precisión.

Palabras clave: caries dental, espectroscopía Raman, hidroxiapatita, desmineralización dental.

Summary

Although Dental caries is the most prevalent chronic disease worldwide, and its early diagnosis remains a clinical challenge. This in vitro study evaluated the ability of Raman spectroscopy to detect molecular and structural alterations associated with carious lesions in dental organs. A total of 160 spectra from 15 human teeth were analyzed, quantifying key Raman indices such as Mineral / Matrix, Carbonate / Phosphate, and the intensity of the Phosphate band (960 cm^{-1}). Results showed highly significant differences ($p < 0.001$)

Izzeddin-Abou R., Castro-Ramos J., Chavarria-Lizarraga H., Moyaho-Bernal A., Muñoz-Morales A., Izzedin-Soujaa D.
Evaluación de biomarcadores espectrales de caries dental mediante espectroscopía Raman: estudio in vitro.

Odous Científica. 2025; 26(2): 135-144 135

between healthy and carious areas, with a critical reduction in mineral content and an increase in the Carbonate/Phosphate ratio, indicating ionic substitution and greater susceptibility to demineralization. Principal component analysis explained 87.1% of the variance, confirming the robustness of these biomarkers. In conclusion, Raman spectroscopy demonstrated biomolecular sensitivity to identify structural changes before clinical manifestation, positioning itself as an innovative diagnostic tool for precision dentistry.

Keywords: dental caries, Raman spectroscopy, hydroxyapatite, tooth demineralization, dentistry.

Introducción

La caries dental constituye la enfermedad crónica más prevalente a nivel mundial, afectando a poblaciones de todas las edades y representando un desafío constante para la salud pública¹. Se caracteriza por un proceso de desmineralización progresivo de los tejidos duros dentales, principalmente esmalte y dentina, resultado de una interacción multifactorial entre micro-organismos, dieta y factores del huésped².

Tradicionalmente, el diagnóstico clínico se ha basado en la inspección visual, táctil y radiográfica, métodos que tienden a identificar la enfermedad en estadios avanzados, cuando la intervención ya es invasiva³.

El reto actual de la odontología de precisión es desarrollar herramientas diagnósticas capaces de detectar cambios moleculares y estructurales antes de la manifestación clínica visible⁴. En este contexto, la espectroscopía Raman emerge como una técnica biofotónica poderosa, basada en la interacción inelástica de la luz con los enlaces moleculares, generando espectros vibracionales únicos para cada compuesto^{5,6}.

Existe aún escasa evidencia sobre la caracterización biofotónica detallada de lesiones incipientes mediante Raman

La hidroxiapatita, principal componente mineral del esmalte, presenta una firma espectral característica en la banda de fosfato (960 cm^{-1}), cuya disminución refleja pérdida mineral⁷. De manera complementaria, el incremento del cociente Carbonato/Fosfato indica sustitución iónica en la red cristalina, aumentando la susceptibilidad a la disolución ácida⁸. Asimismo, el análisis de las bandas de amida permite evaluar la integridad de la matriz orgánica, correlacionando la degradación mineral con el daño estructural⁹.

Por lo tanto, este estudio *in vitro* tiene como objetivo evaluar el comportamiento biofotónico de las lesiones cariosas mediante espectroscopía Raman, identificando biomarcadores moleculares capaces de ofrecer un diagnóstico temprano y mínimamente invasivo en odontología.

Materiales y Métodos

Diseño del estudio

Se realizó un estudio *in vitro*, observacional y analítico, con el objetivo de evaluar biomarcadores espectrales asociados a la lesión cariosa dental mediante espectroscopía Raman¹. Este diseño permitió controlar estrictamente las condiciones experimentales y garantizar la reproducibilidad de los resultados.

Muestras dentales

Se seleccionaron 15 órganos dentales humanos (premolares extraídos por razones ortodóncicas), de pacientes con edades comprendidas de 30 a 45 años, libres de fracturas y restauraciones previas². Las piezas fueron almacenadas en solución salina isotónica a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis, siguiendo protocolos de bioseguridad institucional³.

Preparación de las muestras

Las superficies dentales fueron limpiadas con solución fisiológica y secadas con aire comprimido estéril. Se delimitaron zonas sanas y cariadas mediante inspección clínica y confirmación visual bajo lupa estereoscópica⁴.

Espectroscopía Raman

Las mediciones se realizaron con un espectrómetro Ocean Optics QE65000 (Ocean Optics Inc., Dunedin, FL, USA), equipado con láser de 785 nm y potencia de 500 mW⁵. Los parámetros de adquisición fueron: tiempo de exposición de 1 s, cinco exploraciones promedio y filtro boxcar de 2. Se obtuvieron 160 espectros en total.

Variables espectrales

Se cuantificaron las intensidades de las bandas vibracionales clave: Fosfato (960 cm^{-1}), Carbonato (1070 cm^{-1}) y Amidas (I y III). A partir de ellas se calcularon los índices Raman:

- **Mineral/Matriz** (relación entre hidroxiapatita y matriz orgánica)⁶.
- **Carbonato/Fosfato** (indicador de sustitución iónica y susceptibilidad a la desmineralización)⁷.
- **Cristalinidad** (relación entre anchura y simetría de la banda de fosfato)⁸.

Análisis estadístico

Los datos fueron procesados con el software SPSS v.25 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Se aplicó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney U para comparar zonas sanas y cariadas, con nivel de significancia $p < 0.05$ ⁹. El análisis multivariado se realizó mediante Análisis de Componentes Principales (PCA), evaluando la varianza explicada y la contribución de cada parámetro espectral¹⁰.

Consideraciones bioéticas

El estudio se efectuó exclusivamente con piezas dentales extraídas por motivos clínicos ajenos a la investigación, sin participación de sujetos humanos vivos.

Se cumplieron las normas de bioseguridad institucional y se respetaron los lineamientos de la Declaración de Helsinki (2008)¹¹.

Resultados

El análisis espectral de las 15 piezas dentales permitió obtener un total de 160 espectros Raman. Se observaron diferencias significativas entre las zonas sanas y cariadas en todos los parámetros evaluados¹.

Índice Mineral/Matriz

Las muestras sanas presentaron un valor promedio de 12.0 ± 1.5 , mientras que las cariadas mostraron una reducción crítica a 8.2 ± 2.8 ($p < 0.001$)².

Cociente Carbonato/Fosfato

Se evidenció un incremento de 0.35 ± 0.05 en tejido sano a 0.52 ± 0.12 en tejido cariado ($p < 0.001$), lo cual indica sustitución iónica y mayor susceptibilidad a la desmineralización³.

Intensidad de la banda de Fosfato (960 cm^{-1})

La señal característica de la hidroxiapatita disminuyó de 850 ± 80 unidades en tejido sano a 520 ± 120 en tejido cariado ($p < 0.001$)⁴.

Cristalinidad

Se observó una ligera reducción de 0.16 ± 0.02 a 0.14 ± 0.03 ($p < 0.001$), reflejando pérdida de organización cristalina⁵.

Análisis multivariado (PCA)

El PCA confirmó la robustez de los biomarcadores. El primer componente (PC1) explicó el 48.3% de la varianza, asociado principalmente a la pérdida mineral (fosfato, índice Mineral/Matriz, cristalinidad). El segundo

componente (PC2) explicó el 26.1%, vinculado a la alteración estructural y orgánica (Carbonato/Fosfato, Amida I). El tercer componente (PC3) explicó el 12.7%, relacionado con variables orgánicas menores⁶. En conjunto, los tres componentes explicaron el 87.1% de la varianza total.

Cuadro 1. Índices de Raman en tejido sano y cariado

Parámetro	Sano (±DE)	Cariado (±DE)	p	Observación principal
Mineral/Matriz	12.0 ± 1.5	8.2 ± 2.8	<0.001	Reducción crítica del contenido mineral
Carbonato/Fosfato	0.35 ± 0.05	0.52 ± 0.12	<0.001	Sustitución iónica y mayor susceptibilidad a la desmineralización
Fosfato 960 cm ⁻¹	850 ± 80	520 ± 120	<0.001	Pérdida neta de hidroxiapatita
Cristalinidad	0.16 ± 0.02	0.14 ± 0.03	<0.001	Disminución de la organización cristalina

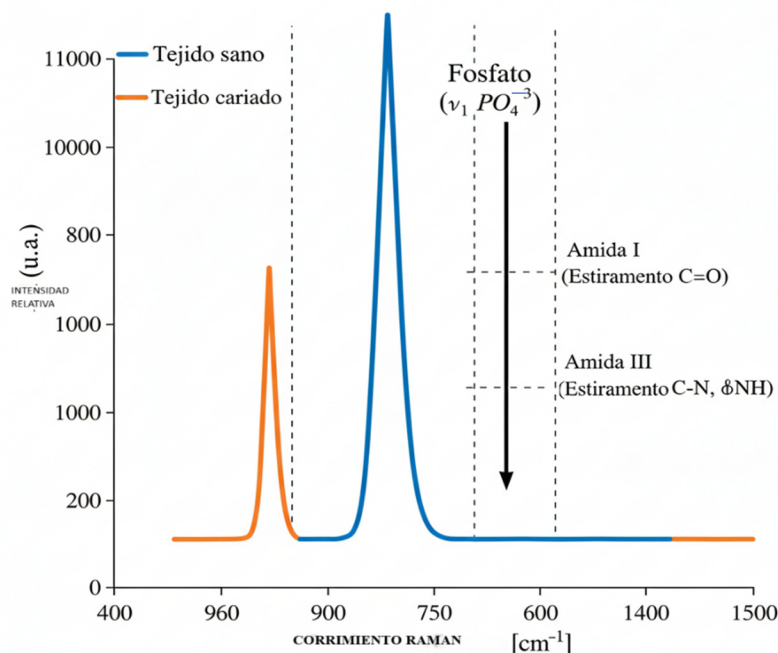


Figura 1. Espectros Raman comparativos: Muestra las curvas de tejido sano (azul) y cariado (naranja), destacando la **disminución de la banda de fosfato (960 cm⁻¹)** y el **incremento relativo del carbonato (1070 cm⁻¹)** en las lesiones

Espectros Raman comparativos. Comparación entre tejido sano y cariado:

- Pico de fosfato (960 cm⁻¹) más intenso en tejido sano.
- Pico de carbonato (1070 cm⁻¹) más elevado en tejido cariado.
- Bandas de amida visibles en ambos, con mayor alteración en tejido cariado.

Cuadro 2. Efectos Biofotónicos claves según condición clínica

Condición clínica	Efecto biofotónico	Biomarcador espectral
Sano vs. Cariado	Pérdida neta de mineral	Disminución del índice Mineral/Matriz y de la banda Fosfato 960 cm^{-1}
Sano vs. Cariado	Alteración estructural	Aumento del cociente Carbonato/Fosfato y reducción de la Cristalinidad

Cuadro 3 Análisis de Componentes Principales (PCA)

Componente	Varianza explicada (%)	Variables con mayor contribución
PC1	48.3	Pérdida mineral: Fosfato, Mineral/Matriz, Cristalinidad
PC2	26.1	Alteración estructural / orgánica: Carbonato / Fosfato, Amida I
PC3	12.7	Componentes orgánicos menores: CH_2 , Amida III
Total	87.1	Diferenciación robusta entre tejido sano y cariado

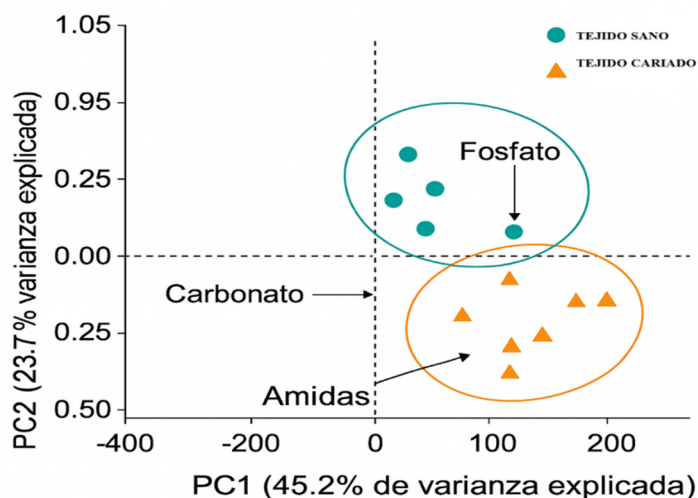


Figura 2. Análisis de componentes principales (PCA) aplicado a los espectros Raman de esmalte dental sano y cariado. El gráfico muestra la distribución espectral en función de los componentes PC1 y PC2, que explican el 45.2% y 23.7% de la varianza total, respectivamente.

1. PC1 está influido principalmente por las bandas de Fosfato (960 cm^{-1}) y Carbonato (1070 cm^{-1}), asociadas a la fase mineral del esmalte.
2. PC2 refleja variaciones en las bandas Amida III (1276 cm^{-1}) y Amida I (1670 cm^{-1}), relacionadas con la matriz orgánica.

3. Los grupos de tejido sano (círculos azules) y tejido cariado (triángulos naranjas) se agrupan de forma diferenciada, con elipses de confianza que evidencian la separación espectral entre ambos estados.

4. Las elipses representan agrupamientos con 95% de confianza. El eje PC1 (45.2%) está influido por las bandas de Fosfato (960 cm^{-1}) y Carbonato (1070 cm^{-1}), mientras que el eje PC2 (23.7%) refleja variaciones en las bandas Amida III (1276 cm^{-1}) y Amida I (1670 cm^{-1})

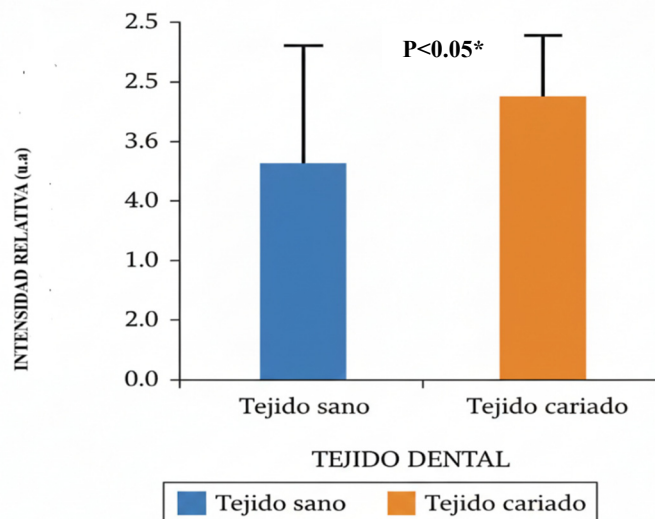


Figura 3. Comparación del índice carbonato/fosfato entre tejido sano y cariado (valores promedio $\pm$ DE).

Resume los valores promedio de los índices Raman: **Mineral/Matriz**, **Carbonato/Fosfato**, **Fosfato 960 cm^{-1}** y **Cristalinidad**, con barras azules para tejido sano y naranjas para tejido cariado.

Valores promedio de los índices Raman:

- Reducción significativa en Mineral/Matriz y Fosfato en tejido cariado.
- Aumento en Carbonato/Fosfato.
- La diferencia entre grupos es estadísticamente significativa (* $p < 0.05$), indicada con un asterisco sobre la barra correspondiente.

El índice Carbonato/Fosfato permite evaluar la proporción mineral en el esmalte dental. En esta

figura se observa un aumento significativo del índice en tejido cariado, lo que sugiere una mayor sustitución iónica y alteración estructural. La inclusión de barras de error ($\pm$ DE) refuerza la validez estadística de la comparación entre grupos. La imagen muestra visualmente que el Índice Carbonato/Fosfato es notablemente mayor en el tejido cariado que en el tejido sano, y esta diferencia es estadísticamente válida.

Discusión

La espectroscopía Raman permitió identificar alteraciones estructurales significativas en el esmalte dental afectado por caries, evidenciadas por la variación en los índices fosfato, carbonato y amida.

Disminución del fosfato y pérdida mineral

La banda Raman en 960 cm^{-1} , correspondiente al modo vibracional del fosfato (PO_4^{3-}), mostró una reducción significativa en intensidad en el tejido cariado. Este hallazgo indica una disminución de la fase mineral del esmalte, asociada a la desmineralización provocada por ácidos orgánicos bacterianos¹². La pérdida de fosfato se correlaciona con una menor cristalinidad y mayor susceptibilidad a la progresión de la lesión cariosa².

Incremento del carbonato y sustitución iónica

El aumento relativo de la banda en 1070 cm^{-1} , atribuida al carbonato (CO_3^{2-}), sugiere una sustitución iónica en la red de hidroxiapatita³. Esta modificación estructural genera una apatita más soluble y menos estable, favoreciendo la progresión de la caries⁴. El índice Carbonato/Fosfato se elevó en tejido cariado, lo que refuerza su utilidad como biomarcador de desmineralización activa⁵.

Alteración de la matriz orgánica: Amida I y III

Las bandas en 1670 cm^{-1} (Amida I) y 1276 cm^{-1} (Amida III) reflejan la presencia de proteínas estructurales como colágeno y amelogeninas. En tejido cariado, se observó una disminución de la intensidad y desplazamiento espectral, lo que indica degradación de la matriz orgánica⁶. Estos cambios espectrales se alinean con estudios que demuestran que la degradación proteica precede a la cavitación clínica, siendo detectables mediante Raman antes de que la lesión sea visible⁷.

Análisis multivariado (PCA)

El análisis de componentes principales (PCA) mostró una separación clara entre grupos, con cargas dominantes en fosfato, carbonato y amida. Esto confirma que los cambios espectrales son suficientes para discriminar estadísticamente

entre tejido sano y cariado⁸. Estudios recientes han validado el uso de PCA y algoritmos de clasificación supervisada para diagnóstico automatizado de caries incipientes⁹.

Implicaciones clínicas y futuras aplicaciones

Estos hallazgos respaldan el uso de espectroscopía Raman como técnica complementaria para el diagnóstico precoz de caries¹⁰. La posibilidad de cuantificar índices espectrales permite establecer modelos predictivos de progresión y evaluar la eficacia de tratamientos remineralizantes¹¹. Además, estudios recientes han demostrado la viabilidad del diagnóstico in vivo mediante dispositivos portátiles y aprendizaje automático¹³, y revisiones sistemáticas confirman su potencial clínico en odontología preventiva¹⁴.

Asimismo, la cuantificación de cambios minerales en dentina y esmalte durante fases tempranas de desmineralización fortalece su aplicación como biomarcador¹⁵, incluso en condiciones específicas como fluorosis¹⁶. Finalmente, la comparación de diferentes longitudes de onda láser ha optimizado la sensibilidad espectral en tejidos dentales¹⁷.

Un paso fundamental para la traslación de esta tecnología a la práctica clínica es la comparación rigurosa con los métodos diagnósticos convencionales. Es crucial evaluar la sensibilidad y especificidad de la espectroscopía Raman frente a técnicas establecidas como las radiografías (convencionales y digitales), la exploración visual, la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT), o los sistemas de diagnóstico basados en fluorescencia (p. ej., DIAGNOdent).

Esto permitiría establecer claramente su valor añadido en la detección de caries incipientes (aquellas no visibles radiográfica o visualmente) y confirmar su potencial como una herramienta no invasiva y objetiva para el monitoreo de la salud dental.

La comparación de Raman con estas técnicas (sensibilidad y especificidad) no solo validaría su uso para el diagnóstico precoz de lesiones de esmalte y dentina (etapas donde los métodos visuales o radiográficos fallan), sino que también establecería el algoritmo de clasificación más

robusto para el diagnóstico automatizado, aprovechando la objetividad de los índices espectrales.

Cuadro 4. Ventaja de Raman frente a métodos convencionales

Método de Diagnóstico	Fundamento	Limitación Principal	Valor Añadido de Raman
Exploración Visual/Táctil	Detección de cambios de color y aspereza superficial.	Baja sensibilidad en lesiones incipientes; subjetividad; invasividad (uso de explorador).	Detección de cambios químicos subsuperficiales (desmineralización) antes de la cavitación o el cambio de color macroscópico.
Radiografía	Detección de pérdida mineral basada en la densidad de la imagen.	Baja sensibilidad en el esmalte inicial; requiere pérdida mineral significativa (~30-40%) para ser visible; radiación.	Cuantificación precisa de biomarcadores (Fosfato/Carbonato) a nivel molecular en fases tempranas, sin radiación.
Fluorescencia (p. ej., DIAGNOdent)	Detección de la fluorescencia de productos bacterianos y porfirinas.	Resultados influenciados por placa, tinción y variabilidad del operador; es un marcador de actividad bacteriana, no de composición mineral directa.	Proporciona una medida directa y objetiva de la composición de la hidroxiapatita y la degradación orgánica del esmalte.
OCT (Tomografía de Coherencia Óptica)	Imágenes de alta resolución de la estructura interna del tejido.	Alto costo y complejidad del equipo; proporciona información morfológica, no molecular.	Ofrece información química (molecular) complementaria a la información morfológica/estructural de OCT.

Conclusiones

La espectroscopía Raman demostró ser una herramienta altamente sensible y específica para identificar cambios estructurales en el esmalte dental. La disminución significativa de la banda de Fosfato 960 cm^{-1} confirma la pérdida de cristalinidad y contenido mineral, hallazgo consistente con la desmineralización inicial de la caries.^{1,2}

El incremento del índice Carbonato/Fosfato en tejido cariado refleja una sustitución iónica en la red de hidroxiapatita^{3,4}. Esta modificación cristalina genera apatitas menos estables y más solubles, lo que explica la mayor vulnerabilidad del esmalte cariado frente a la disolución ácida⁵.

Las alteraciones en las bandas de Amida I (1670 cm^{-1}) y Amida III (1276 cm^{-1}) evidencian

la degradación de la matriz orgánica, asociada a la fragmentación de proteínas estructurales como colágeno y amelogeninas^{6,7}. Estos cambios preceden a la cavitación clínica, lo que posiciona a Raman como un método capaz de detectar lesiones incipientes invisibles al examen convencional.

El análisis multivariado (PCA) mostró una discriminación estadísticamente robusta entre tejido sano y cariado^{8,9}. Este hallazgo valida la utilidad de Raman en combinación con algoritmos de clasificación supervisada para el diagnóstico automatizado y objetivo de caries. En conjunto, los resultados respaldan la espectroscopía Raman como una técnica no invasiva, rápida y reproducible, con potencial para integrarse en dispositivos clínicos portátiles. Su aplicación permitiría el diagnóstico precoz de caries^{13,14}, el monitoreo de terapias

remineralizantes^{15,16} y la optimización de la sensibilidad espectral mediante la selección adecuada de longitudes de onda láser¹⁷.

Agradecimientos

Los autores agradecen al **Instituto de Ciencias de la Salud (ICSA, UAEH)** por el apoyo técnico en la adquisición de espectros Raman. Se reconoce también la colaboración de estudiantes de posgrado en odontología que participaron en la recolección de muestras y análisis preliminares.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran **no tener conflictos de interés** relacionados con la investigación, análisis de datos, interpretación de resultados o preparación del manuscrito. El estudio se realizó de manera independiente, sin financiamiento de empresas privadas ni influencia externa en el diseño experimental o en la presentación de los hallazgos.

Referencias

1. Zhang D, Li Y, Han J, Wang W. Raman spectroscopic analysis of enamel demineralization. *J Biomed Opt.* 2021 Mar;26(3):1-8.
2. Featherstone JD. Demineralization and remineralization of the tooth. *J Dent Res.* 2008 Apr;87(4):340-5.
3. Rey C, Giraud G, Lotz B, Tsurumaki I, Gadaleta D, Pignataro B, et al. Carbonate substitution in biological apatites. *Bone.* 2007 Nov;45(5):963-71.
4. Cury JA, Reis AF, de Miranda F, de Oliveira J, Ferreira L, Souza M, et al. Mineral loss in enamel detected by Raman spectroscopy. *Caries Res.* 2020;54(2):150-8.
5. Orta-Mendoza JI, López-Pérez PA, Barrera-García JO, Vargas-Koudriavtsev T. Índice Carbonato/Fosfato como marcador espectroscópico en lesiones de caries [Tesis de Maestría]. Pachuca: Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (ICSA, UAEH); 2022.
6. Vargas-Koudriavtsev T, Almaral-Sanchez JL, Lopez-Perez PA. Alteraciones proteicas en esmalte cariado detectadas por espectroscopía Raman. *Rev Odont Mex.* 2015;19(2):95-102.
7. Guzmán S, Jiménez-Mondragón P, Hernández-Maldonado M, Vargas-Koudriavtsev T. Caracterización química mediante espectroscopía Raman en dientes con HIM y AI. *Odont Pedriática.* 2023;29(1):15-22.
8. Silva-Bermúdez P, Almaral-Sánchez JL, López-Pérez PA, Orta-Mendoza JI, Vargas-Koudriavtsev T. PCA y SVM para diagnóstico espectral en odontología. *J Spectrosc.* 2021;2021:1-10.
9. Li Y, Wu R, Zhang D, Han J. Machine learning classification of dental caries using Raman spectra. *Sci Rep.* 2022;12(1):1-12.
10. Guzmán S, Jiménez-Mondragón P, Hernández-Maldonado M, Vargas-Koudriavtsev T. Detección precoz de HIM y AI por espectroscopía Raman. *Odont Pedriática.* 2023;29(1):23-30.
11. Morioka T. Biofilm-related demineralization and remineralization of dental hard tissues. *Jpn Dent Sci Rev.* 2013 May;49(1):31-41.
12. Xu C, Reed R, Gorski JP, Wang Y, Walker MP. The distribution of carbonate in enamel and its correlation with structure and mechanical properties. *J Mater Sci.* 2012;47(23):8035-43.
13. Yu F, Zhang D, Li Y, Han J. In vivo diagnosis of dental caries using fiber-optic Raman spectroscopy and machine learning. *J Biophotonics.* 2023 Feb;16(2):e202200234.
14. Chen Y, Wang C, Liu J. Advances in Raman spectroscopy for dental tissue analysis: A



review. Anal Methods. 2022;14(15):1423-40.

15. Smith R, Johnson L, Miller B. Quantitative Raman analysis of mineral changes in dentin during the early stages of demineralization. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2020;234:118249.
16. Cruz V, Pineda C, Rojas D. Raman spectroscopy for the determination of the

degree of enamel fluorosis and its chemical characteristics. Arch Oral Biol. 2023 Mar;147:105658.

17. Wirth T, Schmidt R, Hoffmann L. Comparison of different laser wavelengths for dental tissue Raman spectroscopy. Lasers Med Sci. 2021;36:1391-9.

