BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Ingeniería Química

Colegio de Ingeniería en Materiales

“Elaboración de una pasta dental con hidroxiapatita natural con diferente tamaño de partícula”

TESIS

Para obtener el grado de:

Licenciada en Ingeniería en Materiales

P R E S E N T A

Montserrat Cervantes Martínez

201826463

Director: Dr. Heriberto Hernández Cocoletzi

Co-Director: Dr. Efraín Rubio Rosas

Noviembre, 2024

BUAP

Oficio No. FIQ/AC/161/2024
Asunto: Registro de Tema de Tesis.

C. MONTSERRAT CERVANTES MARTÍNEZ
PASANTE DE LA LICENCIATURA EN
INGENIERÍA EN MATERIALES
P R E S E N T E:

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la **Licenciatura en Ingeniería en Materiales** cuyo título es el siguiente:

"Elaboración de una pasta dental con hidroxiapatita natural con diferente tamaño de particula"

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA

Director de Tesis: Dr. Heriberto Hernández Cocoletzi
Co-Director: Dr. Efraín Rubio Rosas

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **UNICAMENTE POR UN AÑO**.

A t e n t a m e n t e
"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"
H. Puebla de Z., a 19 de Agosto de 2024

Dra. Valeria Jordana González Coronel
Secretaria Académica

C.c.p. Director de Tesis: Dr. Heriberto Hernández Cocoletzi.
C.c.p. Co-Directora: Dr. Efraín Rubio Rosas
C.c.p. Archivo.

Facultad de Ingeniería Química
Av. San Claudio s/n, Col. San Manuel, Ciudad Universitaria, Puebla, Pue. C.P. 72590
01 (222) 229 55 00
Exts. 7250 y 7251

DEDICATORIA

Con todo mi corazón…

A mi papá Genaro Cervantes López por su apoyo y amor incondicional en toda mi vida, por las enseñanzas que me inculcó para creer siempre en mí y por cuidarme y nunca dejarme sola. Por brindarme todas las herramientas para lograr este sueño y enseñarme lo fuerte que debo ser ante cualquier situación. Por las largas platicas llenas de risas y alegrías que tuvimos. Viviré agradecida toda mi vida por el valor que me inculcó de perseguir y esforzarme por cumplir mis sueños.

A mi mamá Luz María Martínez Pérez porque con su bendición diaria a lo largo de mi vida, me protegió y me ayudó a estar en esta etapa de mi vida. Por brindarme amor incondicional, por estar siempre conmigo y protegerme ante cualquier situación, por ser el pilar de la familia, por apoyarme incondicionalmente y motivarme todos los días. Por alegrarme cuando lo necesito y demostrarme que ante cualquier situación siempre estará para mí.

A mi hermano Genaro Cervantes Martínez mi compañero incondicional, por ayudarme a seguir con este sueño, por esforzarte para que esto se hiciera realidad, por ayudarme en absolutamente todo, por ser quien siempre me escucha, me comprende, me cuida y me protege, por ser mi apoyo más grande en el mundo, por confiar en mí, por guiarme siempre y por ser un papá pequeño para mí.

Gracias infinitas a ustedes tres por cuidarme y motivarme todos los días de mi vida, por darme todo para seguir con este sueño, por ser mi motor en la vida y ayudarme a superar cada dificultad.

Los amo por siempre.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento principalmente a Dios por ayudarme y permitir que este sueño se hiciera realidad.

Al Dr. Heriberto y a la Dra. Eva por su confianza y apoyo para la realización de la tesis, por darme la oportunidad de estar en su equipo para aprender de ellos. Y por brindarme su apoyo a lo largo de este proyecto. Así como al Dr. Efraín y al Dr. Miguel Ángel por su apoyo, comprensión y consejos para la mejora de este proyecto.

A la Benemérita Universidad Autónoma De Puebla por recibirme y ayudarme a formarme profesionalmente.

Al Centro Universitario de Vinculación (CUV) especialmente al Dr. Gerardo Landeta Cortés por sus asesoría, apoyo, dedicación y paciencia para instruirme.

A los profesores que me inculcaron valores y conocimientos en mi etapa escolar.

A mis papás Genaro y Luz María y a mi hermano Genaro por brindarme las herramientas necesarias y motivarme día a día para poder concluir esta etapa tan importante en mi vida.

A mi abuelita Juanita, a mi primo Oswaldo y a mi sobrino José Mauricio por su apoyo y cariño en toda mi vida y por ser una de mis motivaciones diarias.

A mi Tío Juan José Martínez Pérez por ser el mejor tío del universo, por cuidarme siempre, por su amor incondicional tan sincero y puro, por estar cuando más lo necesitaba, y ver siempre por mi bienestar, gracias por todo.

A mi Tío Enrique Hernández López por su amor sincero, por estar conmigo siempre que lo necesitaba, por todos los momentos de risas y diversión que pasamos juntos.

Al Sr. Juan Pablo Ruiz Tovar por ser una persona extraordinaria y por brindarme su amistad y brindarme a mí y a mi familia apoyo incondicional en la etapa más difícil de mi vida.

A mi madrina María del Rosario Arellano Díaz por ser la persona que me apoya y esta para mí en momentos difíciles, por escucharme y brindarme amor sincero, por ser uno de los apoyos más grandes de mi vida.

A Federico Manuel Reyes Cruz por ser la persona más bonita que me dio la universidad, por estar conmigo en todo momento y apoyarme siempre. Por convertirse en un ángel para mí y en una de las personas más importantes en mi vida Por hacerme la estancia en la universidad mucho más feliz por su compañía.

A Omar Alberto Muñoz Alfaro por ser un gran ejemplo de perseverancia, esfuerzo, dedicación y motivación para trabajar y cumplir mis sueños.

A mis amigos de la facultad, José, Dany y Cuaya por convertirse en mi familia. Por su apoyo y alegrías durante toda la carrera.

Al Sr. Jorge López Ortiz y a la Sra. Ángeles Moreno Amable por brindarme apoyo, amistad y cariño durante mi vida.

Y por último a Tayter por ser el amigo peludito más fiel del mundo, por darme tantas alegrías, por acompañarme durante mis clases en línea y en mis desveladas por tareas.

ÍNDICE

DEDICATORIA 2
AGRADECIMIENTOS 3
ÍNDICE 5
ABREVIATURAS 7
RESUMEN 8
INTRODUCCIÓN 9
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES 11
1.1 Residuos 11
1.2 Hidroxiapatita 12
1.3 Hidroxiapatita sintética 13
1.4 Aplicaciones de HAp 14
1.5 Reducción de tamaño de partícula 14
1.6 Reducción de tamaño de partícula por medio de ultrasonido 15
1.7 Quitosano Qs 16
1.8 Aplicaciones del Qs 16
1.9 Efectos en salud bucal 17
1.10 Estructura del diente 17
1.11 Desmineralización dental 18
1.13 Pasta dental 20
1.14 Composición de pastas dentales 21
1.15 Materiales inocuos 22
CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA 25
2.1 Obtención de hidroxiapatita natural 25
2.1.1 Recolección de endoesqueletos de pescado Gerreidae (pescado mojarra) 25
2.1.2 Tratamiento térmico 26
2.2 Caracterización de la hidroxiapatita 27
2.2.1 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR): 27
2.2.2 Difracción de rayos X (DRX) 27
2.2.3 Microscopia electrónica de barrido (SEM) 28

2.2 Reducción de tamaño de partícula 29
2.3 Elaboración de pasta dental 30
2.4 Evaluación de calidad de la pasta dental bajo la norma mexicana NMX-K-539-NYCE-2020 para dentífricos. 31
2.4.1 Determinación de abrasión 32
2.4.2 Determinación de consistencia 33
2.4.3 Determinación de pH 34
2.4.4 Determinación de microorganismos 35
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 37
3.1 Hidroxiapatita natural obtenida de una fuente natural (pescado *Gerreidae*) 37
3.2 Caracterización de la hidroxiapatita natural 38
3.2.1 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) 38
3.2.2 Difracción de rayos X (DRX) 39
3.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM) 41
3.2.4 Analisis elemental (EDS) 44
3.3 Evaluación de la calidad de la pasta dental 45
3.3.1 Determinación de abrasión 45
3.3.2 Determinación de consistencia 47
3.3.3 Determinación de pH 49
3.3.4 Determinación de microorganismos 50
CONCLUSIONES 52
BIBLIOGRAFÍA 53
ANEXOS 60

ABREVIATURAS

HAp: Hidroxiapatita

SEM: Microscopia electrónica de barrido

DRX: Difracción de rayos x

FTIR: Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier

SEM: Microscopio electrónico de barrido

EDS: Análisis elemental

M2 M0: Muestra de hidroxiapatita sin tratamiento ultrasonido

M2 M1: Muestra de hidroxiapatita con 30 minutos de ultrasonido

M2 M2: Muestra de hidroxiapatita con 45 minutos de ultrasonido

M2 M3: Muestra de hidroxiapatita con 60 minutos de ultrasonido

M2 M4: Muestra de hidroxiapatita con 75 minutos de ultrasonido

M2 M5: Muestra de hidroxiapatita con 90 minutos de ultrasonido

PD-0: Pasta dental adicionada con hidroxiapatita sin sonicación

PD-1: Pasta dental adicionada con hidroxiapatita sonicada 30 minutos

PD-2: Pasta dental adicionada con hidroxiapatita sonicada 45 minutos

PD-3: Pasta dental adicionada con hidroxiapatita sonicada 60 minutos

PD-4: Pasta dental adicionada con hidroxiapatita sonicada 75 minutos

PD-5: Pasta dental adicionada con hidroxiapatita sonicada 90 minutos

RSU: Residuos sólidos urbanos

Quitosano: Qs

TEM: Microscopia electrónica de transmisión

OMS: Organización mundial de la salud

MRS Agar: Man. Rogosa y sharpe

RESUMEN

El desarrollo de diferentes biomateriales en la actualidad ha sido de mayor importancia para aplicaciones médicas. El objetivo del presente estudio fue la elaboración de una pasta dental basada en Hidroxiapatita (HAp) obtenida de una fuente natural (pescado *Gerreidae*); se utilizó diferente tamaño de partícula, adicionando quitosano como agente antimicrobiano. La HAp se obtuvo empleando el método de calcinación a partir de los huesos de pescado. Se utilizó ultrasonido para reducir el tamaño de partícula, considerando los tiempos de sonicación: 30, 45, 60, 75 y 90 minutos. Cada muestra fue caracterizada utilizando espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos x (DRX) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Conforme el tiempo de sonicación aumentó, el tamaño de partícula disminuyó, de 39 um a 247 nm. Con la HAp obtenida se prepararon muestras de pasta dental utilizando el método en caliente; a todas ellas se les aplicó la norma oficial mexicana NMX-K-539-NYCE-2020 para dentífricos. La pasta con mejor desempeño fue aquella obtenida con tamaño de partícula de 247 nm; teniendo un pH de 8.63, en la abrasión perdió únicamente 0.02 g y tuvo el mínimo de raspadura (<1 mm) por último se obtuvo una consistencia de 38 mm cumpliendo exitosamente la norma antes mencionada. Tanto el método como los reactivos utilizados en la preparación de la pasta son de bajo costo, por lo tanto, se espera que comercialmente sea accesible a mayor población.

INTRODUCCIÓN

Los residuos generados en México y en todo el mundo en la actualidad han incrementado debido al aumento en la población, este es un factor que influye en la cantidad y los tipos de residuos que son generados diariamente. Se han realizado diferentes estudios sobre el manejo de los residuos en México enfocando principalmente zonas urbanas para determinar su manejo, debido a que es una problemática que se enfrenta día a día [1].

La pesca es una producción con mayor impacto en el mundo; sin embargo, cada año se genera una cantidad considerable de residuos, se estima que del 100% de pescado procesado alrededor del 65% son residuos, entre ellos se encuentran, aletas, esqueletos, cabezas, piel y viseras, por lo tanto, la cantidad de residuos generados es una cantidad considerable. Todos estos residuos han despertado un gran interés de investigación debido a que pueden ser utilizados para convertirlos en materiales útiles con diversas aplicaciones [2]. De los residuos de la pesca el esqueleto de pescado ha despertado mayor interés de investigación debido a que se puede recuperar HAp de él [3,4].

La HAp es la parte mineral inorgánica del hueso, así como de los dientes, compuesta por fosfato de calcio y un grupo hidroxilo con una relación molar de calcio y fósforo (Ca/P) de 1.67. La HAp es un material biocompatible que no presenta toxicidad, además de presentar propiedades osteoconductivas lo que lo hace un excelente material para diferentes aplicaciones médicas, especialmente en la reparación de tejidos duros. La HAp estequiométrica ha demostrado ser más eficaz en aplicaciones ortopédicas y dentales para la regeneración ósea [5,6,7,8,9].

Diferentes estudios han comprobado que la HAp natural es un excelente material remineralizante en los dientes debido a sus características similares a las del tejido duro, ha sido aplicada en pastas dentales con el objetivo de que el cepillado diario con este material proporcione que la HAp mejore la salud bucal previniendo caries [10]. La empresa SANGI Co fue la primera empresa que comercializó una pasta dental con HAp sintética obteniendo efectos remineralizantes en los dientes, logrando mejorar la salud bucal de los usuarios [11].

El tamaño de partícula es una característica importante en una pasta dental, debido a que partículas grandes pueden ocasionar daño en el esmalte dental. Es bien sabido que el tamaño en escalas menores de materiales permite un amplio campo de aplicaciones, el tamaño a menor escala demuestra mejores propiedades físicas, químicas y biológicas a diferencia de materiales con tamaños de partículas mayores. Las partículas de menor tamaño poseen mayor superficie por unidad de volumen, por lo tanto, tienen mayor reactividad y mejores resultados [12].

Existen diferentes métodos para la reducción del tamaño de partículas; sin embargo, la mayoría utiliza reactivos que generan residuos y otras opciones utilizan fuertes fuentes de energías, por lo tanto, una alternativa más amigable es el ultrasonido, debido a que es altamente efectivo sin generar residuos o fuertes fuentes de energía [13,14].

Debido a las excelentes propiedades de la HAp natural y a la influencia que tiene el tamaño de partícula en este tipo de aplicación, el objetivo principal de la presente investigación consistió en el uso de un equipo ultrasónico con muestras de HAp natural obtenida de endoesqueletos de pescado *Gerreidae* (mojarra) a diferentes tiempos, debido a que el ultrasonido ha demostrado ser altamente efectivo para reducir el tamaño de partícula y con esto obtener diferentes tamaños de partícula. Posteriormente todas las muestras fueron utilizadas en la elaboración de las pastas dentales y finalmente se evaluó la eficiencia de cada una bajo la norma mexicana **NMX-K-539-NYCE-2020** para dentífricos. Especialmente la prueba para determinar abrasión nos proporcionó los resultados del objetivo general, debido a que nos demostró que la muestra sonicada durante más tiempo (90 minutos) obtuvo el tamaño de partícula más pequeño (247 nm), lo que hizo que tuviera mejor resultado sobre la norma.

En el capítulo 1 se describe información sobre los temas relacionados a la presente investigación, iniciando con la problemática de los residuos generados diariamente en México y la importancia que tienen los residuos de pescado para investigación y obtención de otros materiales como es la HAp, para implementación en el presente trabajo de investigación, además de la importancia y propiedades del Qs que actuó como agente antimicrobiano, sustituyendo al Flúor.

Posteriormente se describen las bondades de la HAp natural debido a su biocompatibilidad y su impacto en la implementación en diferentes tratamientos médicos, especialmente odontológicos, esto debido a su efecto remineralizante en el esmalte dental. Finalmente se presenta la importancia de la pasta dental en el uso diario y el impacto de una pasta dental adicionada con HAp natural.

En el capítulo 2 se presenta la metodología que se llevó a cabo para el cumplimiento de todos los objetivos del presente trabajo. Iniciando con la obtención de HAp natural y su reducción de tamaño de partícula, seguido de su caracterización mediante FTIR, DRX y SEM para comprobar su composición química y determinar los diferentes tamaños obtenidos de las muestras. También se describe la metodología que se llevó a cabo para la elaboración de las pastas dentales implementando el Qs y la HAp, finalmente se describen las normas a las que fueron sometidas las pastas dentales comprobando su seguridad para los usuarios con el correcto cumplimiento de la norma mexicana **NMX-K-539-NYCE-2020** para dentífricos.

En el capítulo 3 se presentan los resultados obtenidos de la metodología llevada a cabo en todo el capítulo 2, respecto a la obtención del material principal de la investigación, su caracterización y la reducción del tamaño de partícula mediante ultrasonido, posteriormente se describen los resultados obtenidos de la elaboración de las pastas dentales y de las pruebas de calidad bajo norma. Llevando a cabo una descripción y análisis de los resultados correspondientes. Finalmente se concluye el trabajo con observaciones y conclusiones del trabajo llevado a cabo.

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Residuos

En la actualidad en todo el mundo se enfrentan diferentes problemáticas consecuencia del aumento de la población, debido a que esto provoca el incremento de los residuos, siendo una problemática no solo por las enormes cantidades que se generan diariamente, sino también por la diversidad de todos los residuos. Influyendo significativamente la comercialización de productos que tienen un tiempo de vida corto, por lo que son reemplazados rápidamente, generando una alta cantidad de residuos [15].

El incremento de los residuos genera la extinción de los recursos naturales, provocando la alteración de ecosistemas y por consecuencia la pérdida de biodiversidad, debido a que se generan cambios en el suelo, contaminación atmosférica y del agua, además generando calentamiento global [15].

En México se generan dos tipos de residuos al día: residuos de manejo especial controlados en los que involucran residuos de hospitales, laboratorios, transporte aéreo y terrestre, generando 401 toneladas, y residuos sólidos urbanos (RSU) que son generados por domicilios, comercios, entre otros establecimientos, generando 12,748 toneladas. Dentro de los RSU un 53.2% son residuos inorgánicos y un 46.8% residuos orgánicos [15].

En la fracción orgánica los residuos de alimentos representan el 34.87% debido a que un tercio de los alimentos elaborados se desechan, equivalente a 28 millones de toneladas de alimentos. Los residuos se generan en el proceso de producción almacenamiento, transporte, distribución y consumo final [15]. Actualmente se producen 70 millones de toneladas de pescado procesado al año; sin embargo, el 65% de las toneladas son residuos generados [16].

Dentro de los residuos pesqueros se encuentran cabezas, espinas, vísceras, agallas, músculo oscuro, aletas y piel, lo que ha despertado un gran interés para su aprovechamiento, debido a la importancia económica, social y ambiental. Estos residuos con debidos tratamientos pueden ser una fuente importante de diferentes materiales que pueden ser utilizados para crear diversos productos [17].

La separación y la recolección de residuos es una etapa de suma importancia dentro del manejo integral para el aprovechamiento de los diferentes residuos, además del aprovechamiento de ellos, debido a que se genera una disminución en la contaminación provocada por su generación. La separación de residuos de comida ha sido una actividad beneficiosa, debido a que si se someten a tratamientos indicados y específicos se pueden obtener materiales con excelentes propiedades y con grandes aplicaciones en diferentes ámbitos [15].

Existen diferentes materiales que se pueden obtener de residuos orgánicos derivados de comida, tal es el caso de la HAp y el Qs que se pueden recuperar de residuos del esqueleto de pescado, así como de los exoesqueletos de los crustáceos [18].

1.2 Hidroxiapatita

La HAp de fórmula química ($CA_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) es un material con una alta biocompatibilidad aplicada en diferentes tratamientos médicos especialmente en tratamientos odontológicos. Es un biocristal formado por átomos de calcio, fósforo e hidrogeno, es el principal compuesto de huesos y dientes lo que les aporta dureza y que en conjunto de colágena también aporta determinada elasticidad [19]. Presenta propiedades como bioactividad, no toxicidad, estabilidad química, osteoconducción y biocompatibilidad [18]. La HAp se puede encontrar en diferentes fuentes naturales, como es en los exoesqueletos de la estrella de mar, corales marinos, esqueletos de vertebrados, además del esmalte dental y la dentina de los dientes [19].

Las propiedades y aplicaciones dependen de la composición química, cristalinidad, tamaño y morfología de los cristales. La HAp microestructurada y nanoestructurada tienen diferencias que influyen en la eficiencia de su uso, la HAp microestructurada presenta baja resistencia mecánica, además de una baja capacidad de carga y de osteoconducción. La HAp nanoestructurada presenta más beneficios y mejores propiedades, como es mayor bioactividad, mejorando la adhesión promoviendo cicatrización ósea entre otras más [9].

La HAp es un material que tiene diferentes propiedades; sin embargo, la composición química, cristalinidad, tamaño y morfología de los cristales son características que influyen significativamente dependiendo su aplicación [5].

Tabla 1. Datos cristalográficos de la HAp tomado de Inorganic Material Database (AtomWork).

Datos cristalográficos	
Fórmula Química	$Ca_5(PO_4)_3(OH)$
Símbolo Pearson	hP44
Grupo Espacial	P63/m
No.	176
Parámetros de Celda	A=0,9417 nm, b=0,9417 nm, c=0,6877 nm, α= 90°, β= 90°, γ=120°
Volumen de la Celda	0,5281 nm3
Densidad de la Celda (Calculado)	3,16 Mgm-3
Z	2

Las propiedades de la HAp pueden llegar a depender en base a varios factores, como es la fuente de la que se obtiene (endoesqueletos, conchas o crustáceos y huesos), métodos de obtención

(calcinación, método hidrotermal, molienda/calcinación) y la temperatura a la que es tratada (400-1200°C) [18,19].

En la *fig 1* se observa la estructura química de la HAp presentando 10 iones de calcio, 6 grupos fosfatos y 2 grupos hidroxilo.

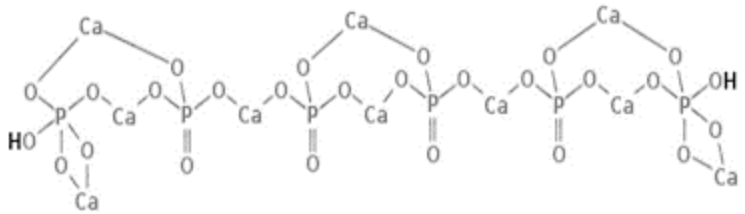


Fig 1. Estructura química de la hidroxiapatita [20].

La HAp se ha estudiado debido a sus excelentes propiedades, se han realizado diferentes estudios para su implementación en diferentes tratamientos médicos. A principios del siglo XX se realizaron estudios en búsqueda de biomateriales para solución de diferentes problemáticas, lo que hace que la HAp es uno de los materiales más importantes y con mayor estudio [21].

1.3 Hidroxiapatita sintética

Su obtención a nivel laboratorio se ha investigado en los últimos años, teniendo la ventaja de poder controlar la estequiometría mejorando sus propiedades, lo que la hace aún más un excelente biomaterial [22].

La HAp obtenida de manera sintética a partir de precursores químicos logran obtener la composición química de la HAp; sin embargo, presenta una menor cristalinidad. La relación molar Ca/P son aproximadamente a 1.60 obteniendo deficiencia de calcio provocando que no exhiben las capacidades bioactivas y de osteointegración, una característica de la HAp [23].

Tabla 2. Métodos de obtención de hidroxiapatita sintética [24]

Método	Reactivos	Rendimiento %	Tiempo	Impurezas	Control de pH
Precipitación (vía húmeda)	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$ $(NH_4)_2HPO_4$ NH_4OH	30	36 h	No	>11
Precipitación (vía húmeda)	H_3PO_4 $Ca(OH)_2$	18	30 h	Si	>11
Sinterización en estado sólido	$Ca(OH)_2$ (P_2O_5)	>80	30 h	Si	No

- Rendimiento: gramo obtenido de HAp por cada 100 gramos de reactivos
- Impurezas: determinada por DRX [24].

1.4 Aplicaciones de HAp

La HAp ha demostrado que es un excelente biomaterial, con aplicaciones en diferentes tratamientos médicos especialmente en odontología y cirugías maxilofaciales esto debido a que es el mayor componente inorgánico del hueso. La HAp se ha utilizado en diferentes tratamientos; sin embargo, para una aplicación especifica la HAp necesita contar con ciertas características [24,25].

En el campo médico la HAp es un biomaterial utilizado con excelentes resultados, actualmente uno de sus usos es la implementación en impresiones 3D de estructuras biodegradables y bioadsorbibles, que son colocadas en partes afectadas de huesos promoviendo la regeneración del tejido óseo y debido a que es un material biodegradable y bioadsorbible no es necesario retirar la pieza colocada [19].

Actualmente se han realizado estudios que reportan HAp dopada con diferentes elementos como el europio (Eu), gadolinio (Gd), con el fin de ser conductores de fármacos, liberándolos controladamente [19].

La HAp en odontología tiene un amplio campo de aplicaciones debido a sus excelentes propiedades. La HAp tiene un amplio interés en la prevención de caries, debido a que es un excelente biomaterial remineralizante en el esmalte dental afectado. Las caries dañan el esmalte dental y provoca la pérdida de iones minerales, por ello la HAp en fisuras provocadas por las caries actúa como portador de iones minerales perdidos [22].

La HAp ha demostrado ser un material ideal en la fabricación de resinas debido a que es un material no tóxico y biocompatible, además por su capacidad de adherencia a las fibras de colágeno, debido a que favorece que la resina se fije en el diente aumentando su dureza [19].

El uso de la HAp es general, no solo en el campo de la medicina, por ello, se ha utilizado también en la adsorción de metales pesados como plomo (Pb), cadmio (Cd), níquel (Ni), mercurio (Hg), entre otros, incluso también ha sido utilizada como material fotocatalizador [18,19].

1.5 Reducción de tamaño de partícula

La reducción del tamaño de partícula es un procedimiento con mayor impacto en diferentes industrias, como la industria farmacéutica, alimentaria, química y de materiales. La reducción del tamaño de partícula en las industrias es con el propósito de resaltar las propiedades de los materiales a los que se le realizará el proceso, como tener una mayor área superficial, también pueden facilitar la mezcla y envasado en diferentes procesos, y en la industria farmacéutica tiene mayor impacto, debido a que el tamaño de partícula mejora la biodisponibilidad de un fármaco [26,27,28,29].

Existen diferentes métodos para la reducción del tamaño de partícula, alguno de ellos es [26,27,28,29]:

- Molienda mecánica por alta energía

- Ultrasonido
- Métodos químicos

1.6 Reducción de tamaño de partícula por medio de ultrasonido

El uso de baño ultrasónico es una técnica que utiliza ondas ultrasónicas de alta frecuencia para agitar y romper partículas en una solución. Al desaglomerar las partículas el ultrasonido logra exitosamente reducir el tamaño de partícula [30,31].

El uso de ultrasonido para la reducción de tamaño de partícula ha resultado altamente efectivo sobre otros métodos; debido a que es un proceso que se desarrolla homogéneamente, no requiere productos químicos que posteriormente del proceso generarían residuos, además es un proceso ahorrador de consumo energético y de tiempo, debido a que se puede controlar el tamaño de partícula dependiendo del tiempo y la intensidad con lo que se realice, por último, el proceso de ultrasonido se puede aplicar a volúmenes de diferentes magnitudes, con resultados favorecedores [30].

El proceso de ultrasonido favorece a la homogenización de las muestras, además influye significativamente en la morfología de las muestras y contribuye a la formación de nanoestructuras [31].

El ultrasonido se ha utilizado en diversas aplicaciones químicas de materiales, se utiliza en síntesis y modificaciones de materiales orgánicos e inorgánicos. El ultrasonido genera diferentes cambios físicos en los materiales, como la dispersión de rellenos, la encapsulación de partículas y el más relevante, la modificación del tamaño de las partículas, provocando por medio de la desaglomeración una disminución del tamaño [32].

En estudios anteriores, se ha demostrado la efectividad de la síntesis de nanopartículas de un material mineral (hematita) por medio de ultrasonido, como fue el caso de Berrones, M. D. L. Á., & Lascano, L. (2009), donde la muestra fue calcinada a 500°C y posteriormente se realizó la determinación del tamaño de partícula, obteniendo un tamaño inicial de 10 um. Posteriormente se realizó la sonicación con tiempos de 15 y 25 minutos, registrando un tamaño de partícula de 163.2 nm con la sonicación de 15 minutos y de 103.0 nm con 25 minutos de sonicación, demostrando la alta efectividad del ultrasonido para la disminución del tamaño de partícula [33].

El uso del ultrasonido también ha sido utilizado para la síntesis de nanopartículas de HAp como fue el caso de Carrillo-González, R. (2018), donde se obtuvieron resultados favorables, teniendo un tamaño de partícula inicial de 8.092 um, posteriormente la muestra se sometió a sonicación durante 30 minutos para disgregar los conglomerados y reducir el tamaño de partícula, finalmente registraron un tamaño de partícula de 85 nm, demostrando nuevamente que el uso de ultrasonido es altamente efectivo para reducir el tamaño de partícula de HAp [12].

1.7 Quitosano Qs

El Qs es un biopolímero natural y es conocido por ser el segundo más abundante en la naturaleza, es un material de bajo costo de obtención debido a que se puede obtener de exoesqueletos de crustáceos como es el camarón, puesto que tienen una alta concentración de quitina, de la cual por medio de un proceso químico se obtiene el Qs [34]. El Qs es un material que contiene excelentes propiedades como biocompatibilidad, biodegradabilidad, no es tóxico y es un material que actúa como agente antimicrobiano [35].

El Qs tiene diversas aplicaciones gracias a sus propiedades, como en la alimentación, medicina, cosmética, entre otros [34]. Además, se ha comprobado que el efecto antimicrobiano actúa contra diferentes microorganismos como algunas bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y algunos hongos. En la rama de la medicina ha demostrado ser un excelente biomaterial, debido a que ha presentado efecto hemostático, cicatrizante de heridas, bioadhesivo (gracias a su estructura porosa), incluso un efecto relevante del Qs que se ha demostrado es que en conjunto con HAp poseen capacidades remineralizantes mediante la nucleación de cristales de calcio y fosfato, esto con aplicaciones médicas [35,36,37].

Existen diversos métodos para la obtención de este biopolímero; sin embargo, tiene variaciones en base a ciertas características, como el grado de desacetilación, tamaño de la cadena polimérica, purificación y concentración [34].

1.8 Aplicaciones del Qs

El Qs tiene un amplio campo de aplicaciones en diferentes industrias, en la industria alimentaria se ha empleado Qs para la elaboración de películas para envasado y conservación de alimentos [38]. En la industria cosmética se ha implementado en diferentes productos debido a sus funciones antioxidantes, limpiadoras, protectoras y humectantes, especialmente se ha empleado en la elaboración de cremas faciales esto con el objetivo de mejorar la apariencia de la piel brindándole nutrientes y vitaminas [39]. El Qs también se ha utilizado como coagulante y floculante en el tratamiento de aguas residuales [40].

Una de las aplicaciones con mayor investigación y con mayores resultados favorecedores es la medicina, el Qs ha sido implementado en diferentes tratamientos en medicina general y en odontología. Se ha utilizado para la cicatrización en la piel de pacientes con diferentes afectaciones, como son las ulceras diabéticas, laceraciones, quemaduras incluso con acné, obteniendo resultados altamente efectivos [41].

Como ya se mencionó el Qs posee actividad antimicrobiana y esto se debe a la presencia de un grupo amino con carga positiva a pH inferior a 6.3 (carbono 2) lo que hace que sea un pH ácido, haciendo que interactúe con las cargas negativas de la pared celular de los microorganismos, ocasionando un rompimiento o lisis de estas estructuras, lo que lleva a la pérdida de compuestos proteicos y otros constituyentes intracelulares [42].

1.9 Efectos en salud bucal

En odontología también tiene un extenso campo de aplicaciones, se ha empleado en conjunto con HAp para la elaboración de membranas con el fin de regenerar el tejido óseo [43]. Se ha demostrado que el Qs junto con HAp son excelentes materiales remineralizantes de dientes, y aplicados mediante una pasta dental el Qs además de que actúa como agente antimicrobiano y como cicatrizante en lesiones como aftas, es un excelente material para la salud de las encías, debido a que actúa para la prevención de la placa bacteriana y la gingivitis [44].

El Qs ha demostrado ser un excelente material para mejorar la salud bucal; sin embargo, se ha comprobado que en las encías provoca beneficios específicos para mejorar aún más la salud bucal, debido a que reduce la inflamación, protegiéndola y ayudando a repararla, así como ayudando a reparar la mucosa oral en diferentes tratamientos periodontales y periimplantarios [44, 45].

1.10 Estructura del diente

El diente está constituido por 3 partes, esmalte, dentina y pulpa, el esmalte es el tejido más resistente del diente humano además de ser el encargado de proteger del desgaste al masticar. La dentina es el tejido que otorga forma y rigidez, esto está protegido por el esmalte, tiene una consistencia dura y un color ligeramente amarillento, y dentro de ella se encuentra la pulpa. La raíz del diente es cubierta por un cemento, que es menos duro que la dentina y su composición es semejante a la del hueso [46]. Por último, la pulpa del diente se encuentra dentro de la dentina, que es la materia orgánica en el centro [47].

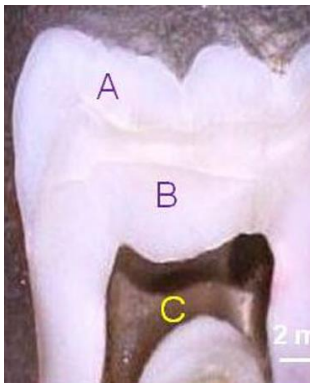


Fig 2. Diente humano A: Esmalte dental, B: Dentina, C: Pulpa

El esmalte dental difunde luz blanca según su grado de mineralización, por lo tanto, su color depende del grado de calcificación y homogeneidad, va entre blanco-amarillento y blanco-grisáceo. El esmalte dental se puede definir como un material que tiene una estructura tipo compósito, debido a que está formada de hidroxiapatita (HAp) en una matriz orgánica [47].

Se compone de 96% de materia inorgánica que la conforma principalmente de HAp en conjunto de impurezas de sodio, magnesio, cloro entre otros elementos minoritarios, y el 4% de material orgánico y agua [47].

Matriz inorgánica

La matriz inorgánica está constituida principalmente por sales de fosfato y carbonato, además de otros minerales como aluminio, bario, cobre, entre otros. Estos elementos forman la matriz dando lugar a los cristales de HAp ($CA_{10}(PO_4)_6(OH)_2$). La HAp es un fosfato cálcico cristalino que se encuentra en los huesos del cuerpo humano y en la dentina [48].

Matriz orgánica

Las proteínas son el principal componente orgánico del esmalte dental. Se pueden encontrar proteínas no colágenas y también pueden encontrarse proteínas séricas, enzimas, entre otros elementos. Sin embargo, la principal proteína es la enamelina, esta es la encargada de la distribución en el interior de los cristales y determina la permeabilidad del esmalte [48].

Tabla 3. Composición del esmalte dental por EDS [47].

ELEMENTO	SÍMBOLO	% EN PESO
Oxigeno	O	37.03
Calcio	Ca	38.89
Fosforo	P	16.50
Carbono	C	6.65
Mezcla de diferentes elementos	-	0.93
TOTAL		100 %

1.11 Desmineralización dental

Un estudio realizado por Cornucopia Institute en el año 2016 reveló que las pastas dentales más comerciales contienen sustancias que pueden llegar a ser perjudiciales para la salud, como el polietilenglicol y el triclosán, el cual es un material utilizado como agente antibacteriano; sin embargo, provoca resistencia a algunos antibióticos y altera hormonas, además Cornucopia Institute reportó que algunas pastas dentales prometen contener “ingredientes naturales”; sin embargo, estos suelen ser demasiado procesados y significativamente alterados, lo que puede ocasionar una potencial toxicidad [49]. El flúor es un material que actúa como agente antimicrobiano y para la prevención de caries; sin embargo, los iones de fluoruro solos no pueden remineralizar completamente las lesiones cariosas, además que el uso excesivo de esta sustancia puede causar un daño en el esmalte dental, provocando desmineralización y por consecuencia caries dentales, por lo que sustituir al flúor por una alternativa más saludable es lo ideal, como ejemplo está el Qs [50].

La carie dental es una enfermedad que afecta a la población de todas las edades, causando diferentes problemas, llegando hasta la pérdida de las piezas dentales [51]. Actualmente las enfermedades bucodentales no presentan un alto índice de mortalidad; sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2020 realizó un informe sobre la salud bucodental donde demostró que el 45% de la población padecen de esta enfermedad [26].

En México la caries es la enfermedad más común, provocada por la desmineralización del esmalte dental, debido a que inicia afectando la corona dental y en ocasiones afectando hasta la raíz del diente, provocando que en ocasiones sea imposible reparar el daño, y por consecuencia la pérdida de piezas dentales, lo que provoca nuevos problemas a la salud bucal [26].

El informe realizado por la OMS informó que otra enfermedad que afecta a un porcentaje considerable de la población es la gingivitis, esta es consecuencia de la acumulación de restos de alimentos provocando la acumulación de bacterias que afectan a la encía, causando irritación e inflamación [26].

Las piezas dentales tienen un alto contenido inorgánico, por lo que el esmalte dental está expuesto a sufrir de desmineralización, esta es producida por diferentes factores, como la mala higiene bucal y el uso de sustancias dañinas en pastas dentales, produciendo caries dentales [48,52].

La saliva es un fluido de importancia en el tema de la salud bucal, debido a que su composición contribuye a controlar la proliferación bacteriana previniendo diferentes enfermedades bucodentales. La saliva principalmente está compuesta por agua; sin embargo, puede contener más elementos, como sodio, potasio, calcio, magnesio, proteínas, enzimas incluso moléculas antimicrobianas, como lisozima, lactoferrina, entre otras. Además, la saliva es un fluido que interviene en el proceso de remineralización de dientes [51].

1.12 Remineralización dental

La remineralización es el proceso por el que se depositan minerales en los tejidos desmineralizados. El proceso consiste en el remplazo de los minerales perdidos del diente y la reparación de los daños ocasionados por la desmineralización. Los iones de fosfato, calcio y otros minerales reemplazan a los iones perdidos [53].

La remineralización tiene efectos beneficiosos en lesiones dentales, como reducir el tamaño de la lesión y la remineralización hace más resistente a la lesión, por lo que evita su progresión [53].

El uso de materiales beneficiosos a la salud bucal ha despertado un gran interés de investigación, en las últimas décadas el estudio del hidróxido de calcio $Ca(OH)_2$ ha incrementado, debido a que es utilizado para remineralización dental [54].

Una limpieza de placa dental es fundamental en la salud bucal, debido a que si no se elimina con frecuencia provoca la formación de ácidos, principalmente el ácido láctico provocando la aparición

de caries. Como se menciona anteriormente la desmineralización provoca caries en los dientes, por ello la remineralización es primordial; sin embargo, en ocasiones la remineralización puede verse obstaculizada por bajos niveles de calcio y fosfato, por ello, se ha implementado el uso de alternativas adicionadas con HAp para la remineralización dental [55].

En la *fig. 3* a) se observa un ejemplo del proceso por el que la HAp adsorbe la placa dental eliminándola. Posteriormente en el b) se observa el mecanismo de relleno de HAp en fisuras provocadas por la placa dental, en donde los iones de calcio y de fósforo rellenan las fisuras generando la remineralización de los dientes. Por último, en el c) se observa el proceso de remineralización en zonas desgastadas [56].

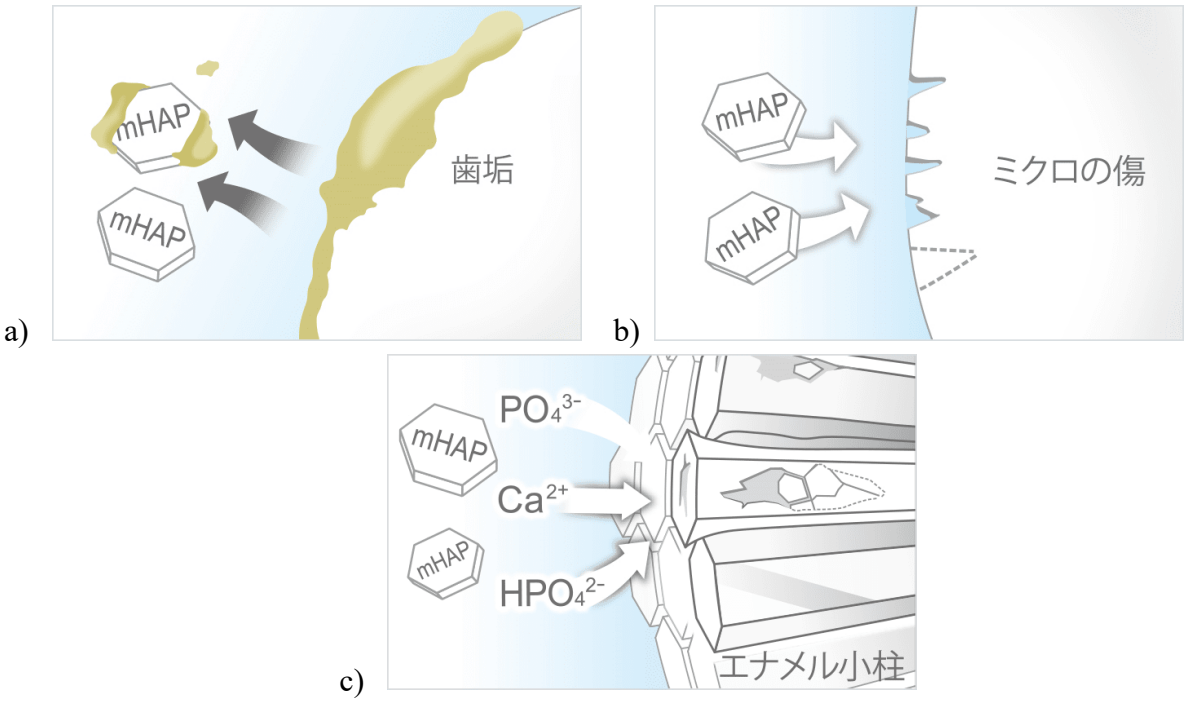


Fig 3. a) proceso de adsorción y eliminación de placa dental b) proceso de relleno de microfisuras en la superficie dental c) remineralización de zonas desmineralizadas [56].

1.13 Pasta dental

El uso de un producto para el cuidado de la salud bucal es de suma importancia, actualmente es conocido como dentífrico, crema dental, pasta dental o pasta de dientes. Hoy en día se sabe que las primeras aplicaciones de un producto para la limpieza bucal fueron en Egipto, existen manuscritos en donde hacen referencia a un producto conocido como “clister”. Este producto era muy abrasivo y era fabricado con piedra pómez, sal, pimienta, agua, uñas de buey, mirra y cáscara de huevo, y en ocasiones se adicionaban hojas de menta y de flores. El producto para la limpieza

de dientes fue evolucionando conforme al tiempo, hasta llegar a lo que hoy conocemos como pasta dental [57].

Las pastas dentales (dentífricos) son productos empleados para la limpieza bucal; sin embargo, un dentífrico debe poseer ciertas características, como [58]:

- En conjunto de un cepillo de dientes y de una excelente pasta dental debe eliminar restos alimentarios, placa dentobacteriana y manchas.
- Dejar sensación fresca y limpia.
- Deber contener materiales inocuos.
- Cumplir con normas para dentífricos.

1.14 Composición de pastas dentales

La composición de las pastas dentales ha evolucionado, como se sabe, hay diferentes marcas de este producto y cada una de ellas contiene sustancias diferentes, especialmente si tienen un objetivo específico como las pastas dentales anti-sarro, blanqueadoras, para sensibilidad, remineralizantes, entre otras; sin embargo, existen sustancias comunes en todas las pastas, como abrasivos, humectantes, detergentes, aromas y combatientes de caries [59].

La formulación de las pastas dentales más comunes es:

- Humectantes

Los humectantes son los encargados de prevenir el secado en las pastas dentales una vez que se abre el empaque. Se pueden utilizar diferentes materiales humectantes, como glicerina con agua, sorbitol, xilitol, polietilenglicoles, entre otros, estos materiales humectan al abrasivo lo que evita el endurecimiento de la muestra, mejorando la textura del dentífrico [58,60,61,62].

- Detergentes

Los agentes detergentes o también conocidos como agente espumante producen abundante espuma, lo cual produce una sensación agradable, además, los agentes detergentes crean una suspensión estable del abrasivo en la boca lo que permite una limpieza más efectiva. Se utilizan diferentes agentes detergentes en las pastas dentales, los más comunes son lauril sulfato sódico, N-lauroil, sarcosinato sódico, entre otros [58,61,63].

- Conservantes

Los conservantes o también llamados preservativos son los encargados de proteger a la pasta dental del efecto de los microorganismos, se puede emplear benzoato sódico, glicerina, metilparabeno, entre otras mezclas de parabenos [58,61,62].

- Edulcorante

En la pasta dental una característica fundamental es el sabor, y el encargado de dárselo es el edulcorante, se emplean diferentes materiales como edulcorante, como la sacarina sódica, ciclamato sódico, cilitol, diferentes esencias como de menta, hierbabuena, eucalipto, canela, entre otros [58,61,62].

- Espesantes

Son los encargados de aumentar la viscosidad de la muestra, uniendo al abrasivo con todas las sustancias. Los espesantes más utilizados son aliginatos, carregenatos, goma xantana, entre otros [58,61].

- Abrasivos

Los agentes abrasivos son pulidores sólidos, eliminan la biopelícula que se acula en la superficie del diente. Los abrasivos son componentes importantes; sin embargo, deben poseer ciertas características para que su uso sea seguro, las partículas deben tener una magnitud y dureza, así como un tamaño de partícula reducido, para que logre eliminar la biopelícula sin desgastar el esmalte dental. El agente abrasivo más común es el carbonato de calcio [58,63].

- Emulsificante

Los agentes emulsificantes permiten la unión de todos los materiales, obteniendo una pasta con textura uniforme, los agentes emulsificantes también ayudan a la distribución de sustancias activas, dando como resultado un aumento en la efectividad de la pasta, el emulsificante más común es el almidón; sin embargo, también se utiliza el lauril sulfato de sodio y el gliceril estearato [58,61].

- Antimanchas

Como su nombre lo dice, el agente antimanchas es el encargado de prevenir y reducir las manchas presentes en los dientes. Los agentes antimanchas más comunes son el carbón activado, sílice, encimas, entre otros [58, 60,61].

- Agente antimicrobiano

Un agente antimicrobiano ayuda a combatir las caries, además contribuye a fortalecer el esmalte dental para la prevención de caries. Los agentes antimicrobianos más comunes son el quitosano y el flúor [44,58,59].

1.15 Materiales inocuos

Los materiales inocuos en dentífricos representan una parte importante en las pastas dentales debido a que son productos utilizados en la boca, estos materiales no deben generar efectos

adversos ni ocasionar daños en la salud como irritación o reacciones adversas. Los materiales inocuos deben ser tolerados por la mucosa oral sin dañarlas a corto o largo plazo [64,65].

Los materiales inocuos usualmente incluyen los agentes abrasivos, humectantes, saborizantes, fluoruros, conservantes y surfactantes, que son las principales sustancias que pertenecen a la formulación de una pasta dental [64,65].

Como se sabe los dentífricos deben cumplir con normas para la seguridad de los usuarios, por lo tanto, cada uno de los materiales utilizados en la elaboración de la pasta dental deben estar sujetos a regulaciones de la salud en donde se verifica su correcto cumplimiento con los estándares de seguridad [64,65].

1.16 Estado del arte

La HAp es un biomaterial constituido por calcio, fósforo y oxígeno, este biomaterial se encuentra presente en los huesos humanos y en los dientes; sin embargo, también se puede recuperar de diferentes fuentes naturales, como es el esqueleto de pescado, huesos de vertebrados y en conchas marinas, además de existir métodos de obtención de manera sintética. Este es un material que ha tenido un amplio campo de investigación, debido a que se utiliza para procesos de remineralización dental, así como para regeneración ósea [19].

Los dientes están formados principalmente por HAp, y aplicando nanotecnología en este material incrementa los resultados favorecedores en el depósito del biomaterial en la superficie del diente provocando el sellado de túbulos dentinarios, disminuyendo molestias en la boca [66].

La HAp es un biomaterial innovador que tiene un amplio campo de aplicaciones en odontología, la empresa China Sangi Co en 1993 fue la primera en crear una pasta dental adicionada con partículas de HAp, con efecto remineralizante, siendo altamente efectiva para proteger el esmalte dental. El mecanismo de la HAp, además, adsorbe la placa dental y la elimina, con esto, logrando remineralizar el esmalte dental como una excelente alternativa [11].

La HAp sintética tiene una gran cantidad de publicaciones, en donde se reportan excelentes resultados. El uso de HAp en tratamientos médicos ha incrementado, se ha utilizado en implantes dentales, en correcciones de deformidades faciales, así como en pacientes con pérdidas de la sustancia [67].

El uso de HAp en pastas dentales ha sido exitosa; sin embargo, la HAp adicionada es obtenida de manera sintética. Por otro lado, en 2013 se realizó una pasta dental con HAp natural obtenida de pescado huauchinango obteniendo excelentes resultados; sin embargo, no se realizó un estudio del tamaño de partícula obtenido, un aspecto fundamental en las características de una pasta dental para el correcto cumplimiento de normas para dentífricos [68].

La HAp tiene un impacto importante por su tamaño de partícula, esto debido a su comportamiento en aplicaciones dentales. Se ha reportado que partículas con menor tamaño muestran una mejor adhesión en las fisuras del diente, por lo tanto, tienen un mejor resultado favoreciendo al esmalte dental [66].

La obtención de HAp de menor tamaño se logra por diferentes métodos, como la precipitación química, método sol-gel y método hidrotermal. Para la determinación del tamaño de partícula y para comprender sus propiedades se utilizan técnicas de caracterización importantes como SEM y TEM [69].

En estudios anteriores han demostrado la alta efectividad de la nanohidroxiapatita sintética adicionada en una pasta dental para el sellado de túbulos dentinarios, obteniendo un tamaño de partícula de 407 nm presentando una alta bioactividad en comparación de HAp en microescalas [66].

La formulación de la pasta dental adicionada con HAp implica aspectos fundamentales como la compatibilidad de cada uno de los materiales, esto con el fin de obtener una pasta segura y sin complicaciones para los usuarios [64,65].

Los avances en la obtención de HAp han incrementado debido a la gran cantidad de resultados favorecedores publicados; sin embargo, el estudios de este material aplicado en tratamiento odontológicos sigue siendo un amplio campo de investigación, debido a la optimización de las diferentes formulaciones y eficacia de la HAp con el objetivo de optimizar su método de obtención, así como la fuente de recuperación de la HAp, además, el estudio de la reducción de tamaño de la HAp es de suma importancia, debido a que se ha demostrado que la HAp con tamaño nanométrico resalta las propiedades de este material, por ello la aplicación de nanotecnología en este tipo de tratamientos es de gran impacto [33,66].

CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA

En este capítulo se describe la metodología que se llevó a cabo para cumplir el objetivo general de la presente tesis, la elaboración de una pasta dental con partículas de hidroxiapatita natural con diferente tamaño de partícula, iniciando con la obtención de hidroxiapatita natural a base de pescado *Gerreidae* (mojarra), compuesto principal en la presente tesis como elemento clave en aplicaciones odontológicas. El objetivo principal fue reducir el tamaño de partícula de la HAp obtenida de una fuente natural como el pescado *Gerreidae* (mojarra), proceso el cual se llevó a cabo mediante un baño ultrasónico, analizando la eficiencia del proceso en el tamaño de las partículas.

Además, se detalla el procedimiento experimental empleado para aprovechar los desechos de pescados de diferentes restaurantes extrayendo y caracterizando hidroxiapatita de dicha fuente natural utilizándolo en aplicaciones específicas.

Por último, se describe el procedimiento que se llevó a cabo para la elaboración de la pasta dental con excelentes propiedades, incluyendo la formulación de esta, asimismo evaluando su seguridad aplicando diferentes normas para dentífricos (NMX-K-539-NYCE-2020).

El diseño de la presente investigación es experimental y descriptiva. Por lo tanto, se llevó a cabo en un estudio de laboratorio para extraer hidroxiapatita de una fuente natural y evaluar la reducción del tamaño de partícula mediante el baño ultrasónico para ser añadida a la pasta dental, así como el estudio de la formulación de la pasta dental para que sea desarrollada y evaluada con el fin de cumplir con los estándares establecidos en diferentes normas para dentífricos para seguridad de los usuarios.

2.1 Obtención de hidroxiapatita natural

2.1.1 Recolección de endoesqueletos de pescado Gerreidae (pescado mojarra)

PROCEDIMIENTO

A. Se recolectaron huesos de pescado *Gerreidae* (mojarra) de un restaurante de comida de mariscos, separando especialmente la columna vertebral y las costillas del pescado. Los huesos se colocaron en agua durante 24 horas, esto con el fin de que la limpieza realizada posteriormente se realizará con mayor facilidad. Finalmente se realizó la limpieza retirando toda la cantidad de tejido blando y de grasa.
B. Los endoesqueletos previamente limpios se colocaron en un vaso de precipitado y se introdujeron en una estufa de secado a una temperatura de 90°C durante 24 horas para eliminar la humedad presente en los endoesqueletos.

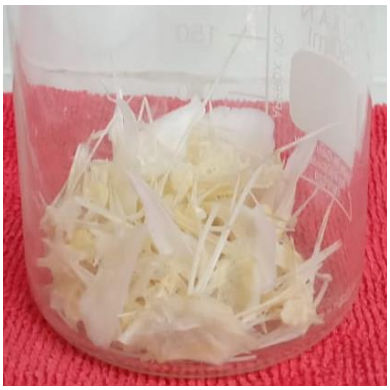


Fig 4. Muestra después del proceso de secado.

2.1.2 Tratamiento térmico

PROCEDIMIENTO

A. Los huesos previamente secados se colocaron en un mortero e introdujeron en una mufla *Terlab Modelo MA20D* a una temperatura de 700 °C durante 4 horas, esto con el propósito de eliminar toda la materia orgánica que pudiera contener y obtener una mejor pureza. Pasado el tiempo establecido se apagó la mufla dejándola enfriar.
B. Los huesos calcinados se retiraron de la mufla y se les realizó un proceso de molienda en un mortero, tamizando el polvo obtenido en un tamiz de malla 250 (equivalente a 60 micras aproximadamente), para finalmente envasar y etiquetar.

a) b)

Fig 5. a) Endoesqueletos después del proceso de calcinación, b) Muestra pulverizada y tamizada.

2.2 Caracterización de la hidroxiapatita

La caracterización de la HAp es fundamental para conocer su composición química, además de su estructura y el tamaño de partícula, característica principal en la presente tesis.

2.2.1 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR):

Se obtuvieron 6 muestras después del proceso para la reducción del tamaño de partícula mediante el baño ultrasónico, por ello la caracterización mediante FTIR se realizó mediante un espectrofotómetro *Perkin Elmer con transformada de Fourier y sistema ATR* para todas las muestras con el objetivo de comprobar que no hubiera cambios dentro de la estructura de la HAp por el tratamiento ultrasónico que se le realizó.

Para obtener los resultados más claros y sin ningún contaminante, el análisis se llevó a cabo con las precauciones correspondientes tanto en la muestra como en el equipo, asegurando de manera correcta el plato de reflectancia total atenuada, realizándole una limpieza con un poco de etanol para eliminar cualquier residuo y/o contaminante que pudiera haber en el equipo. Asimismo, el equipo se acompañó de un deshumidificador para eliminar la mayor cantidad de humedad dentro del cuarto donde se ubica el espectrofotómetro.

El análisis se llevó a cabo con .2 g de cada una de las muestras, esto en un intervalo de 4500 a 500 cm^{-1} para lograr obtener las señales emitidas referentes a los grupos funcionales presentes en la HAp (OH, CO_3^{2-} y PO_4^{3-}) realizando 4 escaneos para obtener mejores resultados, realizándole una limpieza al espectro para eliminar impurezas mínimas del mismo.

Fig 6. Espectrofotómetro *Perkin Elmer con transformada de Fourier y sistema ATR.*

2.2.2 Difracción de rayos X (DRX)

Una técnica de caracterización fundamental para la HAp es DRX esto el objetivo de obtener la estructura cristalina de las muestras.

Se llevo a cabo el análisis a todas las muestras de HAp, al igual que en FTIR para comprobar si el proceso de sonicación cambiaba ciertas características de las muestras analizadas. El análisis se llevó a cabo mediante un difractómetro *Bruke D8 Discover* con radiación Cu Kα, la fuente de energía fue de λ= 1.54 Å y un detector *Linux Elle* a 40 kV y 40 mA. Empleando .2 g de cada una de las muestras obtenidas usando un paso de 0.030° y un tiempo de paso de 43 s, dentro del intervalo de 5 – 90°. Cada análisis se llevó a cabo con las precauciones de limpieza y de preparación de la muestra correspondientes para obtener resultados claros y evitar interferencias.

Fig 7. Difractómetro *Bruke D8 Discover.*

2.2.3 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

El tamaño de partícula es la característica principal de la presente tesis, por lo que la determinación de esta fue fundamental. SEM se realizó con el objetivo de obtener la microestructura y morfología de las muestras obtenidas.

El análisis se llevó a cabo por medio de un microscopio electrónico de barrido modelo *JEOL JSM 6610 LV*. Se tomaron aproximadamente .2 g de cada una de las muestras y se colocaron en porta muestras de aluminio comprimiéndola con una espátula y eliminando partículas que pudiera llegar a ser volátiles.

Además del análisis mediante SEM se realizó un análisis elemental mediante espectroscopía de energía dispersa (EDS) en un espectrómetro de dispersión de energía de rayos X con un potencial de trabajo de 20.0 k. V, para conocer la composición de las muestras expresada en porcentaje del peso de estas, y obtener una mejor caracterización de cada una de las muestras.

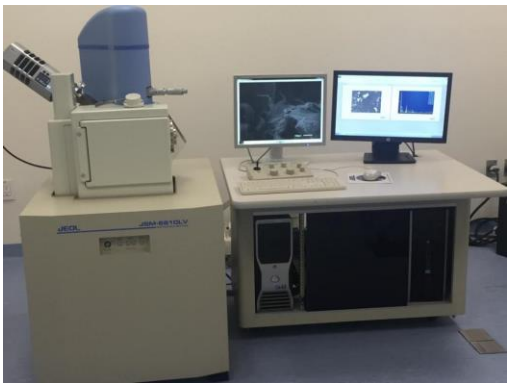


Fig 8. Microscopio electrónico de barrido modelo *JEOL JSM 6610 LV*.

2.2 Reducción de tamaño de partícula

La reducción del tamaño de partícula se llevó a cabo mediante un baño ultrasónico a diferentes tiempos, esto con el propósito de que a mayor tiempo de sonicación el tamaño de partícula sea menor.

PROCEDIMIENTO

A. El baño ultrasónico se inició llenando el equipo con agua y programándolo con los tiempos ya establecidos (30, 45, 60, 75, y 90 minutos). Se colocaron 100 mL de agua destilada en 1 vaso de precipitado de 250 mL, añadiendo .5 g de la muestra tamizada, mezclando hasta obtener que la muestra se dispersara en la solución. Colocando el vaso en el equipo de manera que el agua cubriera toda la solución e iniciando el proceso de sonicación.
B. Pasando los tiempos establecidos se retiró el vaso dejándolo reposar hasta que la muestra se separara del agua, filtrándola e introduciendo el vaso a la estufa de secado a 90°C durante 24 horas, para conseguir eliminar toda el agua de la muestra.
C. Este procedimiento se repitió con todos los tiempos mencionados anteriormente.
D. Las muestras fueron colocadas en diferentes viales etiquetándolos de acuerdo con los tiempos a los que se sometió al baño ultrasónico.

Fig 9. Procedimiento de la reducción del tamaño de partícula.

2.3 Elaboración de pasta dental

La elaboración de la pasta dental se llevó a cabo mediante un proceso en caliente, esto con el objetivo de que sea una mezcla completamente homogénea.

Tabla 4. Formulación de la pasta dental.

CANTIDAD	REACTIVO	FUNCIÓN
3 mL	**Glicerina**	Agente humectante y preservativo
4 mL	**Agua**	Agente humectante
0.6 g	**Almidón**	Agente emulsificante
2 g	**Carbonato de calcio**	Agente abrasivo
2 g	**Hidroxiapatita**	Agente abrasivo, desensibilizante y anticaries
0.3 g	**Sílice**	Agente antimanchas
0.05 mL	**Lauril sulfato de sodio**	Agente detergente
0.2 g	**Sacarina sódica**	Edulcorante
0.05 mL	**Esencia de menta**	Saborizante
0.1 g	**Quitosano**	Agente antimicrobiano

MATERIALES

- 1 vaso de precipitado de 250 mL
- 1 vaso de precipitado de 50 mL
- 1 agitador de vidrio
- 1 termómetro
- 1 pipeta de 10 mL
- 1 pipeta de 1 mL
- Cajas Petri

EQUIPO

- Balanza analítica
- Parrilla eléctrica
- Lampara UV

PROCEDIMIENTO

A. Para obtener un tamaño de partícula más homogéneo se pulverizaron todas las sustancias solidas en un mortero para obtener un tamaño de partícula de 60 um aproximadamente, pesando cada una de ellas.

B. La glicerina se disolvió en el agua, sometiéndolo a un calentamiento en baño maría durante aproximadamente 30 minutos a una temperatura de 80 °C, posteriormente se agregó el almidón a la solución, mezclando para conseguir que se integren los reactivos.
C. A la mezcla se le agregó el carbonato de calcio, la HAp, la sílice y el Qs, sin dejar de agitar. Se agregó el lauril sulfato de sodio, la sacarina sódica, el colorante y por último la esencia de menta, mezclando hasta obtener una mezcla homogénea.
D. La pasta obtenida se envasó en cajas Petri para someterla a un proceso de desinfección en radiación UV durante 20 minutos, esto con el propósito de eliminar microorganismos e inhibir crecimiento bacteriano

Fig 10. Etapa final de la pasta dental.

2.4 Evaluación de calidad de la pasta dental bajo la norma mexicana NMX-K-539-NYCE-2020 para dentífricos.

La pasta obtenida deberá contar con ciertas características por lo que será sometida a análisis reglamentarios establecidos en la norma NMX-K-539-NYCE-2020 para dentífricos, sin embargo; para el cumplimiento de dicha norma fueron consultadas otras normas para comprobar que se aplica de manera correcta, para ser apto para el usuario.

Tabla 5. Normas para evaluación de la calidad de la pasta dental.

NORMA	DETERMINACIÓN
NMX-K-539-NYCE-2020	Dentífricos- Especificaciones y método de prueba
NMX-K-543-CNCP-2014 Dentífricos	Determinación de abrasión
PROY-NMX-K-542-CNCP-2012 Dentífricos	Determinación de consistencia
NMX-K-317-S-1978	Determinación de pH
NMX-F-088-1964	Determinación de microorganismos

Tabla 6. Especificaciones bajo Norma NMX-K-539-NYCE-2020 para dentífricos.

CARACTERÍSTICAS	INTERVALO ESTABLECIDO
Abrasión	Cumplir con la norma NMX-K-543-CNCO-2014 Dentífricos
Consistencia	25 - 65
pH	4.5 – 10.0
Microorganismos	---- 0.2%

2.4.1 Determinación de abrasión

La determinación de abrasión se llevó a cabo con el objetivo de determinar la abrasión en las pastas dentales, basándose en la propiedad que tiene de rayar de más a menos y comprobar la acción del disco metálico sobre el portaobjetos.

REACTIVOS

- Ácido nítrico
- Glicerina
- Pastas dentales

MATERIALES

- Portaobjetos
- Disco metálico de 15 mm de diámetro y 2 mm de espesor.

PROCEDIMIENTO

A. Se colocó 1 gr de la muestra de la pasta dental en una parte del portaobjetos y con el disco metálico se frotó aproximadamente 200 veces, ejerciendo una fuerza de 500 g aproximadamente.
B. En otra parte del portaobjetos se colocó 1 gr de glicerina, repitiendo la frotación con el mismo disco de metal completamente limpio. Posteriormente se calentó ácido nítrico a 60°C y se introdujo el portaobjetos, esto con el objetivo de eliminar cualquier residuo metálico que pudiera quedar adherido al vidrio.
C. La superficie de la placa se examinará con luz directa y reflejada.
D. Repitiendo la prueba 2 veces por cada pasta dental

Fig 11. Procedimiento para determinación de abrasión.

2.4.2 Determinación de consistencia

La determinación de consistencia para las pastas dentales se llevó a cabo para determinar la propiedad de los materiales de tener cohesiones.

REACTIVOS

- Pastas dentales

MATERIALES

- 2 placas de vidrio plano de 15 x 15 cm y 3 mm de espesor
- Dispositivos para medir 0.5 cm^3 de pasta dental
- Pesa de 500 gr
- Papel milimétrico de 15 x 15 cm con circunferencia concéntrica dibujada a partir del centro del cuadrado, enumerando cada centímetro

PROCEDIMIENTO

A. Se colocó una de las placas de vidrio sobre la hoja de papel milimétrico y se colocó 0.5 cm3 de la pasta dental a una temperatura de 25°C.
B. La otra placa de vidrio se superpuso centrándola con la placa y la hoja de papel milimétrico, colocando una pesa de 500 gr durante 10 minutos.
C. Pasado los 10 minutos se observa la formación de un disco de pasta entre ambos vidrios, midiendo los diámetros del disco formado.
D. Repitiendo la prueba 2 veces por cada pasta dental

Fig 12. Determinación de consistencia.

2.4.3 Determinación de pH

El pH se representa el carácter ácido, neutro o básico de una solución acuosa en una escala del 0 al 14.

Se determinó el pH de la pasta dental basada en la medición de la actividad de los iones de Hidrogeno presentes en las muestras de las pastas dentales mediante un medidor de pH (potenciómetro).

REACTIVOS

- Solución reguladora de pH 4
- Solución reguladora de pH 7
- Solución reguladora de pH 10
- Pastas dentales

MATERIALES

- Utensilios apropiados para abrir los envases
- Agitador de vidrio
- Termómetro
- Vasos de precipitado
- Balanza analítica
- Embudo de separación

EQUIPO

- Potenciómetro
- Agitador mecánico o electromagnético
- Mortero

PROCEDIMIENTO

A. El potenciómetro se calibró con las soluciones reguladoras de pH 4,7 y 10
B. Con el agitador se mezcló la pasta dental, ajustando la temperatura a 25°C aproximadamente
C. El potenciómetro se colocó en la muestra cubriendo perfectamente los electrodos, haciendo la medición de pH.
D. Retirando el potenciómetro, y enjuagándolo perfectamente con agua destilada
E. Repitiendo la prueba 2 veces por cada pasta dental

Fig. 13 Determinación de pH con potenciómetro.

2.4.4 Determinación de microorganismos

La prueba para determinación de microorganismos determina la presencia de hongos y bacterias.

REACTIVOS

- Medio de cultivo: Mueller Hinton y MRS Agar (Man. Rogosa y sharpe)
- Agar bacteriológico
- Pastas dentales
- Bacterias: Cándida ATCC 90028, E. Coli ATCC 2592, S. Aureus ATCC 29213 y Glicerol.

MATERIAL

- Cajas Petri
- Material de laboratorio
- Matraces de 500 mL

EQUIPO

- Autoclave
- Estufa de temperatura
- Microscopio

PROCEDIMIENTO

A. Para las pruebas de microorganismos se elaboraron los medios de cultivo, para Mueller Hinton no se utilizó agar, debido a que ya lo contiene; sin embargo, para MRS si se le agregó agar bacteriológico. Por lo tanto, para Mueller Hinton se utilizó 19 g/500 mL de agua destilada, debido a que la relación para elaborar el medio de cultivo es de 38g/L. Mientras que para MRS se utilizó 13.75 g/ 250 mL de agua destilada, debido a que la relación es de 55 g/L, agregando 3.75 g de agar, por la relación de 15 g/L.
B. Se pesaron y se disolvieron los medios de cultivo en los matraces tapándolos, pero dejándolos ligeramente abiertos, con el fin de evitar explosiones, posteriormente se introdujeron en un equipo de autoclave para esterilizarlos.
C. Iniciando el equipo se llegó a una presión de 15 libras y a partir de esto se tomaron 15 minutos, para posteriormente apagar el equipo y esperar a que la presión bajara para poder retirar las muestras.
D. Se dejaron enfriar hasta una temperatura aproximada de 60°C para continuar con su vertido en cajas Petri.
E. Una vez con la temperatura correspondiente se colocaron en una campana de extracción con apoyo de dos mecheros para evitar contaminación de las muestras. Vertiendo las muestras hasta cubrir la superficie de la caja Petri.
F. Finalmente se etiquetaron y se sellaron, dejándolas reposar durante 24 horas y observar si no hubo contaminación de las muestras.
G. Pasadas las 24 horas y observando que no hubo crecimiento contaminante, se procedió al estriado de las bacterias en las cajas Petri Cándida ATCC 90028, E. Coli ATCC 2592, S. Aureus ATCC 29213 se colocaron en Mueller Hinton, mientras que Glicerol en MRS.
H. Seguido del estriado se colocaron todas las muestras de las pastas dentales dejando espacio suficiente entre ellas, para finalmente introducirlas a la incubadora a 37°C durante 48 horas esperando el crecimiento bacteriano.
I. Pasado el tiempo establecido se observaron las cajas Petri.

Fig 14. Caja Petri con bacteria Cándida ATTC 90028 con muestras de las pastas dentales.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo principal de la investigación fue el impacto del tamaño de partícula de la HAp natural recuperada de restos de pescado *Gerreidae* (pescado mojarra) en una pasta dental. Por ello en este capítulo se describen y se discuten los resultados obtenidos de todas las pruebas realizadas para cumplir con todos los objetivos de la presente tesis.

3.1 Hidroxiapatita natural obtenida de una fuente natural (pescado *Gerreidae*)

De los endoesqueletos del pescado *Gerreidae* sometidos a tratamiento térmico a una temperatura de 700°C durante 4 horas se logró eliminar toda la materia orgánica, obteniendo únicamente la fase inorgánica perteneciente a HAp natural.

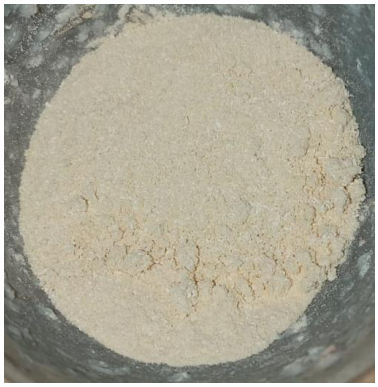


Fig 15. Muestra de HAp después del tratamiento térmico a 700 °C y del proceso de molienda.

El tratamiento térmico al que fue sometida la muestra de los huesos de pescado resultó altamente efectivo, debido a que logró la recuperación únicamente de la fase inorgánica demostrando un alto rendimiento a la temperatura establecida, obteniendo del peso total de la muestra un 60% de materia inorgánica recuperando HAp natural.

Tabla 7. Porcentaje en peso de la obtención de la HAp recuperada de huesos de pescado.

Muestra	Temperatura del tratamiento térmico	Tiempo del tratamiento térmico	Masa inicial (g)	Masa final (g)	Porcentaje de HAp presente
Pescado Gerreidae (mojarra)	700° C	4 horas	37.52 g	22.50 g	59.97 %

3.2 Caracterización de la hidroxiapatita natural

3.2.1 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier es una herramienta fundamental para la caracterización de la HAp, debido a que proporciona información sobre la estructura química y funcional de la muestra a través de las vibraciones moleculares.

Se realizaron análisis de la muestra tamizada por la malla 250 para comprobar la estructura de la HAp, además se les realizaron análisis a todas las muestras sometidas al baño ultrasónico, con el fin de verificar que la estructura de la muestra no cambie por dicho tratamiento. La fig. presenta los espectros FTIR de todas las muestras sometidas al tratamiento térmico y sometidas al baño ultrasónico a los diferentes tiempos (S/U sin baño ultrasónico, 30, 45, 60, 75 y finalizando con 90 minutos).

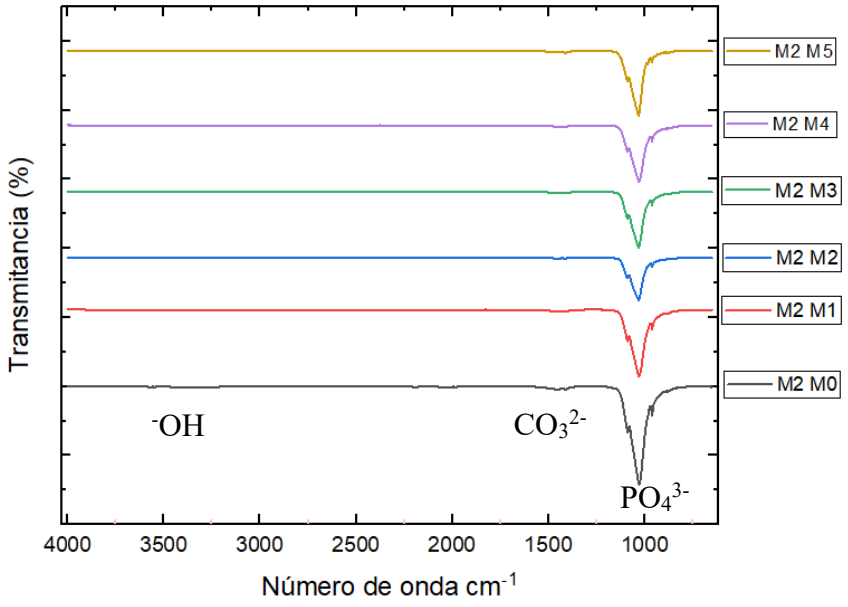


Fig 16. Espectros de infrarrojo de las muestras sometidas al tratamiento térmico y al baño ultrasónico a diferentes tiempos.

En la *fig 16*. se muestran los espectros de infrarrojo desde la muestra sin sometimiento al baño ultrasónico hasta la última muestra sonicada durante 90 minutos. En los espectros de todas las muestras se observa una intensa banda de estiramiento asimétrico en un intervalo de 1020 a 1090 cm^{-1} perteneciente al grupo PO_4^{3-} (fosfato)[4,5,16] indicando una de las características de la HAp, y debido a la intensidad de la banda indica una alta concentración de fosfato, por otro lado, se observa una ligera banda casi imperceptible de estiramiento en el intervalo de 3570 a 3650 cm^{-1} que confirma otra característica de la HAp debido a que pertenece al grupo funcional ^{-}OH (hidroxilo)[4,5,16]. Por último, la HAp es carbonatada por lo que se compone también del grupo funcional CO_3^{2-} (carbonato) [4,5,16], en el espectro de

infrarrojo la señal emitida en el intervalo establecido para presentarse dicho grupo funcional es de 1456 a 871, sin embargo; se observa una mínima señal emitida, casi imperceptible pero que demuestra que sigue presente.

Tabla 8. Grupos funcionales de la hidroxiapatita presentes en los espectros de infrarrojo.

Muestra	Grupo funcional	Símbolo	Intervalo de número de onda (cm^{-1})
Muestra calcinada a 700°C	Carbonato	$(CO_3)^{2-}$	1456 a 871
	Fosfato	$(PO_4)^{3-}$	1090 a 963
	Hidroxilo	(OH^-)	3573 a 3200

En los espectros de FTIR se comprobó la composición química de la HAp, comparando con espectros publicados se confirma la presencia de los grupos funcionales de su estructura química, además de demostrar que a pesar de que las muestras fueron sometidas al baño ultrasónico no hubo ningún cambio en la estructura de la HAp. Los grupos funcionales pertenecientes a la estructura de la HAp no cambiaron en ninguno de los espectros de la técnica de caracterización comprobando que dicho tratamiento no afecta la estructura de la muestra [4,5,16].

3.2.2 Difracción de rayos X (DRX)

La difracción de rayos X es otra técnica de mayor importancia para el análisis y la caracterización de la HAp, debido a que nos proporciona las bandas características que corresponden a la difracción específicos en la estructura cristalina.

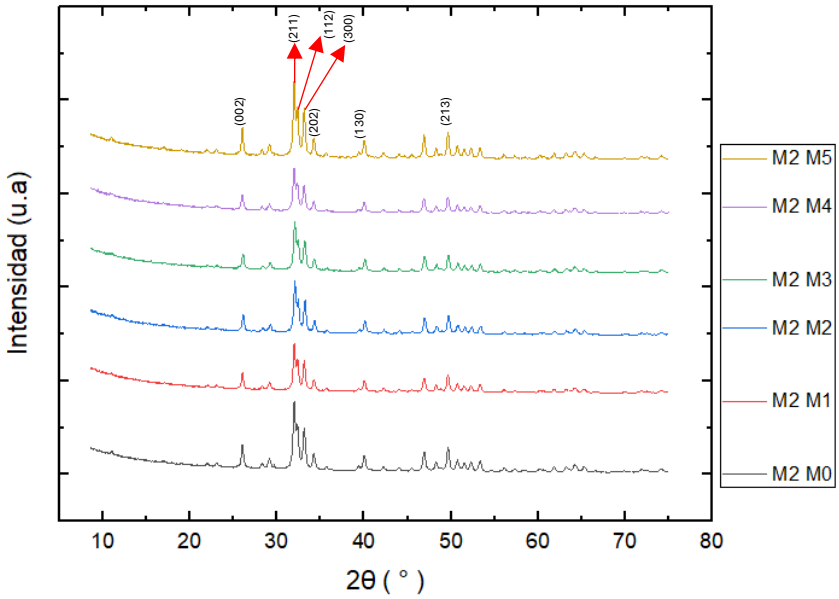


Fig 17. Patrones de difracción de rayos X de todas las muestras.

En la *fig 17*, observa el patrón de difracción de rayos X de todas las muestras de HAp. La HAp se identificó principalmente mediante las bandas con índices de Miller, (002), (211), (112), (300), (202), (130) y (213), correspondientes a la región angular $2 < 2\theta < 60$. Las reflexiones son características de la HAp [4,5,16,75,76].

En el patrón obtenido de las muestras calcinadas se observa la presencia de picos de difracción con líneas bien definidas. El difractograma comparó con patrones de difracción reportados en diferentes publicaciones, en donde se comprobó la similitud del obtenido con los publicados, confirmando la obtención de HAp a partir de espinas de pescado. Además, demostrando que el tratamiento térmico para la obtención de HAp es altamente efectivo, debido a que las señales emitidas son intensas lo que comprueba el aumento de la cristalinidad y comprobando su fase cristalina hexagonal [4,5,16,75,76].

Tabla 9. Planos y ángulos principales de la HAp [76].

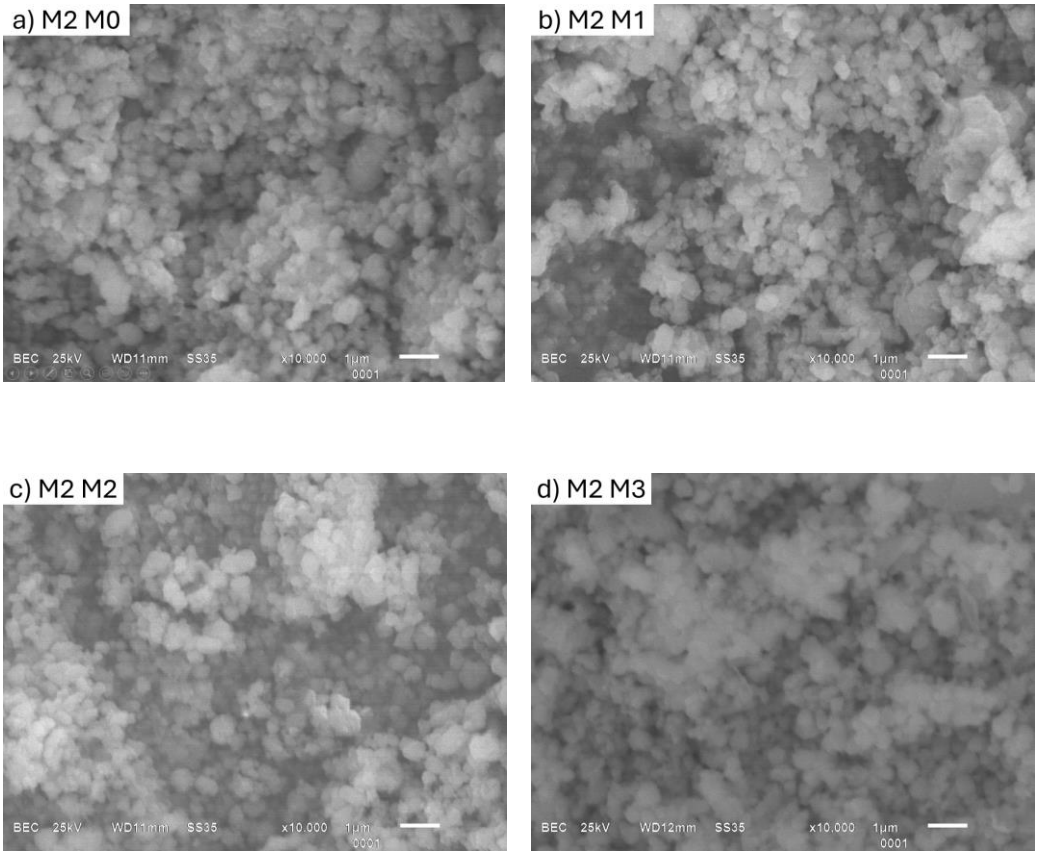
Pico	Monoclínica (PDF 89-4405)		Hexagonal (PDF 86-1199)	
	Ángulo (2θ)	Índice de Miller	Ángulo (2θ)	Índice de Miller
1	10.83°	(100)	10.84°	(100)
2	16.83°	(101)	16.85°	(101)
3			18.84°	(110)
4	21.76°	(200)	21.79°	(200)
5			22.87°	(111)
6	25.85°	(002)	25.89	(002)
7	28.10	(102)	28.13	(102)
8			28.95°	(210)
9	31.74°	(211)	31.80°	(211)
10	32.16°	(112)	32.20°	(112)
11	32.87°	(300)	32.92°	(300)
12	34.03°	(202)	34.07°	(202)
13			35.48°	(301)
14			39.21°	(212)
15	39.78°	(-420)	39.83°	(130)
16	41.95°	(161)	42.02°	(131)
17	43.82°	(123)		
18	45.28°	(203)	45.34°	(203)
19	46.66°	(-282)	47.72°	(222)
20	48.03°	(162)	48.11°	(132)
21			49.50°	(213)
22	50.46°	(-541)		
23			51.30°	(410)
24	52.05°	(402)		
25			53.22°	(004)
26			55.90°	(322)
27			57.16°	(313)
28			59.98°	(240)
29	61.64°	(-264)		
30			63.03°	(502)
31	64.12°	(-563)		
32			65.06°	(511)
33			66.45°	(143)

3.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

En la caracterización de la HAp SEM se utilizó para conocer la morfología y principalmente el tamaño de partículas con alta precisión. Se realizó el análisis a la muestra tamizada, así como a todas las muestras sometidas al baño ultrasónico para conocer su composición y con las micrografías emitidas por el SEM se determinó el tamaño de partícula.

En la *fig 18* se presentan las micrografías de todas las muestras pulverizadas y sometidas al tratamiento térmico a una temperatura de 700°C durante 4 horas y posteriormente sometidas al baño ultrasónico a diferentes tiempos.

Todas las micrografias fueron obtenidas con un aumento de 10,000 x presentando una distribución de tamaño de partícula homogeneo, además, se observan diferentes partículas homogéneamente monodispersas y semiesfericas.



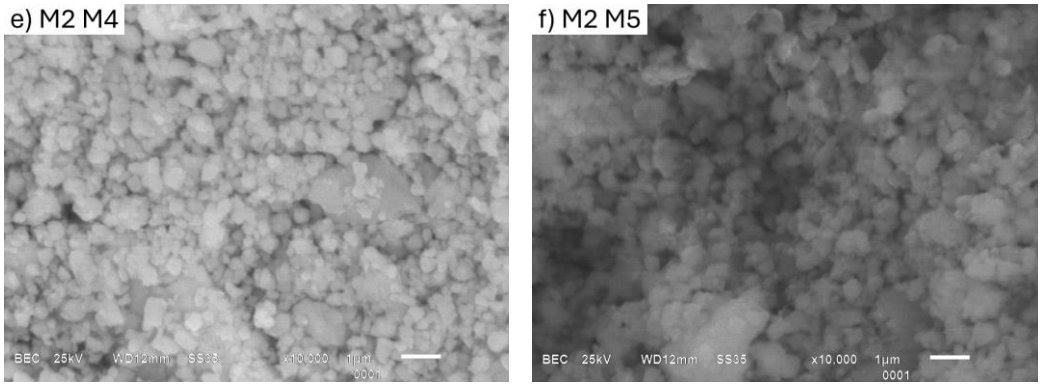
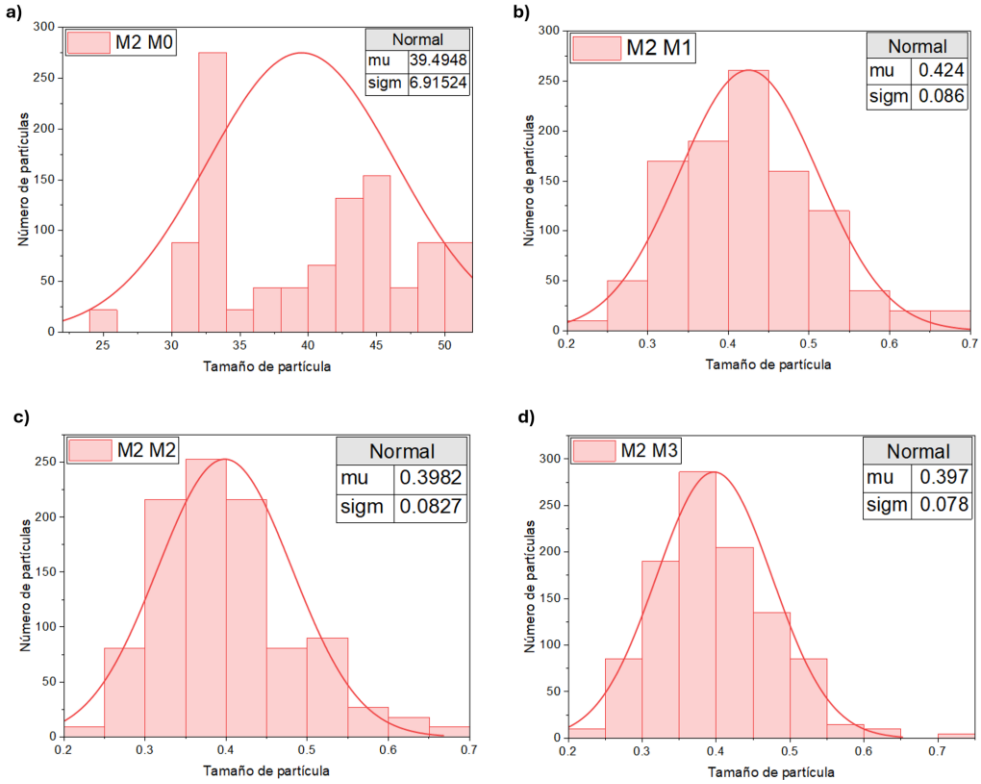


Fig 18. Micrografias SEM de las muestras con un aumento de 10000 x

SEM se realizó con el objetivo de definir un tamaño de partícula de la de HAp. Por medio de las micrografias emitidas por el SEM se determinó el tamaño de partícula, graficando una distribucion de la misma.



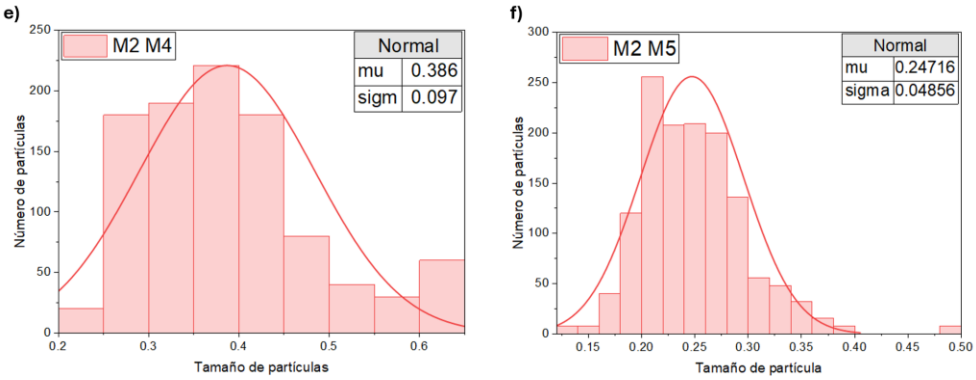


Fig 19. Distribucion del tamaño de particula de las muestras sometidas a baño ultrasonico

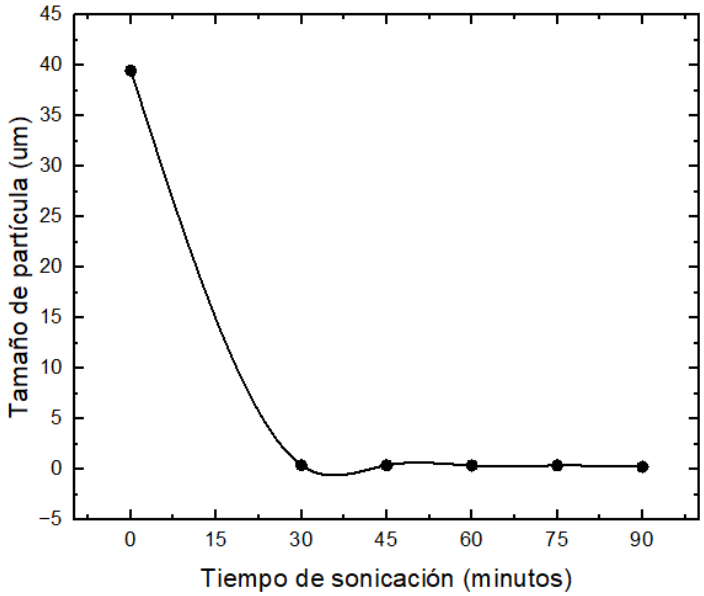


Fig 20. Tamaño de partícula como función del tiempo de sonicación.

En el a) sin baño ultrasonico se presenta la distribución de la muestra que no se sometió al baño ultrasonico, presentando mayormente un tamaño de partícula de 0.535 um, siendo el tamaño más grande de todas las muestras. De las figuras b) al f) se presentan la distribucion del tamaño de partícula de las muestras sonicadas durante los tiempos establecidos. El b) de 30 miutos de sonicación presentó un tamaño de partícula de 0.424 um, el c) de 45 minutos y el d) de 60 minutos presentaron un tamaño de partícula de 0.398 y 0.397 um teniendo una minima diferencia de 0.001 um, el e) de 75 minutos presentó un tamaño de partícula de 0.386 um y se finalizó con el f) con 90 minutos presentando el tamaño de partícula más pequeño de todas las muestras con un tamaño de 0.247 um.

Las micrografias de SEM fueron la herramienta ideal para comprobar que el baño ultrasonico logró reducir el tamaño de partícula de todas las muestras, demostrando una alta eficiencia en el proceso de reduccion del tamaño de partícula por ultrasonido como en Berrones, M. D.

L. Á., & Lascano, L. (2009) y en Carrillo-González, R. (2018). Reafirmando la alta eficiencia del baño ultrasónico para la disminución del tamaño de partícula [12].

3.2.4 Analisis elemental (EDS)

Se realizó un EDS en conjunto de SEM, para corroborar la composición química de la HAp, además de proporcionarnos los porcentajes de cada uno de los elementos presentes en la muestra de la HAp. En la *fig 21.* Se muestran las imagenes emitidas de los resultados cuantitativos, detectando la presencia de O, P y Ca, elementos caracteristicos de la HAp, comprobando los porcentajes de cada uno de los elementos, así como la comparación de los porcentajes con el del esmalte dental [4,5,16,47].

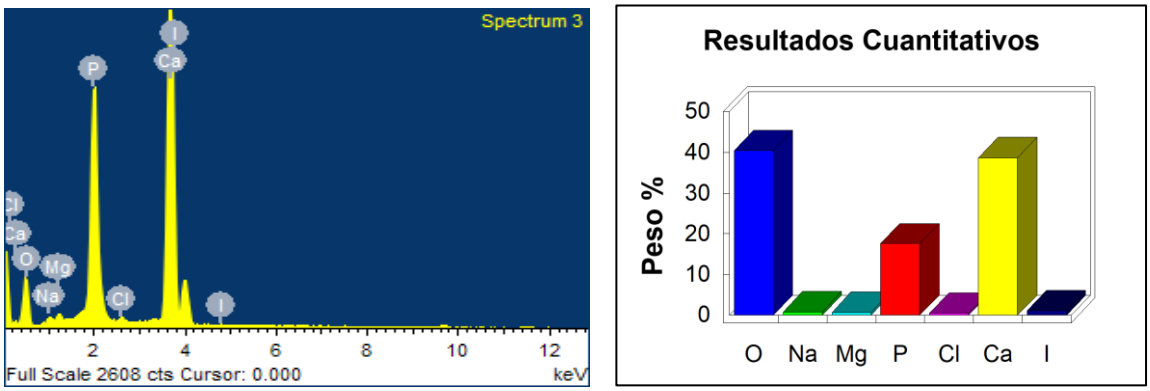


Fig 21. a) Patrón SEM de la HAp b) Composición química de la hidroxiapatita mediante EDS.

Tabla 10. Composición química de la HAp obtenida del análisis elemental.

ELEMENTO	SÍMBOLO	PORCENTAJE %
Oxigeno	O	40.48
Calcio	Ca	38.69
Fosforo	P	17.59
Mezcla de diferentes elementos	-	3.24
TOTAL		100%

Los porcentajes de cada elemento plasmados en el EDS obtenidos en conjunto de SEM se comprueban en Parra Vargas, C. A., Peña, J., Parra Vargas, U. A., & Cardona, L. (2011), debido a que los porcentajes son casi iguales según la bibliografia. Reafirmando la composicion quimica de la HAp [70].

3.3 Evaluación de la calidad de la pasta dental

Se realizaron pastas dentales con los diferentes tamaños de partículas, y cada una de las pastas se realizó por triplicado, por ello las pruebas de calidad se realizaron a todas las pastas dentales. Separándolas por primer, segundo, y tercer bloque. Además, se determinó la desviación estándar para cada una de las pruebas de calidad con el objetivo de medir la dispersión en los datos obtenidos de cada una de las pruebas.

3.3.1 Determinación de abrasión

La determinación de abrasión es la evaluación más importante para la pasta dental, debido a que se empleó el ultrasonido con el fin de obtener un tamaño de partículas más reducido y con esto evitar que la pasta dental fuera abrasiva.

De acuerdo con la norma de abrasión se podía determinar de dos maneras, por las raspaduras presentes en el portaobjetos y por la pérdida de peso de cada portaobjetos. Debido a que es una característica fundamental en el presente estudio, se realizaron los dos métodos para determinarla. En la *tabla 10* se presenta los resultados obtenidos mediante la determinación de abrasión por la longitud de raspadura en el portaobjeto.

Las raspaduras en el portaobjetos se determinaron dependiendo de su longitud, por lo tanto, la raspadura muy ligera tenía una longitud entre 0-2 mm, la raspadura ligera tenía una longitud entre 3-5 mm y la raspadura pronunciada tenía una longitud de más de 6 mm.

Tabla 11. Resultados de la determinación de abrasión con longitud de raspadura.

	Primer bloque		Segundo bloque		Tercer bloque	
Pasta dental	Presencia de raspadura	Longitud de raspadura (mm)	Presencia de raspadura	Longitud de raspadura (mm)	Presencia de raspadura	Longitud de raspadura (mm)
PD-0	Pronunciada	8	Pronunciada	7.5	Pronunciada	7.5
PD-1	Pronunciada	7	Pronunciada	7.8	Pronunciada	7.9
PD-2	Pronunciada	6	Pronunciada	6.2	Ligera	5.9
PD-3	Ligera	5	Ligera	5.5	Ligera	5.3
PD-4	Ligera	3	Muy ligera	2	Muy ligera	2
PD-5	Muy ligera	0.5	Muy ligera	0.2	Muy ligera	0.3

La pasta dental con menor tamaño de partícula (PD-5) demostró que se encuentra con el correcto cumplimiento de la norma para abrasión debido a que el portaobjeto resultó con menor daño.

Fig 22. Portadiscos después de la prueba de abrasión con PD-5.

Por otro lado, se determinó la desviacón estándar de la longitud de las raspaduras en los portaobjetos, con el objetivo de medir las dispersión de los datos obtenidos.

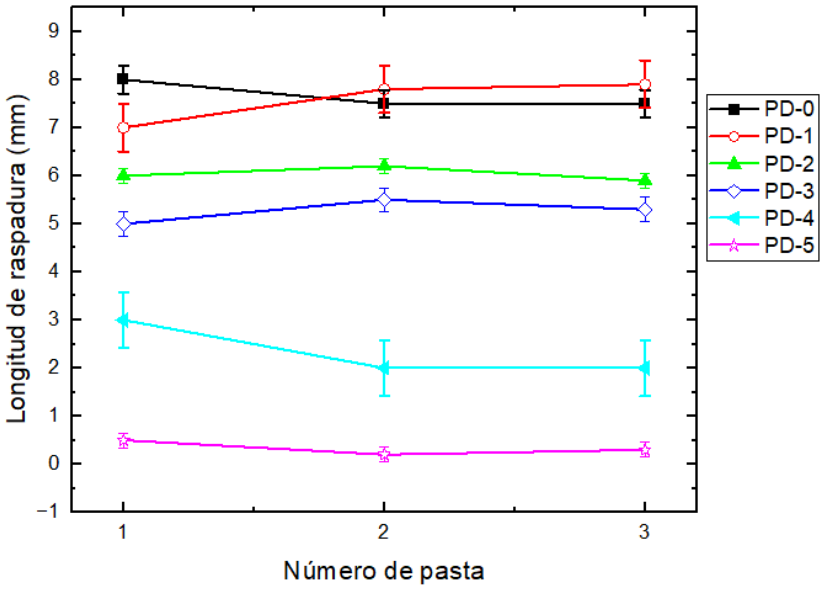


Fig 23. Desviación estándar de la longitud de raspadura en portaobjetos.

Además de medir la longitud de raspadura, se pesaron los portaobjetos para verificar la cantidad pérdida mendiante la evaluación de abrasión. Nuevamente de comprobó que el portaobjetos que perdió menor peso fue el utilizado para PD-5.

Tabla 12. Peso de portaobjetos después de la prueba de abrasión.

Pasta dental	Primer bloque	Segundo bloque	Tercer bloque
PD-0	4.5527	4.5295	4.5418
PD-1	4.7905	4.7875	4.7843
PD-2	4.8052	4.8389	4.8411
PD-3	4.9184	4.9432	4.9561
PD-4	4.9894	4.9609	4.9576
PD-5	5.0455	5.0352	5.033

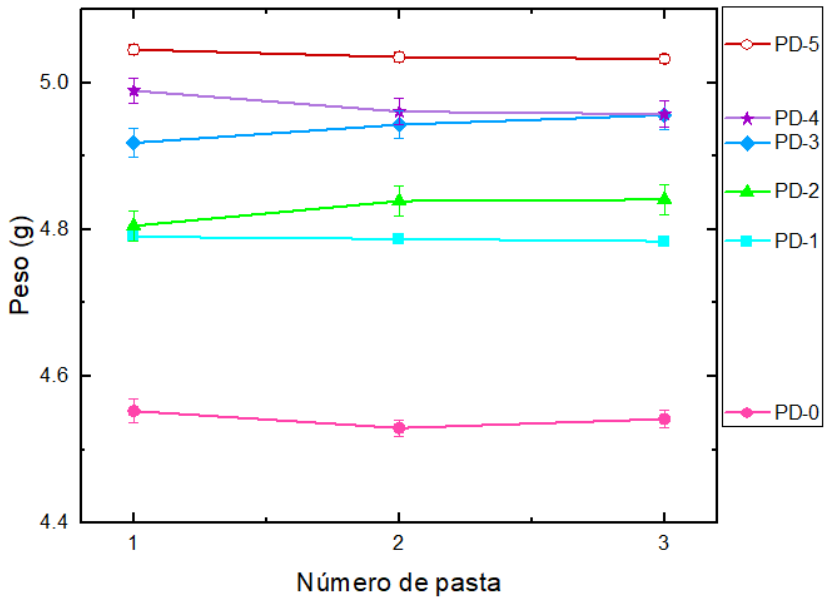


Fig 24. Desviación estándar del peso de los portaobjetos después de la prueba.

3.3.2 Determinación de consistencia

De acuerdo a la norma el intervalo establecido para la consistencia es de 25-65 mm. En la *fig 25* se observa que todas las muestras cumplieron de acuerdo con los datos establecidos en la norma.

Fig 25. Procedimiento para determinar consistencia de pasta dental.

Tabla 13. Medida del desplazamiento de la pasta dental después de la prueba de consistencia.

Pasta dental	Primer bloque	Segundo bloque	Tercer bloque
PD-0	39	37	37
PD-1	46	41	41
PD-2	50	47	47
PD-3	48	41	41
PD-4	54	46	46
PD-5	37	38	45

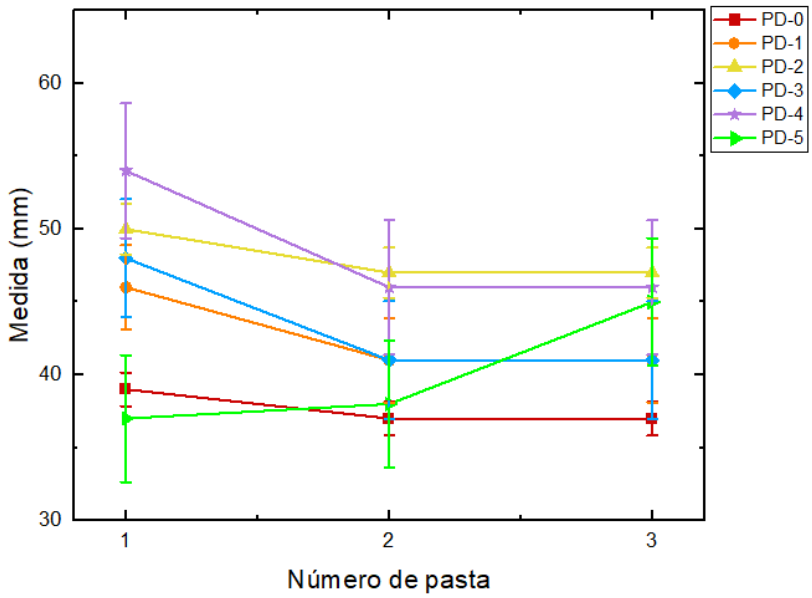


Fig 26. Desviación estándar de la medida de desplazamiento de la pasta después de la prueba.

3.3.3 Determinación de pH

La determinación de pH en todas las muestras de pasta dental demostró que todas cumplen correctamente con la norma, obteniendo un pH en un intervalo de 4.5 a 10 tal como lo marca la norma.

Fig 27. Potenciómetro midiendo el pH de las pastas dentales.

Tabla 14. pH obtenido de las pastas dentales

Pasta dental	Primer bloque	Segundo bloque	Tercer bloque
PD-0	8.59	8.59	8.60
PD-1	8.91	8.94	8.93
PD-2	8.54	8.51	8.54
PD-3	8.73	8.74	8.76
PD-4	8.33	8.36	8.33
PD-5	8.63	8.63	8.64

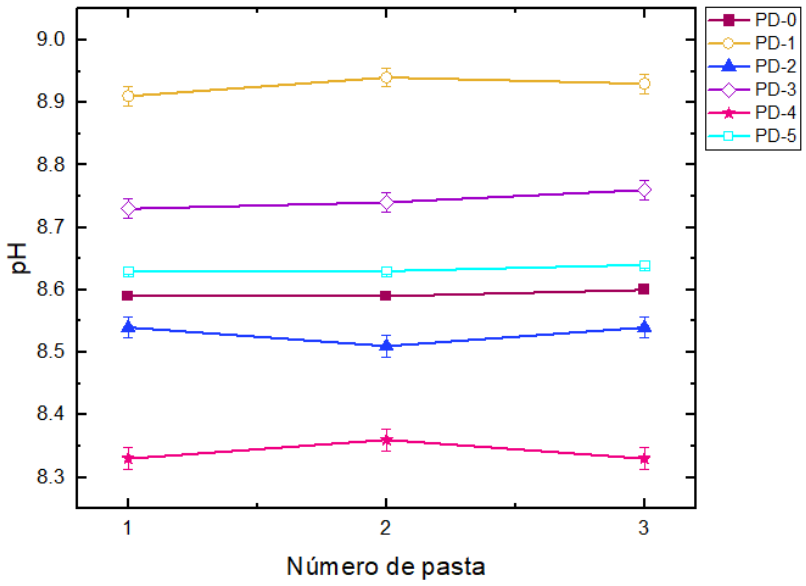


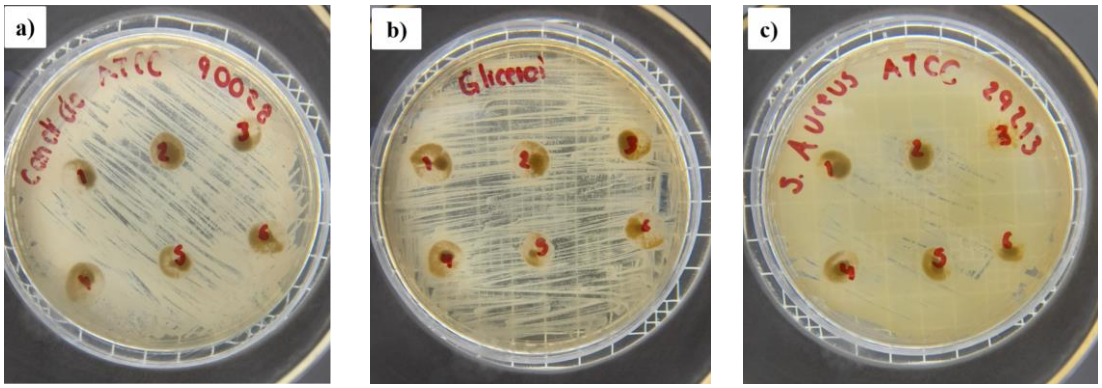
Fig 28. Desviación estándar del pH obtenido de las pastas dentales.

3.3.4 Determinación de microorganismos

La determinación de microorganismos en las pastas dentales es la prueba de calidad más importante y complicada, debido a precaución y seguridad de los usuarios. La norma tiene como objetivo evitar cualquier tipo de crecimiento bacteriano, así como la inhibición ante diferentes bacterias.

Para la determinación de la norma se utilizaron cuatro bacterias, y en medios de cultivos diferentes, debido a que cada bacteria crece en diferentes medios de cultivo: a) Cándida ATCC 90028, d) E. Coli ATCC 2592, c) S. Aureus ATCC 29213 se colocaron en Mueller Hinton, mientras que las dos muestras glicerol b) y e) en MRS.

Se colocaron todas las muestras de pastas dentales por encima de cada bacteria, enumerándolos de la siguiente manera: en el 1 se colocó PD-0, en 2 PD-1, en 3 PD-2, en 4 PD-3, en 5 PD-4 y en 6 PD-5.



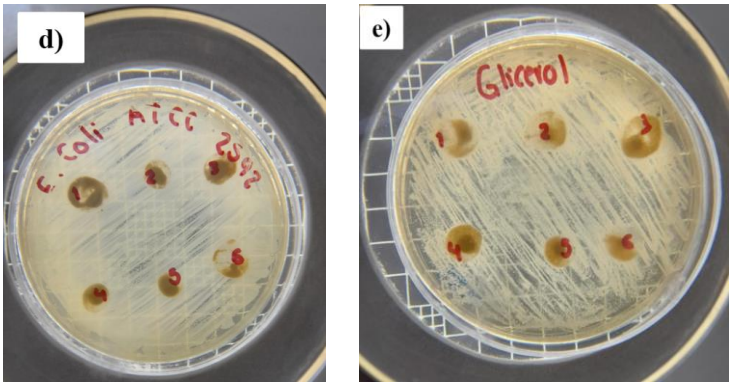


Fig 29. Prueba de microorganismos para pastas dentales.

El estriado para el crecimiento bacteriológico fue exitoso; sin embargo, ninguna de las pastas dentales logró inhibición en las muestras. En la muestra de S. Aureus c) en la pasta PD-1 se observó la formación de un halo, no obstante, el halo formado no fue de inhibición; sin embargo, la formación del halo se debe a la difusión de los componentes en la pasta dental en el medio de cultivo, y a este tipo de halo se le denomina “halo de difusión”.

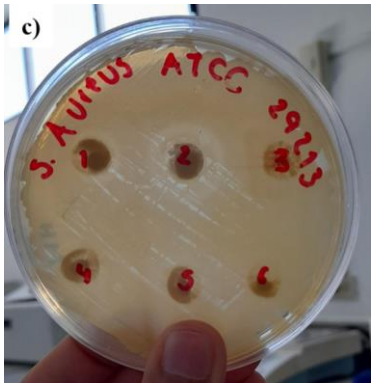


Fig 30. Halo de distribución en PD-1 en S. Aureus ATTC 29213

Existen diversos factores por los que ninguna de las pastas dentales inhibió el crecimiento bacteriano; sin embargo, pese a que ninguna de las pastas dentales inhibió el crecimiento bacteriano, se ha demostrado en diferentes publicaciones que el Qs es un excelente agente antimicrobiano, logrando inhibir bacterias como E. Coli y S. Aureus, además de mejorar la salud bucal de diferentes maneras [71,72,73,74].

CONCLUSIONES

La obtención de HAp natural mediante el método de calcinación fue exitosamente, debido a que se recuperó el 60% del peso total, perteneciente únicamente la fase inorgánica de los endoesqueletos del pescado. Mientras que para la caracterización de la muestra por medio de FTIR, DRX y SEM presentaron resultados específicos demostrando que el tratamiento térmico resalta las características de la HAp. Además, el método para reducción del tamaño de partícula por medio de ultrasonido demostró ser altamente efectivo, debido a que se obtuvieron diferentes tamaños de partícula, siendo de 247 nm el tamaño más pequeño y el más efectivo en la mayoría de las pastas dentales.

La elaboración de las pastas dentales por el medio en caliente fue el ideal, debido a que se obtuvieron mezclas completamente homogéneas y con la consistencia ideal para el correcto cumplimiento de la norma para dentífricos.

Por último, los resultados obtenidos de la evaluación de la calidad de la pasta dental fueron diferentes, debido a que para la prueba de abrasión la mayoría de las pastas dentales no cumplió con la norma, así como la determinación de microorganismos en donde ninguna de las pastas logró inhibir ninguna de las bacterias empleadas para dicha prueba; sin embargo, el Qs ha demostrado ser un excelente agente antimicrobiano y aporta beneficios extraordinarios a la salud bucal. Para la prueba de prueba de pH y de consistencia se obtuvieron resultados favorecedores, debido a que todas las pastas dentales cumplieron de manera correcta a la norma para dentífricos.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Friesen-Pankratz, B., Bautista, L. G., de Jesús Meza, Z., Reyes, S. G., & Wiebe, A. (2011). El Manejo de los residuos en una comunidad rural de México: Prácticas actuales y planes futuros. *Hacia la sustentabilidad: los residuos sólidos como fuente de energía y materia prima*, 451-455.

[2] Kim, S. K., & Mendis, E. (2006). Bioactive compounds from marine processing byproducts–a review. *Food research international*, *39*(4), 383-393.

[3] Figueroa-Rosales, E. X., Benítez-Maldonado, D. V., Martínez-Juárez, J., Hernández-De la Luz, A. D., & Robles-Águila, M. J. (2023). HIDROXIAPATITA: UN BIOMATERIAL FUERA DE SERIE. *RD-ICUAP*, 126-134.

[4] Akram, M., Ahmed, R., Shakir, I., Ibrahim, W. A. W., & Hussain, R. (2014). Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources. Journal of Materials Science, 49(4), 1461–1475. https://doi.org/10.1007/s10853-013-7864-x

[5] RESQUIN, L. S. M. (2023). *ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS NANOESTRUCTURALES DE LA HIDROXIAPATITA MEDIANTE DIFRACCIÓN DE RAYOS-X* (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN).

[6] Yelten-Yilmaz, A., & Yilmaz, S. (2018). Wet chemical precipitation synthesis of hydroxyapatite (HA) powders. *Ceramics International*, *44*(8), 9703-9710.

[7] Thirumalai, J. (2018). Introductory chapter: The testament of hydroxyapatite: New prospects in regenerative medicinal treatments. *Hydroxyapatite: Advances in composite nanomaterials, biomedical applications, and its technological facets*, 3-14.

[8] Luthfiyah, S., Soegijono, B., Susetyo, F. B., & Notonegoro, H. A. (2022). Comparing properties of bovine bone derived hydroxyapatite and synthetic hydroxyapatite. *Journal of Applied Science and Engineering*, *25*(6), 1197-1203.

[9] Lin, K., & Chang, J. (2015). Structure and properties of hydroxyapatite for biomedical applications. In *Hydroxyapatite (HAp) for biomedical applications* (pp. 3-19). Woodhead Publishing.

[10] Ebadifar, A., Nomani, M., & Fatemi, S. A. (2017). Effect of nano-hydroxyapatite toothpaste on microhardness of artificial carious lesions created on extracted teeth. *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects*, *11*(1), 14.

[11] SANGI CO., LTD. (s. f.). SANGI CO., LTD. https://www.sangi-co.com/en/

[12] Carrillo-González, R. (2017). SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS DE HIDROXIAPATITA Y SU TOXICIDAD EN LECHUGA (Lactuca sativa L.). *Agro Productividad*, *10*(12).

[13] Bang, J. H., & Suslick, K. S. (2010). Applications of ultrasound to the synthesis of nanostructured materials. *Advanced materials*, *22*(10), 1039-1059.

[14] Suslick, KS y Price, GJ (1999). Aplicaciones del ultrasonido a la química de materiales. *Revista anual de ciencia de materiales*, *29* (1), 295-326.

[15] *PROGRAMA DE GESTIÓN INTEGRAL DE RESIDUOS PARA LA CIUDAD DE MÉXICO PGIR 2021-2025* Del Medio Ambiente, S. (s. f.). *Residuos sólidos*. Secretaría del Medio Ambiente. https://sedema.cdmx.gob.mx/programas/programa/residuos-solidos

[16] De Agricultura y Desarrollo Rural, S. (s. f.-b). Residuos pesqueros, recursos aprovechables. gob.mx. https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/residuos-pesqueros-recursos-aprovechables

[17] De Agricultura y Desarrollo Rural, S. (s. f.). Nada se tira, todo se aprovecha: residuos pesqueros. gob.mx. https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/nada-se-tira-todo-se-aprovecha-residuos-pesqueros

[18] Hernández-Cocoletzi, H., Salinas, R. A., Águila-Almanza, E., Rubio-Rosas, E., Chai, W. S., Chew, K. W., ... & Show, P. L. (2020). Natural hydroxyapatite from fishbone waste for the rapid adsorption of heavy metals of aqueous effluent. *Environmental Technology & Innovation*, *20*, 101109.

[19] García-Garduño, M. V., & Reyes-Gasga, J. (2006). La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. *TIP Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, *9*(2), 90-95.

[20] AMANCA, F. M. (2018). *Síntesis y caracterización estructural de hidroxiapatita dopada con plata mediante el método sol-gel* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Mayor de San Marcos).

[21] Rojas, R., Sepúlveda, N., & Cartes-Velásquez, R. (2020). Uso de hidroxiapatita como recubrimiento en odontología. Una revisión breve. *Applied Sciences in Dentistry*, *1*(3).

[22] Pushpalatha, C., Gayathri, V. S., Sowmya, S. V., Augustine, D., Alamoudi, A., Zidane, B., ... & Bhandi, S. (2023). Nanohydroxyapatite in dentistry: A comprehensive review. *The Saudi Dental Journal*, *35*(6), 741-752.

[23] Cardona, J. C. O., Zuluaga, I. M., Sossa, P. A. F., Arango, P. J. A., & Parra, E. R. (2014). Síntesis y caracterización de la hidroxiapatita natural obtenida del hueso de cerdo. *Revista Colombiana de Materiales*, (5), 165-171.

[24] Sequeda, L. G., Díaz, J. M., Gutiérrez, S. J., Perdomo, S. J., & Gómez, O. L. (2012). Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, *41*(1), 50-66.

[25] Enax, J., & Epple, M. (2018). Synthetic hydroxyapatite as a biomimetic oral care agent. *Oral health & preventive dentistry*, *16*(1).

[26] De Salud, S. (s. f.). 082. Caries, gingivitis y maloclusión, afecciones bucales más comunes entre la población mexicana. gob.mx. https://www.gob.mx/salud/prensa/082-caries-gingivitis-y-maloclusion-afecciones-bucales-mas-comunes-entre-la-poblacion-mexicana

[27] Campos Vaquero, B. (2011). Síntesis y caracterización de los sistemas Eu (2 subíndice) O (3 subíndice) y Gd (2 subíndice) O (3 subíndice) por molienda mecánica.

[28] Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, *5*(1), 69-81.

[29] Leonel, E. C., Nassar, E. J., Ciuffi, K. J., Dos Reis, M. J., & Calefi, P. S. (2014). Effect of high-energy ball milling in the structural and textural properties of kaolinite. *Cerámica*, *60*, 267-272.

[30] González, E., González, A., Castro, R., Luna, H., & Chávez, A. (2015). Implementación de la técnica de doble emulsión para la microencapsulación polimérica de moléculas iónicas. *Rev. Ib. Ci*, *2*, 117-125.

[31] Muñoz, Á. I. N., Martínez, I. T. M., Chávez, K. A. G., Vázquez, M. F. Z., Landeros, M. Á. P., & Ramírez, A. M. (2024). Síntesis de zeolitas mediante el método hidrotermal asistido por sonicación/sembrado. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, *28*.

[32] Suslick, K. S., & Price, G. J. (1999). Applications of ultrasound to materials chemistry. *Annual Review of Materials Science*, *29*(1), 295-326.

[33] Berrones, M. D. L. Á., & Lascano, L. (2009). Síntesis de nanopartículas de hematita por el método de precipitación controlada.

[34] Hernández Cocoletzi, H., Águila Almanza, E., Flores Agustín, O., Viveros Nava, E. L., & Ramos Cassellis, E. (2009). Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Superficies y vacío*, *22*(3), 57-60.

[35] DE QUITOSANO, E. D. E. A. (2023). *FACULTAD DE ODONTOLOGÍA* (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO).

[36] Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in polymer science*, *31*(7), 603-632.

[37] Patrulea, V., Ostafe, V., Borchard, G., & Jordan, O. (2015). Chitosan as a starting material for wound healing applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *97*, 417-426.

[38] Rambabu, K., Bharath, G., Banat, F., Show, P. L., & Cocoletzi, H. H. (2019). Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging. *International journal of biological macromolecules*, *126*, 1234-1243.

[39] Mir, V. G., & Amaya, I. E. E. (2022). Diseño de una crema cosmética con Salvia Hispánica L. (Chía) y quitosano. *Revista Ciencia UNEMI*, *15*(40), 75-84.

[40] Capitillo-Maita, D., Castillo-Rivas, J., Gil-Álvarez, J. A., & Pérez-Torres, T. (2023). Uso de quitosano como coagulante y floculante en el tratamiento de aguas residuales provenientes de plantas de pegamento y pintura. *Informador Técnico*, *87*(2), 120-132.

[41] Rincón, M. N. C., Castellano, I. G. M., Caldera, Y. F. Z., & de Márquez, R. A. L. (2021). Estudio Sobre la Aplicación de Quitosano para la Cura de Lesiones y Heridas de la Piel.

[42] Valencia, G. A. (2015). Efecto antimicrobiano del quitosano: una revisión de la literatura. *Scientia Agroalimentaria*, *2*.

[43] Luna-Domínguez, J. H., Téllez-Jiménez, H., Hernández-Cocoletzi, H., García-Hernández, M., Melo-Banda, J. A., & Nygren, H. (2018). Development and in vivo response of hydroxyapatite/whitlockite from chicken bones as bone substitute using a chitosan membrane for guided bone regeneration. *Ceramics International*, *44*(18), 22583-22591.

[44] Cárdenas, J. E. G., Hernández, D., López, M., González-Pérez, B., & Salas-Flores, R. (2022). Estudio clínico comparativo de la efectividad de la clorhexidina con quitosano al 0.1% vs clorhexidina convencional al 0.12% para el control de placa bacteriana y gingivitis en pacientes embarazada. *ARCHIVOS DE MEDICINA, SALUD Y EDUCACIÓN MÉDICA*, 83-88.

[45] Moore, P. A. (1998). Selecting drugs for the pregnant dental patient. *The Journal of the American Dental Association*, *129*(9), 1281-1286.

[46] Falcón, D. E., Enz, N., & Gili, M. A. (2023). Comparación de las características histológicas entre tejidos dentarios bovino y humano. *Revista Nacional de Odontología*, *19*(2), 1-8.

[47] Reyes-Gasga, J. (2021). Estudio del esmalte dental humano por microscopía electrónica. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, *9*(Especial2), 1-6.

[48] Martinez Ortiz, C. (2017). *Efecto de pastas y barnices de aplicación dental sobre la remineralización del esmalte* (Doctoral dissertation, Universidad de Murcia).

[49] You searched for Behind the Dazzling Smile - Cornucopia Institute. (s. f.). Cornucopia Institute. https://www.cornucopia.org/?s=Behind+the+Dazzling+Smile

[50] TOVALINO, F. R. M. (2022). *Eficacia abrasiva, remineralizante y antibacteriana de la pasta dental experimental a base de cáscara de huevo de codorniz (Coturnix coturnix)* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Mayor de San Marcos).

[51] Terrazas, M. E. R., Rojas, K. J. G., & Mier, A. B. (2024). Etiología microbiana de la caries dental: Análisis y Prevención. *Revista Científica de Odontología UNITEPC*, *3*(1), 13-28.

[52] Gómez de Ferraris, M., & Histología, C. M. A. (2002). embriología bucodental 2ª ed. *Madrid: Editorial Médica Panamericana*.

[53] Sánchez, C. C. (2010). Demineralization and Remineralization. The process in balance and dental caries. *Revista ADM Órgano Oficial de la Asociación Dental Mexicana*, *67*(1), 30-32.

[54] Rosas, I. M. J. (2021). Biomateriales que inducen la remineralización del esmalte dental y dentina. *Revista ADM Órgano Oficial de la Asociación Dental Mexicana*, *78*(4), 195-204.

[55] Pascual, A. P. (2021). *Remineralización dental: una intervención dirigida a niños de alto riesgo para la prevención de la caries* (Doctoral dissertation, Universidad de Murcia).

[56] ANTICARIES MECHANISM. (s. f.). SANGI CO., LTD. https://www.sangi-co.com/en/mechanism/index.html

[57] Sadurní, J. M. (2020, 12 agosto). El origen de la pasta de dientes. *historia.nationalgeographic.com.es*. https://historia.nationalgeographic.com.es/a/origen-pasta-dientes_15597

[58] Rosales, J. C., De la Cruz Cardoso, D., Chaires, I. C., & Mejía, M. A. (2014). Dentífricos fluorurados: composición. *Vertientes. Revista Especializada en Ciencias de la Salud*, *17*(2).

[59] Ingredientes más comunes de la pasta de dientes | Colgate (s.f) https://www.colgate.es/oral-health/selecting-dental-products/what-is-in-toothpaste-five-ingredients-and-what-they-do

[60] Lindhe, J., Karring, T., & Lang, N. P. (2009). *Periodontología clínica e implantología odontológica*. Ed. Médica Panamericana.

[61] Sánchez, M. J. M. (2000). Higiene bucodental. Pastas dentífricas y enjuagues bucales. *Offarm: farmacia y sociedad*, *19*(3), 69-78.

[62] Clerch, A. V., Juvé, J., & del Pozo, A. (2007). Pastas en cosmética: conceptos generales y elementos para su formulación. *Aula de la farmacia: revista profesional de formación continuada*, *3*(34), 68-73.

[63] Pareja, B. (2006). Preparación para la higiene bucal. Ciencia e Investigación, 9(1), 51-56.

[64] Oral health. (s. f.). Oral Health. https://www.cdc.gov/oral-health/index.html

[65] Advancing the nation's oral health through research and innovation | National Institute of Dental and Craniofacial Research. (s. f.). https://www.nidcr.nih.gov/

[66] Soria, C. B., & Soria, R. B. (2019). Pasta dental con nanopartículas de hidroxiapatita efectiva para el sellado de túbulos dentina-rios: un estudio in-vitro. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (Quito)*, *44*(1), 26-37.

[67] Rodríguez, E. M., & Jiménez, J. P. (1995). *Manejo pre, intra y postoperatorio del enfermo quirúrgico*. Universidad de Oviedo.

[68] Martínez Tolibia, S. (2013). Aprovechamiento de hueso de pescado en la elaboración de una pasta dental. [Tesis de licenciatura]. Facultad de Ingeniería Química. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

[69] Sun, L., Chow, LC, Frukhtbeyn, SA y Bonevich, JE (2010). Preparación y propiedades de nanopartículas de fosfatos de calcio con diversas proporciones Ca/P. *Revista de investigación del Instituto Nacional de Normas y Tecnología*, *115* (4), 243.

[70] Parra Vargas, C. A., Peña, J., Parra Vargas, U. A., & Cardona, L. (2011). Caracterización Estructural De Muestras Óseas De Hidroxiapatita. *Revista Colombiana de Física*, *43*(2), 438.

[71] Ramuka, P. K., Singh, D. K., Raha, T., & Chakraborty, D. ROLE OF CHITOSAN IN MAINTAINANCE OF GINGIVAL AND PERIODONTAL HEALTH. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, *9*(07), 2022.

[72] Torpol, K., Sriwattana, S., Sangsuwan, J., Wiriyacharee, P., & Prinyawiwatkul, W. (2019). Optimising chitosan–pectin hydrogel beads containing combined garlic and holy basil essential oils and their application as antimicrobial inhibitor. *International Journal of Food Science & Technology*, *54*(6), 2064-2074.

[73] Shin, Y., Yoo, DI y Min, K. (1999). Acabado antimicrobiano de tela no tejida de polipropileno mediante tratamiento con oligómero de quitosano. *Journal of applied polymer science*, *74* (12), 2911-2916.

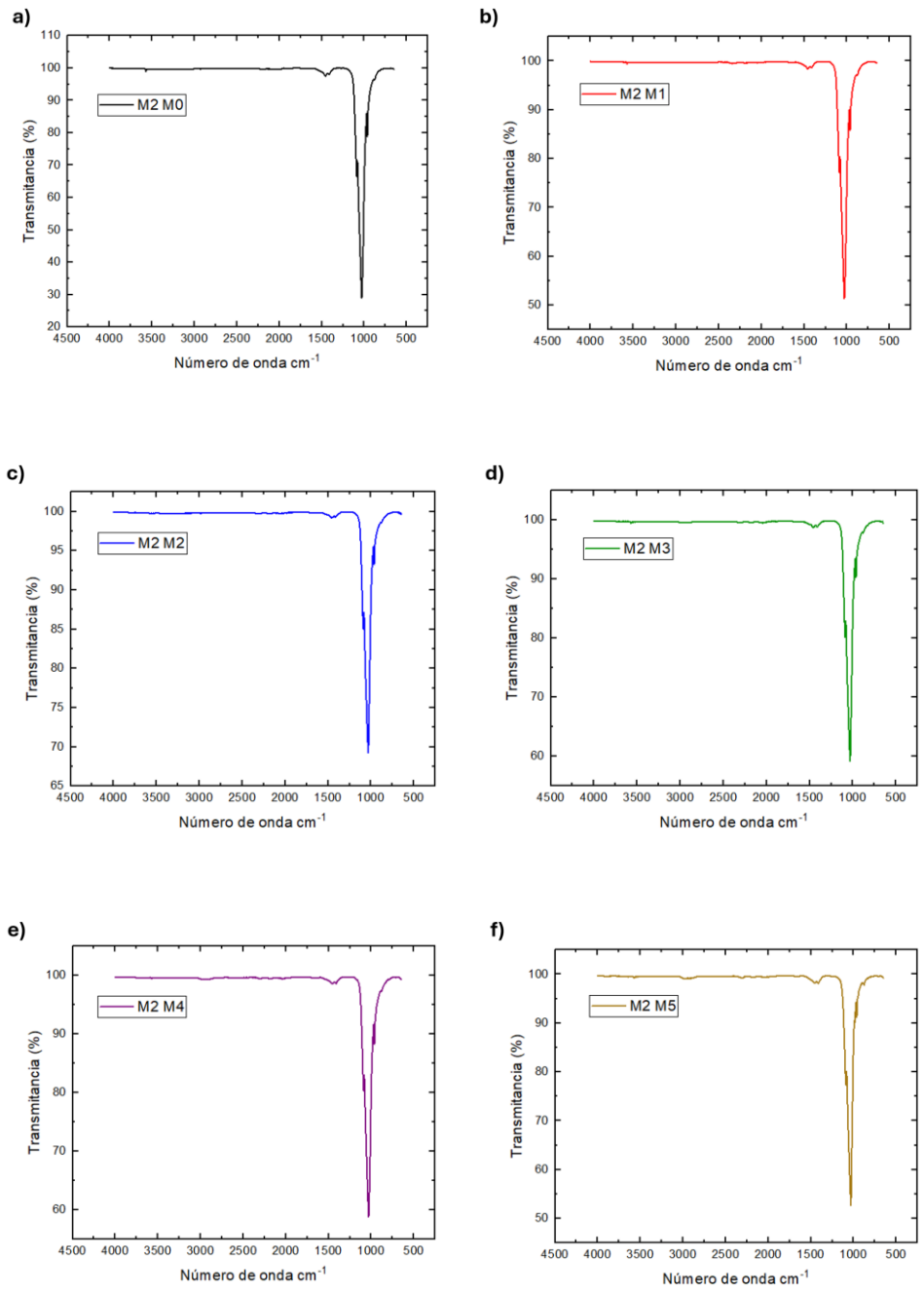
[74] Jeihanipour, A., Karimi, K., & Taherzadeh, M. J. (2007). Antimicrobial properties of fungal chitosan. *Research journal of biological sciences*, *2*(3), 239.

[75] Gates-Rector, S., y Blanton, T. (2019). El archivo de difracción de polvos: una base de datos de caracterización de materiales de calidad. *Difracción de polvos*, *34* (4), 352-360.

[76] Lorenzano Hernández, B. J. (2023). Diseño y caracterización de andamios de hidroxiapatita para su potencial uso en la regeneración ósea.

ANEXOS

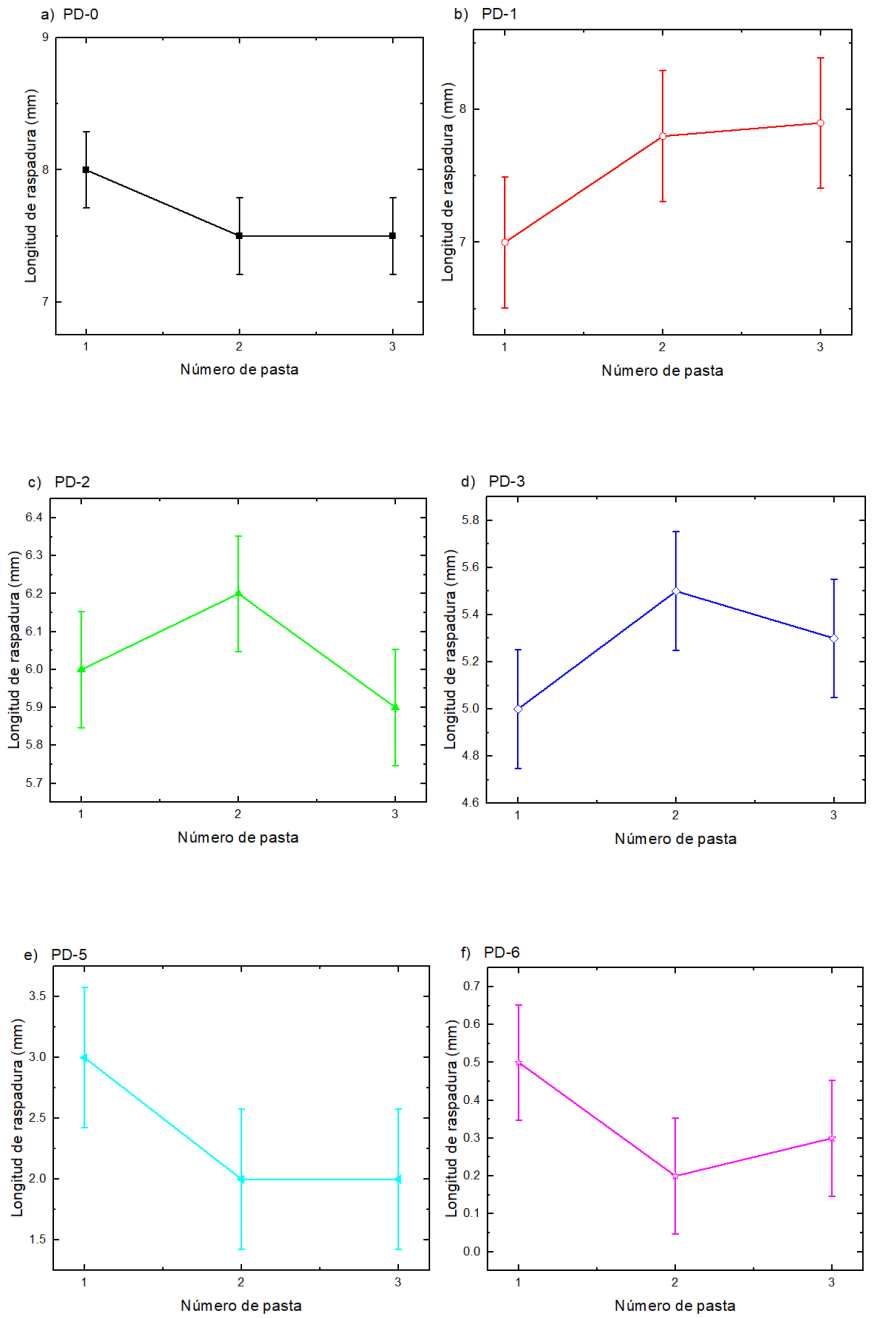
- Espectros FTIR de todas las muestras de HAp sonicadas



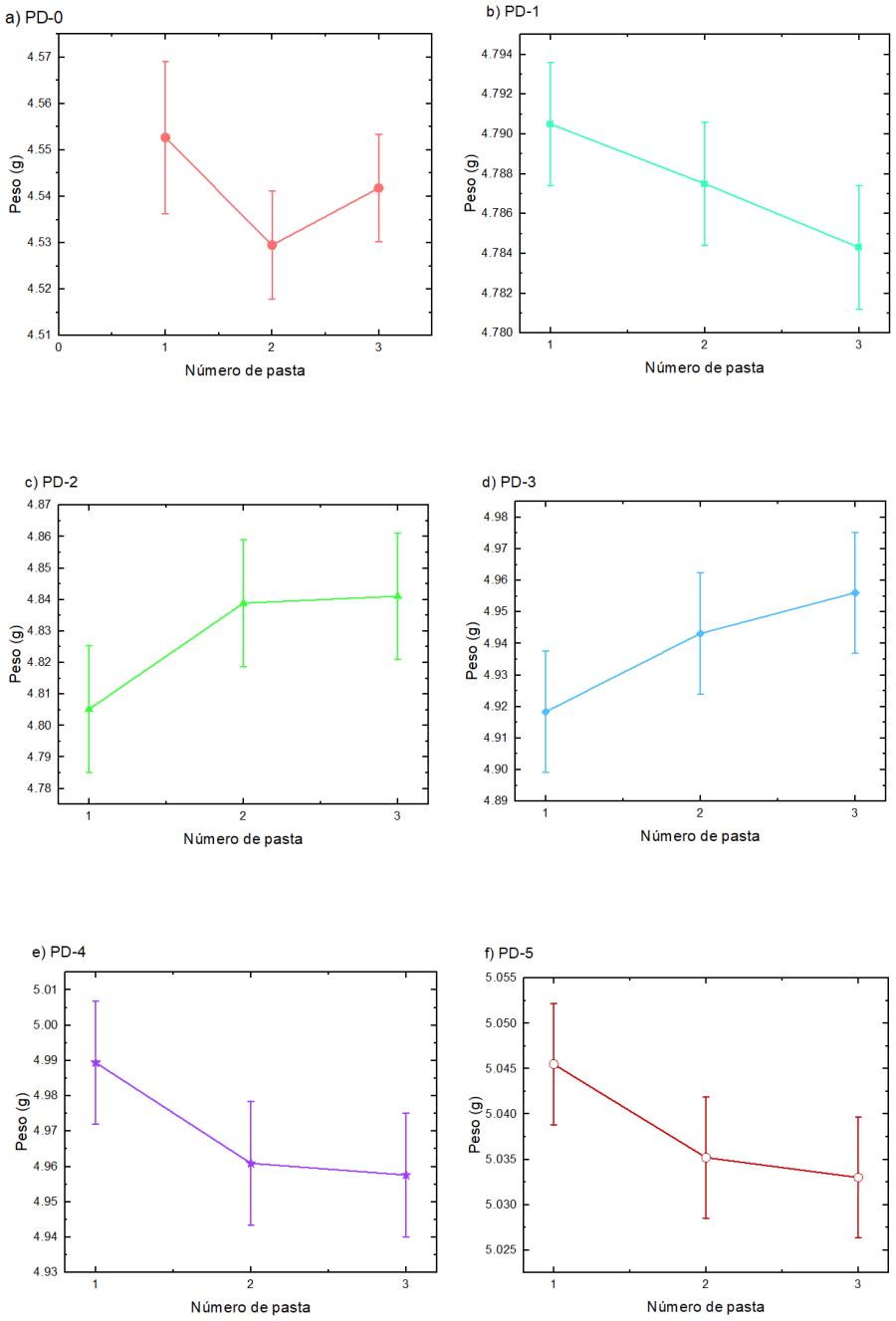
Desviación estándar pasta dental

Abrasión

- Desviación estándar de la longitud de raspadura

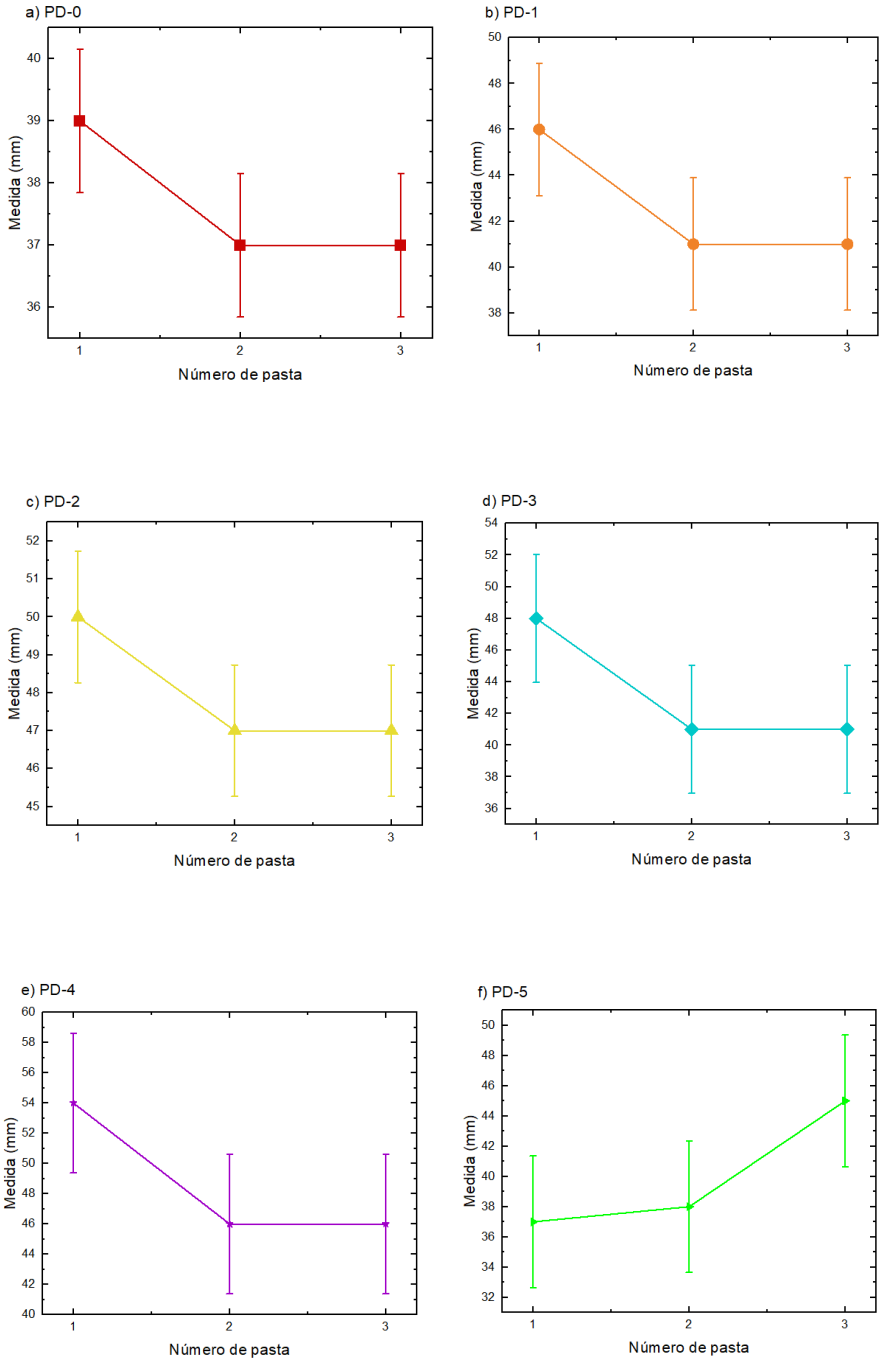


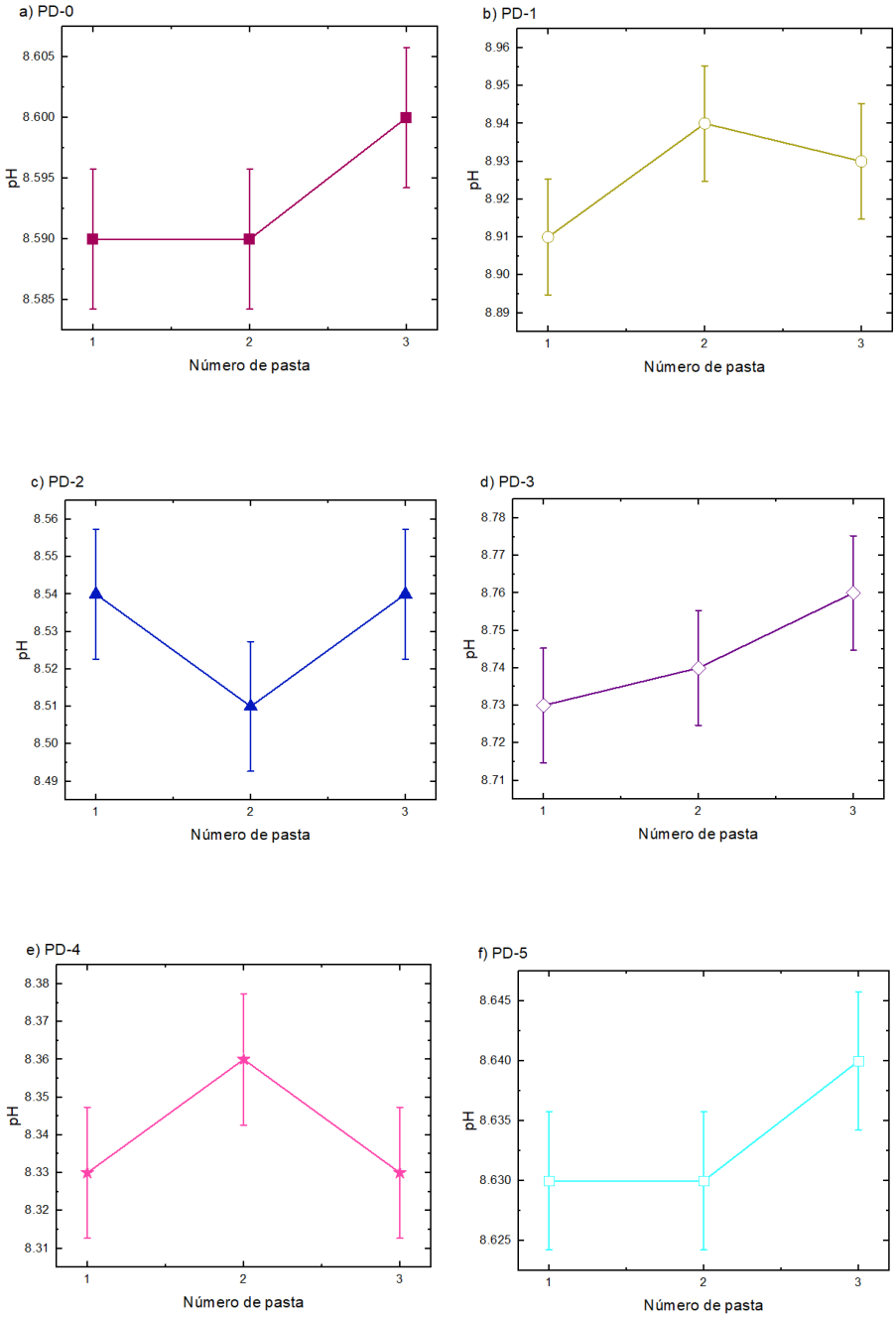
- Desviación estándar del peso de portaobjetos



Consistencia

- Desviación estándar de la medición del desplazamiento de la pasta dental



pH

- Desviación estándar del pH de las pastas dentales