

Evaluación *in vitro* de la Microdureza y la Microrugosidad del Esmalte Sometidos al Zumo de Tres Frutas Cítricas Amazónicas

In vitro Evaluation of the Enamel Micro-Hardness and Micro-Roughness Subjected to Three Amazonian Citrus Fruit Juices

Connie Vargas¹; Antonio Díaz-Suyo¹ & Mónica Hermoza²

VARGAS, C.; DÍAZ-SUYO, A. & HERMOZA, M. Evaluación *in vitro* de la microdureza y la microrugosidad del esmalte sometidos al zumo de tres frutas cítricas amazónicas. *Int. J. Odontostomat.*, 19(2):145-149, 2025.

RESUMEN: El alto consumo de frutas cítricas se debe a sus beneficios para el sistema inmunológico. Sin embargo, el pH de estas frutas es inferior al pH crítico del esmalte dental, y su consumo continuo puede dañar las superficies dentales y causar hipersensibilidad, especialmente en adultos jóvenes, quienes son más susceptibles a estos daños. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la microdureza y microrugosidad del esmalte de dientes bovinos sometidos al zumo de tres frutas amazónicas: toronja (*Citrus* sp.), injerto de naranja-limón (*Citrus sinensis* x *citrus limon*) y camu camu (*Myrciaria dubia*). Para realizar el desafío erosivo, se midió el pH de las tres frutas. La toronja presentó un pH de 2,33, el injerto de naranja-limón un pH de 2,46 y el camu camu un pH de 2,58. Los especímenes fueron expuestos al zumo de estas frutas durante cinco minutos, tres veces al día, durante catorce días. Se evaluaron la microdureza y la microrugosidad inicial y final de los especímenes. Para comparar los valores antes y después de la exposición a las frutas cítricas, se utilizaron las pruebas t de Student para muestras pareadas y Wilcoxon. Para comparar los resultados de cada variable, se emplearon las pruebas de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney. Las frutas utilizadas en esta investigación disminuyeron la microdureza y aumentaron la rugosidad de la superficie del esmalte de dientes bovinos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar el efecto erosivo entre las tres frutas cítricas. Sin embargo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los valores de microdureza y microrugosidad iniciales y finales de los especímenes de esmalte.

PALABRAS CLAVE: dureza, rugosidad, cítricos, erosión, pH.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, ha aumentado significativamente la frecuencia de consumo de bebidas ácidas en sus diversas formas, como bebidas industrializadas, isotónicas y deportivas, en la población en general (Dündar *et al.*, 2018). Este cambio de hábito también ha resultado en alteraciones en la anatomía dental, tales como desgastes, pigmentaciones, y cambios en forma y textura. Como consecuencia, es común observar en la actualidad pacientes con diversos grados de desgaste dental y pérdida de estructura dentaria. La disolución ácida irreversible del diente en ausencia de microorganismos patógenos se denomina erosión dental (Steiger-Ronay *et al.*, 2018; Warreth *et al.*, 2020). Factores como el flujo salival, el pH y la capacidad amortiguadora son cruciales en el desarrollo de estas lesiones (Lussi *et*

al., 2019). Por otro lado, el potencial erosivo de alimentos y bebidas determina el grado de desmineralización de los dientes (Santos *et al.*, 2019).

El aumento en la frecuencia de consumo de bebidas con bajo pH se correlaciona con un incremento en las lesiones no cariosas (Silva *et al.*, 2021). Aunque tradicionalmente se considera que el pH crítico para la disolución del esmalte es 5.5, la pérdida mineral puede iniciarse incluso a pH superiores (Rajeev *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2022), debido al desequilibrio entre los iones de hidrógeno ácidos y los fosfatos de calcio del esmalte dental (Cawson, 2018). Por lo tanto, el porcentaje de desmineralización del esmalte dependerá del pH, la concentración de iones minerales en los fluidos circundantes y la duración de la

¹ Escuela de Estomatología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

² Escuela de Posgrado, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

exposición (Eid & Anass, 2014; Philip, 2019). Las propiedades de la estructura dentaria que se ven afectadas por estos procesos erosivos son la microdureza y la microrugosidad (Meira *et al.*, 2021).

El consumo de frutas cítricas en las diferentes regiones, especialmente en la selva amazónica, como la toronja (*Citrus* sp.), injerto de naranja-limón (*Citrus sinensis x citrus limon*) y camu camu (*Myrciaria dubia*) es frecuente debido a su alto contenido de vitamina C, crucial para fortalecer el sistema inmunológico, mejorar la salud cutánea y favorecer la absorción de hierro. Sin embargo, debido a su pH ácido, su consumo continuo puede dañar las superficies dentales (Ortiz-Ruiz *et al.*, 2018; Pelá *et al.*, 2018; Vilas-Boas *et al.*, 2022). La población más susceptible a estos efectos adversos son los adultos jóvenes, que hoy en día pueden presentar el síndrome de envejecimiento precoz de la salud bucal, debido a ciertos hábitos dietéticos ácidos, en ausencia de microorganismos patógenos y comportamientos parafuncionales (Favaro *et al.*, 2019; Teixeira *et al.*, 2020).

Este estudio permitirá informar a las nuevas generaciones de profesionales de la salud bucal sobre la pérdida de estructura dentaria, el desgaste y las manifestaciones clínicas más prevalentes en la práctica dental. Asimismo, busca concienciar a los clínicos sobre este problema, que afecta la calidad de vida de los pacientes, y proponer estrategias de prevención para mitigar estos daños en la estructura dental.

El objetivo de este estudio fue evaluar la microdureza y microrugosidad del esmalte dental de dientes bovinos expuestos al zumo de tres frutas amazónicas: toronja (*Citrus* sp.), injerto de naranja-limón (*Citrus sinensis x citrus limon*) y camu camu (*Myrciaria dubia*).

MATERIAL Y MÉTODO

Después de haber obtenido la aprobación de Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Científica del Sur, con número de registro de aprobación 007-2021-POS; se realizó el diseño de estudio experimental *in vitro*. A través de una prueba piloto se intentó analizar el tamaño de la muestra, con la fórmula de comparación de dos medias con un nivel de confianza de 95 %, poder estadístico del 80 y una precisión de 250,88. De esta manera, la muestra estuvo formada por 60 piezas dentarias de bovino sano, constituidas en 10 por cada grupo de estudio (Mazilao *et al.*, 2019). Las muestras fueron distribuidas

en grupos usando un muestreo aleatorio simple. Los criterios de inclusión fueron: incisivos de bovinos recientemente extraídos, sanos, sin lesiones de caries, sin fisuras, sin fracturas y sin desgaste dental.

Preparación de especímenes. Los incisivos centrales bovinos se colocaron en envases cerrados con agua destilada. Se realizó la limpieza del diente bovino con curetas periodontales Gracey (Hu-Friedy®, Chicago, IL, USA) y ultrasonido. Posteriormente, se realizó profilaxis con agua destilada y escobillas Robinson con una pieza de mano de baja velocidad. De cada corona dentaria, se obtuvieron especímenes de 4 mm x 4 mm x 2 mm para los ensayos de microdureza y especímenes de 5 mm x 5 mm x 2 mm para los ensayos de microrugosidad. Para obtener cada espécimen, se usaron discos de corte con una pieza de baja velocidad en el tercio medio de la superficie vestibular hacia lingual. Los especímenes obtenidos se fijaron en bases acrílicas circulares de PVC de 3/4 de 1 cm de altura (Fig. 1). Se realizó el pulido de las superficies del esmalte con lijas de granulación de 600 sc por 60 segundos y 1200 sc por un período de 10 segundos; entre una lija y otra los especímenes fueron lavados con agua destilada. Cada muestra se colocó en envases herméticos con agua destilada para mantenerlas hidratadas hasta el momento del estudio. Los grupos formados fueron: Grupo 1 (Microdureza-zumo de toronja), Grupo 2 (Microdureza - Zumo de naranja con limón), Grupo 3 (Microdureza- Zumo de camu camu), Grupo 4 (Microrugosidad- zumo de toronja), Grupo 5 (Microrugosidad - Zumo de naranja con limón) y Grupo 6: (Microrugosidad- Zumo de camu camu).

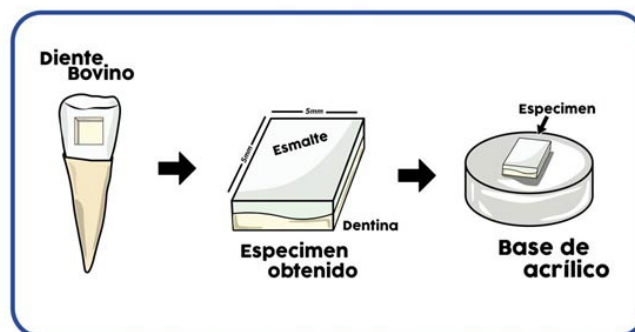


Fig. 1. Obtención del espécimen.

Obtención del zumo de frutas. El zumo de las frutas se obtuvo de forma manual usando guantes de examen, antes de realizar cada desafío de erosión. Se usaron 20 mL de zumo de fruta para cada envase, cubriendo totalmente la muestra.

Medición del pH del zumo de frutas. Para analizar los niveles de pH del zumo de frutas, se usó el un pHmetro (Pasco Exttech). Previa a la lectura, el equipo fue calibrado en dos soluciones estándar: agua destilada y saliva artificial. Los promedios de las mediciones del pH fueron: Toronja (pH = 2,33), Injerto de naranja con limón (pH = 2,46), Camu camu (pH = 2,58).

Desafío erosivo. La inmersión de los especímenes en los envases de frutas cítricas (20 mL de zumo por envase), fue por un período de 5 minutos, 3 veces al día (cada 8 horas), durante catorce días, de acuerdo a la metodología de Rios *et al.* (2009). Después de cada desafío, se lavaron los especímenes y los envases con agua destilada. Se realizaron los cambios tres veces por día. Al finalizar el último desafío (día 14), después del respectivo lavado de los especímenes y sus envases, las muestras fueron evaluadas para la medición final.

Microdureza superficial. Para la evaluación de microdureza superficial, se empleó dureza Vickers con un microdurómetro (HV-1000, 23). La microdureza fue medida antes y después del desafío erosivo, aplicando una carga de 100 g por 15 segundos sobre el esmalte erosionado. Se realizaron 3 indentaciones espaciadas entre sí por 100 μm ; posteriormente, las medidas obtenidas fueron promediadas.

Evaluación de microrugosidad. Para la evaluación de la microrugosidad superficial promedio (R_a , mm), se midió con el rugosímetro digital (HUACTION I.I). La microrugosidad fue medida antes y después del desafío

erosivo. Cada espécimen se midió 5 veces en diferentes direcciones, que se ubicaron cerca del centro de la muestra; posteriormente, estas 5 mediciones fueron promediadas.

Plan de análisis estadísticos. Los datos fueron analizados mediante el software Stata versión 16, se realizó el análisis descriptivo de los datos de microdureza y microrugosidad. Por medio del test de Shapiro Wilk, se determinó si los datos presentaban distribución normal. Para el antes y el después de que las frutas cítricas fueran expuestas se utilizó test de t de student para muestras pareadas y Wilcoxon. Para la comparación de los resultados de cada grupo de frutas cítrica se usó la prueba Kruskal Wallis y la prueba U de Man Whitney.

RESULTADOS

Se encontró diferencias estadísticas en la microdureza antes y después de ser sumergidos al zumo de frutas. Todos los zumos disminuyeron la microdureza de los especímenes de esmalte. (Tabla I).

Las pruebas estadísticas t de student para muestras pareadas y Wilcoxon mostraron diferencia estadística entre los grupos. Se encontró diferencias estadísticas en la microrugosidad antes y después de ser sumergidos al zumo de frutas (Tabla II). 3 Los zumos de las frutas cítricas evaluadas aumentaron la microrugosidad de los especímenes de esmalte del mismo modo.

Tabla I. Comparación de la microdureza de esmalte expuesto al zumo de 3 frutas cítricas amazónicas.

Grupo	Microdureza (VHN)		p
	Inicial	Final	
	Media \pm DE	Media \pm DE	
Toronja	312,63 \pm 44,18	76,75 \pm 15,94	<0,001
Injerto Naranja-Limón	299,69 \pm 34,90	76,93 \pm 19,69	<0,001
Camu - Camu	310,81 \pm 48,03	61,67 \pm 14,86	<0,001

Diferencias significativas para $p < 0,05$. Prueba de rango Wilcoxon.

Tabla II. Comparación de la microrugosidad superficial de las muestras de esmalte bovino según zumo de fruta cítrica.

Grupos	Microrugosidad (μm)		p
	Inicial	Final	
	Media \pm DE	Media \pm DE	
Toronja	2,75 \pm 0,49	3,02 \pm 0,54	0,005**
Injerto de naranja	2,93 \pm 0,59	3,60 \pm 0,61	0,007*
Camu- Camu	2,93 \pm 0,50	4,49 \pm 1,28	0,002*

Diferencias significativas para $p < 0,05$. *Prueba de t de student para muestras dependientes. **Prueba signo rango de Wilcoxon.

DISCUSIÓN

Esta investigación evaluó el potencial erosivo del zumo de tres frutas cítricas amazónicas sobre el esmalte dental en dientes bovinos. Se encontró que el zumo de las tres frutas evaluadas produjo una disminución en la microdureza y el aumento de la microrugosidad superficial del esmalte, producido por la acidez del zumo.

Para este estudio, se utilizaron incisivos centrales de bovino sano. Dichos dientes han sido utilizados ya que la literatura ha demostrado que su composición tanto histológica como anatómica, entre otras características son similares a los dientes humanos, siendo idóneos para utilizarlos como sustitutos en los estudios de investigación (Olek *et al.*, 2020; Saads & Lussi, 2020).

Para determinar la capacidad erosiva de cada bebida se evaluó el pH, que es la concentración de iones de hidrógeno en una solución indicando si la solución es ácida, neutra o básica. Reportes previos han mostrado que soluciones con un pH menor de 5.5 son consideradas erosivas para el esmalte dental (Wang *et al.*, 2021; Rêgo *et al.*, 2022). En el presente estudio, los zumos de frutas estudiados presentaron valores bajos de pH; siendo el de toronja de 2.33, el injerto de naranja con limón de 2.46 y el del camu camu de 2.58. Estos hallazgos coinciden con el estudio realizado por Mazilao *et al.* (2019), quienes indican que los ácidos presentes en algunas frutas y bebidas desmineralizan la matriz inorgánica de la estructura dental, presentando un valor de pH lo suficientemente bajo capaz de reblandecer y desmineralizar la superficie.

Con pH similares, los zumos de frutas en el presente estudio también alteraron la microdureza y la microrugosidad superficial del esmalte. El tiempo y la frecuencia de exposición del esmalte a los zumos de frutas cítricas son determinantes en la severidad de los efectos erosivos sobre el esmalte (Ablal *et al.*, 2009).

Se usaron estas frutas porque su consumo es amplio y continuo por la población de la selva amazónica, debido a su fácil adquisición, por sus propiedades ricas en vitamina C, el fortalecimiento del sistema inmunológico, sus propiedades en el sistema digestivo, propiedades antioxidantes, propiedades dermatológicas y antiinflamatorias (Borghi & Pavanelli, 2023).

Las limitaciones de este estudio fueron evaluar sólo el potencial erosivo mediante las pruebas de microdureza y microrugosidad superficial. Sin embargo, estos resultados aportan información importante para considerar sobre los efectos erosivos, tiempo y frecuencia de consumo de estas frutas cítricas.

VARGAS, C.; DÍAZ-SUYO, A. & HERMOZA, M. *in vitro* evaluation of the enamel micro-hardness and micro-roughness subjected to three amazonian citrus fruit juices. *Int. J. Odontostomat.*, 19(2):145-149, 2025.

ABSTRACT: In the Amazon rainforest the high consumption of citrus fruits is related to their benefits on the immune system. However, the pH of these fruits is lower than the critical pH of dental enamel, and their continuous consumption can damage dental surfaces and cause hypersensitivity, especially in young adults, who are more susceptible to these damages. Therefore, the objective of this study was to evaluate the hardness and roughness of bovine tooth enamel exposed to the juice of three Amazonian fruits: grapefruit, orange-lemon hybrid, and camu camu. To perform the erosive challenge, the pH of the three fruits was measured. Grapefruit juice had a pH of 2.33, orange-lemon hybrid a pH of 2.46, and the camu camu a pH of 2.58. Specimens were exposed to the fruit juice for five minutes, three times a day, for fourteen days. The initial and final micro-hardness and micro-roughness of the specimens were evaluated. To compare the values before and after exposure to the citrus fruits, Student's t-test and Wilcoxon test were used. To compare the results of each variable, the Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney U test were used. The fruits used in this research decreased the micro-hardness and increased the roughness of the bovine tooth enamel surface. No statistically significant differences were found when comparing the erosive effect among the three citrus fruits. However, statistically significant differences were found when comparing the initial and final micro-hardness and micro-roughness values of the enamel specimens.

KEY WORDS: hardness, roughness, citrus, erosion, pH.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ablal, M.; Kaur, J.; Cooper, L.; Jarad, F.; Milosevic, A.; Higham, S. & Preston, A. The erosive potential of some alcopops using bovine enamel: an *in vitro* study. *J. Dent.*, 37(11):835-9, 2009.
- Borghi, S. M. & Pavanelli, W. R. Antioxidant compounds and health benefits of citrus fruits. *Antioxidants (Basel)*, 12(8):1526, 2023.
- Cawson, W. *Fundamentos de medicina y patología oral*. 9na ed. Barcelona, Elsevier; 2018. p. 49.
- Dündar, A.; Sengün, A.; Başlak, C. & Kus, M. Effects of citric acid modified with fluoride, nano-hydroxyapatite and casein on eroded enamel. *Arch. Oral Biol.*, 93:177-86, 2018.
- Eid, I. & Anass, M. Determination of citric acid in soft drink, juice drinks and energy drinks using titration. *Int. J. Chem. Stud.*, 1(6):204, 2018.

- Favaro, L.; Soares, P. & Cunha-Cruz, J. Prevalence of dentin hypersensitivity: systematic review and meta-analysis. *J. Dent.*, 81:1-6, 2019.
- Lussi, A.; João-Souza, S. H.; Megert, B.; Carvalho, T. S. & Baumann, T. El potencial erosivo de diferentes bebidas, alimentos y medicamentos. *Swiss Dent. J.*, 129(6):479-87, 2019.
- Mazilao, R.; Apolinário, R.; Martins, I.; Mockdeci, H.; Vieira, J.; Chaves, M. & Barb, N. Ex vivo evaluation of the erosive potential of typical fruit juices from Brazilian tropical forests. *J. Clin. Diagn. Res.*, 13(7):ZC36-ZC40, 2019.
- Meira, I. A.; Dos Santos, E. J.; Fernandes, N. L.; de Sousa, E. T.; de Oliveira, A. F. & Sampaio, F. C. Erosive effect of industrialized fruit juices exposure in enamel and dentine substrates: an *in vitro* study. *J. Clin. Exp. Dent.*, 13(1):e48-e55, 2021.
- Olek, A.; Klimek, L. & Boltacz-Rzepkowska, E. Comparative scanning electron microscope analysis of the enamel of permanent human, bovine and porcine teeth. *J. Vet. Sci.*, 21(6):e83, 2020.
- Ortiz-Ruiz, A. J.; Teruel-Fernández, J. D.; Alcolea-Rubio, L. A.; Hernández-Fernández, A.; Martínez-Beneyto, Y. & Gispert-Guirado F. Structural differences in enamel and dentin in human, bovine, porcine, and ovine teeth. *Ann. Anat.*, 218:7-17, 2018.
- Pelá, V. T.; Cassiano, L. P. S.; Ventura, T. M. D. S.; Souza-E-Silva, C. M.; Gironda, C. C.; Rios, D.; Buzalaf, M. A. R. Proteomic analysis of the acquired enamel pellicle formed on human and bovine tooth: a study using the Bauru *in situ* pellicle model (BISPM). *J. Appl. Oral Sci.*, 27:e20180113, 2018.
- Philip, N. State of the art enamel remineralization systems: the next frontier in caries management. *Caries Res.*, 53(3):284-95, 2019.
- Rajeev, G.; Lewis, A. J. & N, S. A time-based objective evaluation of the erosive effects of various beverages on enamel and cementum of deciduous and permanent teeth. *J. Clin. Exp. Dent.*, 12(1):e1-e8, 2020.
- Rêgo, H. M. C.; Butler, S. & Santos, M. J. C. Evaluation of the mechanical properties of three resin-modified glass-ionomer materials. *Biomed. Res. Int.*, 2022:4690656, 2022.
- Rios, D.; Honório, H.; Magalhães, A.; Wiegand, A.; de Andrade, M. & Buzalaf, M. Light cola drink is less erosive than the regular one: an *in situ/ex vivo* study. *J. Dent.*, 37(2):163-6, 2009.
- Saads Carvalho, T. & Lussi, A. Chapter 9: Acidic beverages and foods associated with dental erosion and erosive tooth wear. *Monogr. Oral Sci.*, 28:91-8, 2020.
- Santos, E. J. L. D.; Meira, I. A.; Sousa, E. T.; Amaechi, B. T.; Sampaio, F. C.; Oliveira, A. F. B. Erosive potential of soy-based beverages on dental enamel. *Acta Odontol. Scand.*, 77(5):340-6, 2019.
- Silva, J. G.; Martins, J. P.; de Sousa, E. B.; Fernandes, N. L.; Meira, I. A.; Sampaio, F. C.; de Oliveira, A. F. & Pereira, A. M. Influence of energy drinks on enamel erosion: an *in vitro* study using different assessment techniques. *J. Clin. Exp. Dent.*, 13(11):e1076-e1082, 2021.
- Steiger-Ronay, V.; Steingruber A, Becker K, Aykut-Yetkiner A, Wiedemeier DB, Attin T. emperature-dependent erosivity of drinks in a model simulating oral fluid dynamics. *J. Dent.*, 70:118-23, 2018.
- Teixeira, D.; Thomas, R.; Soares, P.; Cune, M.; Gresnigt, M. & Slot, D. Prevalence of noncarious cervical lesions among adults: a systematic review. *J. Dent.*, 95:103285, 2020.
- Vilas-Boas, A. A.; Magalhães, D.; Campos, D. A.; Porretta, S.; Dellapina, G.; Poli, G.; Istanbulu, Y.; Demir, S.; San Martín, Á. M.; García-Gómez, P.; Mohammed, R. S.; Ibrahim, F. M.; El Habbasha, E. S. & Pintado, M. Innovative processing technologies to develop a new segment of functional citrus-based beverages: current and future trends. *Foods*, 11(23):3859, 2022.
- Wang, C.; Fang, Y.; Zhang, L.; Su, Z.; Xu, J. & Fu, B. Enamel microstructural features of bovine and human incisors: a comparative study. *Ann. Anat.*, 235:151700, 2021.
- Warreth, A.; Abuhijleh, E.; Almaghribi, M. A.; Mahwal, G.; Ashawish, A. Tooth surface loss: a review of literature. *Saudi Dent. J.*, 32(2):53-60, 2020.
- Yan, J.; Yang, H.; Luo, T.; Hua, F.; He, H. Application of Amorphous Calcium Phosphate Agents in the Prevention and Treatment of Enamel Demineralization. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 10:853436, 2022.

Dirección para correspondencia:
 Connie Vargas
 Escuela de Estomatología
 Facultad de Ciencias de la Salud
 Universidad Científica del Sur
 Lima
 PERÚ

E-mail: covapa.kriz@gmail.com

Connie Vargas. ORCID: 0009-0004-7436-4154

Antonio Díaz-Suyo. ORCID: 0000-0002-4726-2716

Mónica Hermoza. ORCID: 0000-0003-0927-3710