



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

EVALUACIÓN DEL EFECTO  
NEUTRALIZANTE DEL TÉ VERDE EN EL  
JUGO DE CAMU CAMU SOBRE LA  
MICRODUREZA DEL ESMALTE DENTAL  
HUMANO

Tesis para obtener el título de Especialista en

Odontología Restauradora y Estética

**Camilo Eduardo Ruilova Carrión**

Lima-Perú

2018

## **ASESORES**

**Mg. Leyla Delgado Cotrina**

Departamento académico y clínica estomatológica UPCH

**Dra. Mg. Lidia Yileng Tay Chu-Jon**

Departamento académico y clínica estomatológica UPCH

## **JURADO EXAMINADOR**

**Presidente:** Dr. Gilberto Henostroza Haro.

**Secretario:** Dra. Janett Mas López.

**Miembro:** Mg. Johanna Cuadros Sánchez.

**Fecha de sustentación:** 16 de Abril del 2018

**Calificativo:** Aprobado

## **DEDICATORIA**

A Díos que me permitió estar en el lugar que me encuentro ahora, a mi familia en especial a mis padres que nunca dejaron de creer en mi. A la memoria de mi abuelo Francisco quien partió a la eternidad meses antes de que inicie este proyecto, a mis amigos de Ecuador y Perú y a todo mi pueblo de Ecuador al cual le deseo días mejores a los que vivimos en este tiempo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Especialmente al Dr. Ken Noborikawa que más que un profesor ha sido un amigo y un guía para mí durante los últimos dos años que llevo viviendo en Lima, a mis amigos Fiorela Ordoñez y Dante Estrada que me ayudaron y apoyaron desde el primer día en el que la vida nos unió y me hicieron sentir en familia a pesar de que me encontraba lejos de mi país. A mis asesoras la Mg. Leyla Delgado y la Dra. Yileng Tay por toda su colaboración y ayuda durante estos dos años de trabajo. A todo el pueblo Peruano por su amabilidad y paciencia durante mi permanencia en su país.

## RESUMEN

El propósito de este estudio fue evaluar el efecto neutralizante del té verde en el jugo de *Myrciaria dubia* (Camu-camu) sobre la microdureza del esmalte humano. Se utilizaron 28 muestras de esmalte previamente preparadas las que fueron expuestas a cuatro diferentes bebidas (jugo de Camu-camu, té verde, Camu-camu con té verde y agua). Se determinó el pH y acidez titulable de cada una de las bebidas, 525A (Orion, Benchtop, EE.UU) electrodo de vidrio 8102PN (Thermo Fisher Scientific Orion, EE.UU). Con la finalidad de determinar la pérdida de microdureza superficial se realizaron 5 ciclos erosivos durante 20 min (1 min bebida, 3 min saliva artificial) durante 5 días. El pH del Camu-camu fue de 2.90, pH del té verde: 6.71, pH del Camu-camu con té verde: 2.96. La acidez titulable del Camu-camu fue de 1.08 ml, del Camu-camu con té verde fue de 0.76 ml. Se realizaron mediciones de microdureza superficial Leitz (Alemania) antes y después de los ciclos erosivos. Los cambios morfológicos de las muestras fueron observados con microscopía electrónica de barrido Quanta 650 (Thermo Fisher Scientific, USA). Se utilizó la prueba de ANOVA/Tukey con un nivel de significancia de 0.05%. El jugo de Camu-camu produjo la mayor disminución de microdureza superficial del esmalte  $-141.44$  (18.31)/77.58% seguido del Camu-camu con té verde  $-108.69$  (17.84)/60% ( $p < 0.05$ ), el té verde y el agua no provocaron pérdida de microdureza. El té verde neutralizó parcialmente el potencial erosivo del jugo Camu-camu sobre la microdureza del esmalte humano

Palabras clave: Esmalte dental, Microdureza superficial, Erosion dental.

## ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the neutralizing effect of green tea with the *Myrciaria dubia* (Camu-camu) on the microhardness of human enamel. 28 pre-prepared human enamel samples were exposed to four different beverages (Camu-camu juice, green tea, Camu-camu with green tea and water). The pH and titratable acidity of each of the drinks were determined using a 525A (Orion, Benchtop, USA) 8102PN glass electrode (Thermo Fisher Scientific Orion, USA). To determine the loss of superficial hardness, 5 erosive cycles were carried out for 20 min (1 min in beverage, 3 min artificial saliva) for 5 days. The pH of Camu-camu was 2.90, pH of green tea: 6.71, pH of Camu-camu with green tea: 2.96. The titratable acidity of Camu-camu was 1.08 ml, the Camu-camu with green tea was 0.76 ml. Surface microhardness measurements (Leitz (Germany)) were made before and after the erosive cycles. The morphological changes of the samples were observed with scanning electron microscopy Quanta 650 (Thermo Fisher Scientific, USA). The ANOVA/Tukey test was used with a significance level of 0.05%. Camu-camu juice produced the greatest diminution in surface microhardness of the enamel:  $-141.44$  (18.31)/77.58% followed by Camu-camu with green tea:  $-108.69$  (17.84)/60% ( $p < 0.05$ ), green tea and water didn't cause loss of microhardness. Green tea partially neutralized the erosive potential of Camu-camu juice on the microhardness of enamel.

Key words: Dental enamel, Surface microhardness, Tooth erosion.

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pag.</b>
<b>Tabla 1.</b> Valores de pH y acidez titulable.	27
<b>Tabla 2.</b> Microdureza superficial (kg/mm <sup>2</sup> ) del esmalte antes y después de la exposición a las bebidas.	28
<b>Tabla 3.</b> Comparación de la diferencia de microdureza superficial del esmalte expuesto a las bebidas.	30

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	<b>Pag.</b>
<b>Gráfico 1.</b> Diferencias de microdureza del esmalte dental expuesto a las distintas bebidas.	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pag.</b>
<b>Figura 1.</b> Caracterizacion de la superficie del esmalte con Microscopía electrónica de barrido.	31

## INDICE DE CONTENIDOS

	<b>Pag.</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN</b>	3
II.1. Planteamiento del problema	3
II.2. Justificación	4
<b>III. MARCO TEÓRICO</b>	5
<b>IV. OBJETIVOS</b>	18
IV.1. Objetivo general	18
IV.2. Objetivos específicos	18
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	19
V.1. Diseño de estudio	19
V.2. Muestra	19
V.3. Criterios de selección	19
V.4. Variables	19
V.5. Técnicas y procedimientos	21
V.6. Ciclo experimental	22
V.7. Microdureza superficial	23
V.8. Determinación del pH	23
V.9. Determinación de la acidez titulable	24
V.10. Microscopia electrónica de barrido	24
V.11. Plan de análisis	24
V.12. Consideraciones éticas	25
<b>VI. RESULTADOS</b>	26

<b>VII. DISCUSIÓN</b>	32
<b>VIII. CONCLUSIONES</b>	38
<b>IX. RECOMENDACIONES</b>	39
<b>X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	40
<b>ANEXOS</b>	



## I. INTRODUCCIÓN

La erosión dental es la pérdida de sustancia dental debido a un proceso químico causado por ácidos o por agentes quelantes, sin la presencia de microorganismos, por ello muy bien se define a la erosión dental como una lesión dental no cariosa.<sup>1</sup>

Los jugos de frutas naturales ocupan un lugar importante en la dieta, sin embargo, investigadores han determinado que varias frutas presentan un potencial erosivo para la dentición humana, tal es el caso del jugo de uva (natural e industrializado),<sup>2</sup> jugo de naranja (natural e industrializado),<sup>3</sup> que por su pH ácido pueden causar daños en el esmalte y dentina.

En Sudamérica existe un sinnúmero de frutas tropicales que son muy consumidas a lo largo del continente, entre estas frutas sobresale *Myrciaria dubia* (Camu-camu). Peters *et al.*<sup>4</sup> señalan a la cuenca superior del río Orinoco como el principal asentamiento de esta fruta, llegando a extenderse hasta el estado de Rondonia (Brasil). Dentro de este vasto territorio existen dos regiones de la amazonia peruana (Pucallpa y Pevás) en las cuales la *Myrciaria dubia* (Camu-camu) es altamente consumido por la población.

Las propiedades antioxidantes del Camu-camu son la razón principal de su consumo. El interés de investigar la actividad antioxidante de esta fruta radica en su elevado contenido de vitamina C, polifenoles que en su mayoría son variedades de flavonoides y antocianinas, lo cual está relacionado con un menor riesgo de ataques cardíacos, diabetes y cáncer.<sup>5</sup>

Sin embargo, estudios previos como es el caso de Maeda<sup>6</sup> y Hernández<sup>7</sup> señalan que el jugo de Camu-camu posee un pH de 2.64 y 2.85 respectivamente, convirtiéndola en una bebida ácida y con un alto potencial erosivo para la dentición humana.

Por otra parte, en busca de encontrar elementos que permitan neutralizar el potencial erosivo de los jugos de frutas o gaseosas sobre el esmalte dental; se han elaborado diversas investigaciones experimentando con distintas sustancias. El té verde ha logrado un espacio importante en las líneas de investigación sobre erosión dental. Barbosa *et al*<sup>8</sup> agregaron té verde a diversas gaseosas encontrando un efecto neutralizante ya que logró disminuir el efecto erosivo de las bebidas. Rodrigues De Moraes, *et al*<sup>9</sup> estudiaron el efecto del té verde como una medida protectora de la dentición humana expuesta a bebidas erosivas. En la citada investigación se usaron muestras dentales humanas previamente desmineralizadas con ácido cítrico, concluyendo que el uso del extracto de té verde brinda resultados prometedores para reducir la erosión dental.

Siendo la fruta amazónica *Myrciaria dubia* (Camu-camu) una fruta ácida altamente consumida en países como Perú, Colombia y Brasil y poco estudiado su efecto sobre las estructuras dentales, la propuesta del presente trabajo es evaluar el efecto neutralizante del té verde en el efecto erosivo en el jugo de *Myrciaria dubia* (Camu-camu) sobre la microdureza del esmalte humano.

## II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

### II.1. Planteamiento del problema

El consumo de bebidas refrescantes a nivel mundial es muy alto, bebidas como jugos de frutas son parte muy importante en la vida diaria de las personas. En el Perú existen diversas frutas amazónicas, entre estas frutas *Myrciaria dubia* (Camu-camu) es altamente consumido por la población, según el Missouri Botanical Garden, esta fruta se encuentra en Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guayana, Perú y Venezuela.<sup>5</sup>

Las propiedades antioxidantes del Camu-camu, en términos generales son recientemente estudiadas, surgiendo hace no más de 50 años. La alta concentración de vitamina C y polifenoles<sup>5</sup> sumados a su agradable sabor convierten al Camu camu en una fruta altamente consumible por la población, pero además de las características anteriormente mencionadas el jugo de Camu-camu presenta un sabor cítrico, ácido mismo que ha preocupado a los profesionales de la odontología, ya que son abiertamente conocidos los efectos que ocasionan en el esmalte dental los alimentos y bebidas ácidas con un pH inferior a 5.5.

El té verde ha sido ampliamente estudiado debido a su posible efecto neutralizante en la pérdida de microdureza del esmalte dental. Pero hasta la fecha no se conoce algún estudio que utilice su potencial neutralizante en la pérdida de minerales del esmalte cuando es expuesto al Camu-camu.

En función a lo mencionado se planteó la pregunta ¿Agregar té verde en el jugo de Camu camu tendrá un efecto neutralizante en el potencial erosivo del esmalte dental humano?

## **II.2. Justificación**

Con la presente investigación se busca proporcionar a la población información clara, precisa que sirva para generar una medida de protección, práctica y asequible de la dentición humana para mantener la integridad de los tejidos dentales y con la cual podamos seguir disfrutando de los jugos de frutas sin que su sabor se vea afectado, logrando con esto un importante aporte teórico a la profesión odontológica, a la industria alimentaria, a la sociedad en general y a los sistemas de salud pública para que puedan realizar campañas de promoción y prevención, evitando así llegar a tratamientos restauradores más severos; todo esto en la búsqueda de lograr el cuidado de la salud dental de la población.

### III. MARCO TEÓRICO

#### III.1. Erosión dental

La erosión dental puede ser definida como la pérdida de estructura dental debido a un proceso químico causado por ácidos o por agentes quelantes, sin la presencia de microorganismos, por ello muy bien se define a la erosión dental como una lesión dental no cariosa.<sup>1</sup>

Otros autores denominan a la erosión como corrosión y la definen como “la pérdida de la superficie dental por acción química y continua de agentes desmineralizantes, especialmente ácidos, y que no implica la presencia de bacterias”.<sup>10,11</sup>

En cuanto al mecanismo patógeno de la erosión dental, se lo puede clasificar en dos etapas: En una primera etapa los ácidos presentes en las frutas (cítrico y maleico) disuelven los cristales de hidroxiapatita por la unión del hidrógeno del ácido con el calcio del esmalte. En la segunda etapa la abrasión mecánica producida por el cepillado diario se encarga de arrastrar los prismas debilitados por el ácido agravando así el cuadro clínico.<sup>12</sup>

Existen diferentes índices para clasificar este tipo de lesiones entre ellos el propuesto por Eccles y Jeukins que clasifica la severidad clínica de este tipo de lesiones según el tejido que compromete<sup>13,14</sup>

- Clase I: Afecta solamente el esmalte, siendo una lesión superficial.
- Clase II: Afecta la dentina, es localizada y compromete menos de un tercio de ésta.
- Clase III: También en dentina, es generalizada y compromete más de un tercio de ésta.

En cuanto a las áreas afectadas, en el caso de la succión de alimentos cítricos con alto contenido de ácido cítrico (limón, naranja, etc.) las caras vestibulares son las más afectadas. En el caso de pacientes bulímicos las superficies más afectadas son las linguales, incisales y oclusales debido al ácido clorhídrico proveniente del estómago.<sup>12</sup>

Las características clínicas pueden variar, pero generalmente la superficie adamantina se muestra afectada, con un aspecto ligeramente rugoso y opaco. Presenta una superficie aplanada. El esmalte se ve liso, opaco, sin decoloración con periquematis ausentes y la matriz inorgánica desmineralizada. En la dentina los ácidos débiles actúan sobre el tejido intertubular y los ácidos fuertes atacan la zona peritubular, consecuentemente dejando aberturas en forma de embudo.<sup>12</sup>

O'Brien,<sup>15</sup> Walker *et al*,<sup>16</sup> May y Waterhouse,<sup>17</sup> Luo *et al*,<sup>18</sup> y El Karim *et al*,<sup>19</sup> sugieren que el alto consumo de comidas y bebidas ácidas juega un papel importante en el desarrollo de erosión dental en niños y adultos.

Existen factores asociados para el desarrollo de erosión dental relacionados al individuo y factores asociados a las bebidas como los factores físico-químicos que determinan el potencial erosivo, entre ellos:

Tipo de ácido: los más comunes son ácido fosfórico y ácido cítrico, pero también pueden actuar el ácido maleico, el tartárico, y otros.<sup>12</sup>

pH: Es un indicador de la acidez de una sustancia. Toda bebida natural o industrializada que posea un pH inferior a 5.5 es considerada como de alto potencial erosivo para el esmalte dental.<sup>20</sup>

Capacidad de captar minerales: Algunas bebidas actúan como agentes quelantes, capaces de captar el calcio tanto del esmalte como de la dentina, y con ello favorecen a una mayor desmineralización, como es el caso del ácido cítrico.<sup>21</sup>

Acidez titulable: Es la cantidad de base necesaria para que un producto llegue a un pH neutro.<sup>21</sup>

El efecto erosivo de una bebida depende no sólo de su potencial erosivo, sino de las características individuales del paciente: capacidad buffer y rango flujo salival, al igual que la formación de la película adquirida y factores conductuales.

### **III.2. Jugos de frutas naturales**

Se ha demostrado que la ingesta de frutas cítricas más de dos veces al día, el consumo diario de refrescos, y el consumo semanal de vinagre o bebidas deportivas aumenta el riesgo de erosión dental de manera significativa, debido a que el pH se encuentra por debajo del crítico ( $< 5.5$ ), disminuyendo la capacidad tampón de la saliva, la cual es responsable de la protección de los dientes contra la desmineralización del esmalte.<sup>22</sup>

Diversos investigadores han estudiado el potencial erosivo de los jugos de frutas naturales. Jensdottir *et al*<sup>23</sup> determinaron los efectos erosivos de dos tipos de refrescos: gaseosas y zumos de naranja. Las bebidas gaseosas tenían claramente un mayor potencial erosivo, en comparación con los zumos de naranja. El potencial erosivo inicial en las bebidas gaseosas fue diez veces mayor que los zumos de naranja, mientras que el potencial erosivo registrado al final del estudio fue de tres veces mayor en comparación con los zumos de naranja. En conclusión, el potencial erosivo de bebidas ácidas dentro de los primeros minutos de exposición depende del pH de las bebidas, siendo el pH de las gaseosas de 2.5, mientras que en zumos de naranja el pH fue de 3.5.

Nirmala<sup>24</sup> comparó el pH y los oligoelementos de diferentes jugos de frutas y la erosión de esmalte. Para lograrlo midió el pH de 9 jugos de diferentes frutas, además evaluó el flúor y la cantidad de oligoelementos de cada jugo de frutas. Concluye que las frutas

con mayor potencial erosivo en orden ascendente fueron manzana (3.3), uvas (3.47), naranja (3.5), mousambi (3.93), piña (4.16), sandía (4.24), granadilla (4.47), caña (4.60) y mango (4.60). En cuanto a la composición de oligoelementos se encontró que tanto que frutas como, manzana, naranja, sandía, mango, granadilla y mousambi poseen oligoelementos como el flúor y fósforo que se considera que tienen un efecto cariostático. Por otro lado, Blacker y Chadwick<sup>25</sup> investigaron el potencial erosivo, pH y la acidez titulable de una gama de batidos de frutas sobre la dentina. Para ello compararon 5 batidos adquiridos en tienda y varios batidos caseros con dos bebidas de control, agua Volvic (control negativo) y el jugo de naranja Tropicana (control positivo). Los batidos preparados en casa fueron elaborados con diferentes frutas (naranja / fresa / plátano / limón / cereza / kiwi / manzana / arándanos). Con respecto al pH el batido de plátano y fresa elaborados en casa tenían una acidez titulable alta. Todos los batidos investigados, tenían un pH inferior al pH crítico en el esmalte dental (5.5). Concluyeron que los batidos sin duda tienen un cierto potencial erosivo.

De Melo *et al*<sup>3</sup> investigaron el potencial erosivo del jugo de lima, naranja procesado y natural en el esmalte humano. Para ello se usaron 60 bloques de esmalte. Las muestras fueron expuestas al jugo fresco y procesado de naranjas y limas. Luego la microdureza superficial del esmalte, pH, acidez titulable (AT) y la capacidad buffer ( $\beta$ ) de los distintos jugos se determinaron. Los valores de pH, AT y  $\beta$  fueron 3.66 – 3.75 – 3.33 a 110mmol/L (milimol por litro), y 2.98 a 40.97 mmol/L x pH, respectivamente. Con respecto a microdureza superficial todos los resultados fueron similares menos los del jugo de lima ( $p < 0.05$ ), el cual produjo 8.49% de pérdida de microdureza superficial del esmalte, valor que se traducen en un desgaste de la estructura indetectable, el jugo de lima contiene aproximadamente solo un quinto de concentración de ácido cítrico

que contienen otras frutas, lo cual la convierte en la razón más aceptada del porque el jugo de lima no erosiona el esmalte dental como otros jugos de frutas.

Resultados similares fueron hallados por Maximo *et al*<sup>2</sup> con respecto al nivel de erosión dental producido por jugos naturales e industrializados, pero utilizando una metodología diferente, ellos decidieron investigar el potencial erosivo de bebidas industrializadas con sabor a uva. Para ello se seleccionaron 9 bebidas y se las agrupó en 5 grupos diferentes. G1: polvo de jugo de fruta, G2: néctar de fruta industrializado, G3: jugo de fruta industrializado y con soya. G4: jugo refrigerado y G5: jugo puro de uva, además se usó un grupo control G6: agua mineral sin gas. Los resultados fueron sometidos a la prueba ANOVA ( $p < 0.00001$ ) y los promedios se compararon usando la prueba estadística Tukey ( $p < 0.05$ ). Concluyeron que todas las bebidas pueden llegar a causar erosión dental ya que la acidez varió entre 1.120  $\mu\text{L}$  y 3.160  $\mu\text{L}$ , lo que quiere decir que su pH se ubicó entre 2.42 y 4.11 muy por debajo del pH crítico, siendo así bebidas potencialmente productoras de erosión dental.

Se puede apreciar claramente que muchas frutas poseen potencial erosivo para las estructuras dentales, sean estos productos hechos a base de zumos de fruta, o jugos de frutas envasados. Existe evidencia de lo afirmado, corroborada por autores como; Sabyasachi, *et al*<sup>26</sup> quienes concluyen que el pH de frutas en orden ascendente fue el siguiente: Limón (2.91), Guayaba (3.10), Manzana (3.3), Granada (4.4). Por su parte, Assayag y de Oliveira<sup>27</sup> concluyen que el zumo de melocotón presentó el valor más alto de pH (3.77), seguido por el jugo de maracuyá (2.96) y finalmente el jugo uva (2.78).

### **III.3. *Myrciaria dubia* (Camu-camu)**

*Myrciaria dubia* (Kunth) es una especie de fruta silvestre perteneciente a la familia Myrtaceae; especie que fue descrita por Kunth en el H.B.K (Humboldt, Bonpland y Kunth). En 1823 bajo el nombre de *Psidium dubia* H.B.K. y que posteriormente fue transferida al género *Myrciaria* en 1963; esta especie posee más de 20 sinónimos que hacen parte de los géneros *Eugenia*, *Marlierea*, *Myrciaria* y *Psidium*.<sup>5</sup>

El nombre más común para esta fruta es Camu-camu, aunque en determinadas regiones como por ejemplo en Perú se la llama “camo camo”, en Brasil el nombre usado es caçari o arazá de agua, un poco más al norte del continente como es el caso de Colombia el nombre común usado es Mitú, aunque en ciertas regiones de la misma Colombia también se la llama Minuake (Guanano) o simplemente guayabo. Por último, en Venezuela la fruta es llamada guayabito.<sup>28</sup>

Dentro de Perú específicamente se conocen cuatro plantas con el nombre de Camu camu: “La especie arbustiva *Myrciaria dubia* denominada como el verdadero Camu camu; la segunda especie es la arbórea *M. floribunda* O. Berg la cual tiene frutos de color rojo intenso; en tercer lugar encontramos a *Myrciaria* sp 1, que es un Camu camu arbóreo con frutos maduros de cáscara color marrón y el cuarto tipo es *Myrciaria* sp 2, denominada como Camu camu dulce, cuyo fruto es pequeño y de color negro al madurar”.<sup>7</sup>

#### **III.3.1. Propiedades y valor nutricional**

Las elevadas cantidades de vitamina C y antocianinas presentes en el Camu camu son fundamentales, “se reportan concentraciones de vitamina C de hasta 6.112% antioxidantes naturales que cumplen la función biológica de prevenir el daño celular prematuro”.<sup>29</sup> En investigaciones previas se reportaron concentraciones de vitamina C

presentes en el Camu camu las cuales pueden llegar hasta 5.000 mg<sup>28</sup> y en valor promedio 2.585 mg en 100 gramos en pulpa de fruta fresca.<sup>6</sup>

El Camu camu junto al kakadú (*Terminalia Ferdinandiana* - Australia) cuya concentración de vitamina C es del 5.5% son consideradas como las frutas con mayor concentración de vitamina C en el mundo.<sup>30</sup>

Sobre las referencias del uso tradicional, se debe resaltar el trabajo realizado por investigadores del IIAP (Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana), cuyos resultados indican que los pobladores del nororiente amazónico del Perú en orden de importancia usan las siguientes partes de la planta: fruto maduro, tallos, fruto verde, hojas, raíz y semillas; para distintos usos medicinales entre los que destacan: tratamientos contra la artritis, resfríos, diabetes, colesterol, bronquitis, inflamación. Las principales formas de preparación son; extracto o jugo fresco, cocción de la corteza del tallo, macerado en aguardiente, infusión.<sup>31</sup>

En 2012 se investigó el efecto hipolipidémico del Camu-camu en ratas, y se pudo comprobar que el consumo de jugo de Camu-camu, disminuyó las concentraciones de triglicéridos y colesterol.<sup>32</sup>

La actividad antiinflamatoria es otra propiedad estudiada. Inoue<sup>33</sup> realizó un estudio clínico con 20 hombres fumadores, divididos en dos grupos, uno recibió Camu-camu equivalente a 1.050 mg de vitamina C, el otro grupo recibió 1.050 mg de vitamina C sintética, la actividad antiinflamatoria se midió por los niveles de proteína C de alta densidad, interleukinas IL-6 y IL-8, en sangre. Los resultados mostraron una actividad antiinflamatoria del Camu-camu mucho mayor que la de la vitamina C sintética.

Yazawa<sup>34</sup> evaluó las semillas de Camu camu, en un estudio *in vivo*. Para evaluar la actividad antiinflamatoria se utilizaron ratas a las cuales se les indujo edema en las

patas, con resultados positivos, utilizando un análisis electroscópico. En dichas semillas identificaron ácido butolínico, que es un triterpenoide conocido por su actividad antiinflamatoria.

En cuanto a su pH, la literatura señala que el jugo de Camu-camu posee un pH de 2.64<sup>6</sup> y 2.85<sup>7</sup> respectivamente convirtiéndola en una bebida ácida y con un alto potencial erosivo debido a su pH.

#### **III.4. Agentes remineralizantes**

Para contrarrestar el potencial erosivo de estas bebidas, diversos autores recomiendan el uso de agentes remineralizantes. Ten Cate *et al*,<sup>35</sup> han definido al proceso de remineralización como “cualquier modificación de las estructuras desmineralizadas del diente por inclusión de minerales”.

El agente más estudiado como remineralizante en odontología es el flúor. Ten Cate y Featherstone<sup>35</sup> mostraron dos efectos del flúor: la inhibición de la pérdida de mineral durante la desmineralización y el aumento de la absorción de minerales durante la remineralización. Si bien el flúor es el agente más estudiado, no es el único.

Con el pasar de los años y en busca de mejores condiciones de salud de las personas, se han desarrollado productos que intentan lograr un efecto remineralizante parecido o igual al flúor. Los agentes remineralizantes más estudiados son: CCP-ACP (fosfopeptido de caseína más fosfato de calcio amorfo) y CPP-ACPF (fosfopeptido de caseína con fosfato de calcio amorfo más flúor).

El potencial remineralizante del CPP-ACP, en la remineralización de lesiones cariosas superficiales y sub superficiales, ha sido demostrado, permitiéndole ser usado como un agente coadyuvante a la acción del flúor, pero no como un sustituto del mismo.<sup>16,36,37,38,39</sup>

La nano-hidroxiapatita tiene el potencial de remineralizar lesiones iniciales de esmalte, y esto es debido a que probablemente penetra mejor por las porosidades de la superficie del esmalte y atrae mayor cantidad de iones calcio y fosfato permitiendo así la formación de una superficie remineralizada de esmalte.<sup>29</sup>

Por otro lado, la sustancia mundialmente usada y estudiada es el flúor, el cual sido usado como el agente preventivo y remineralizante de lesiones de caries debido a su acción inhibitoria de la disgregación de los minerales presentes en la estructura dental en sus componentes iónicos, su uso en mayores dosis a las habituales 1000 ppm, nos brinda un mejor proceso de remineralización, dichas dosis pueden ir hasta las 5.000 ppm.<sup>35</sup>

El Xilitol, es otra sustancia usada como remineralizante, y dicho efecto ha sido estudiado, obteniendo resultados positivos con el uso de este agente con respecto a la remineralización de lesiones cariosas incipientes.<sup>40</sup>

Finalmente, una sustancia relativamente nueva fue estudiada a partir del 2015, los investigadores lograron sintetizar nano partículas, de Chitosan fosforilado y fosfato de calcio amorfo (PCHI-ACP) y lo usaron para evaluar su capacidad para remineralizar lesiones sub superficiales de esmalte, determinando que el PCHI-ACP tiene un efecto remineralizante similar al del fluoruro.<sup>41</sup>

El uso de elementos vegetales naturales tales como el té verde, han mostrado tener un efecto preventivo contra la erosión dental producida por jugos de frutas. Estudios han mostrado el efecto preventivo del té verde combinado con leche, como un agente preventivo de la erosión dental.<sup>22</sup>

Barbosa *et al*<sup>8</sup> evaluaron si la adhesión de extracto de té verde en distintas bebidas podía ayudar en la inhibición de las MMP (metaloproteinasas de la matriz), y su

potencial erosivo en contra de la dentina. Para ello utilizaron bloques de dentina bovina y 4 bebidas comerciales, Coca cola<sup>®</sup>, Coca cola light<sup>®</sup> – Sprite zero<sup>®</sup> y Kuat guarana<sup>®</sup>. Luego de los ciclos de desmineralización, se añadió a las muestras un suplemento de extracto de té 1.2% para poder determinar si se lograba disminuir la desmineralización de la dentina, debido a los polifenoles presentes en el té verde, especialmente el epigallocatequina-3-galato (EGCG) el cual tiene actividad inhibidora contra las MMP-2 y MMP-9 y se encuentra en una concentración del 30% en el té verde. Los resultados mostraron que la adhesión del extracto de té verde disminuyó entre un 15 y 40% la desmineralización de la dentina en las distintas bebidas. Además, el sabor de los refrescos no se altera después de su adhesión, que es una característica importante para un potencial suplemento. Resultados similares encontraron Rodríguez *et al*<sup>9</sup>, quienes evaluaron el efecto del té verde como una medida protectora contra la erosión dental de la dentina coronaria. Usando 3 grupos con sustancias distintas: grupo A, DW: Agua destilada, grupo B, CHX: digluconato de clorhexidina y el grupo C, GT: Té verde. Se usaron discos de dentina humana, con formación de película adquirida durante 2 horas, para luego ser sometidas a 3 ciclos de desmineralización diaria con ácido cítrico y luego fueron tratadas con las sustancias DW, CHX, o GT y sumergidas en saliva artificial durante 60 minutos para propiciar la remineralización, todo esto durante 3 días. Se encontró una diferencia significativa en la reducción de microdureza y rugosidad a favor del grupo GT, en relación con el grupo DW, pero no se observó diferencia significativa entre el grupo GT y el grupo CHX. En conclusión, el té verde como la clorhexidina inhiben las MMP. En el caso del té verde estos resultados se deben a sus polifenoles, especialmente epigallocatequina-3-galato, inhiben a las MMP. Suyama *et al*<sup>42</sup> evaluaron la remineralización del esmalte y resistencia a los ácidos luego de masticar goma de mascar libre de azúcar con flúor extraído del té verde. 45

sujetos formaron parte del estudio. Para ello se las dividió en 2 grupos y se les colocó aparatología intra oral con bloques de esmalte humano desmineralizado con una sustancia tampón a base de ácido láctico 0.1%. El primer grupo masticó una goma de mascar con flúor (50 ug fluoruro) y el otro grupo masticó una goma placebo, esto se realizó dos veces al día durante 20 min por 4 semanas. Las muestras fueron sometidas a un análisis de microradiografía y se midió además la cantidad de flúor presente en la saliva, observando un menor grado de desmineralización en el grupo que masticó goma de mascar con extracto de flúor obtenido del té verde. En conclusión, se sugiere el consumo de gomas de mascar con extracto de flúor obtenido del té verde, en la prevención de lesiones cariosas, ya que por su contenido en flúor propicia la remineralización del esmalte y lo hace más resistente a posibles ataques ácidos.

### **III.5. Microdureza**

La microdureza es la capacidad que tiene un material de resistir una deformación plástica localizada. En los ensayos de microdureza es definida como una técnica de ensayo no destructivo, tiene aplicaciones en diversos campos, como: metales, cristales iónicos, cerámicas y polímeros. Y representa la resistencia de un material al rayado y a la penetración.<sup>43</sup>

#### **III.5.1. Tipos de pruebas**

Dentro de los ensayos de dureza por penetración estática encontramos diversas pruebas:

Ensayo Brinell: En el cual el estilete penetrador termina en una esfera de acero de 10 mm de diámetro; se aplica una carga de 500 a 3.000 kg, en un tiempo que puede variar de 10 a 30 segundos. Es definida como la presión de contacto entre la esfera y la muestra.<sup>43</sup>

Ensayo Rockwell: En esta prueba la dureza se mide en dos etapas, en función de la diferencia entre profundidades de penetración.<sup>43</sup>

Ensayo Vickers y Knoop: En estas pruebas la dureza viene en función del tamaño de la huella, y su indentador es un diamante de forma piramidal.<sup>43</sup>

El ensayo de dureza Vickers utiliza un indentador de diamante en forma de pirámide con un ángulo de 136° entre las caras, y la profundidad de la muesca es de aproximadamente 1 a 7 de las impresiones resultantes longitud de la diagonal.

El ensayo de dureza Knoop utiliza un indentador de diamante en forma piramidal alargado que produce una indentación en forma de romboide que tiene una relación aproximada entre diagonales largas y cortas de 7 a 1, y la profundidad de la impronta es de aproximadamente 1 a 30 de la longitud indentación.

Las diferencias en las geometrías de los penetradores Vickers y Knoop generan diferentes profundidades de penetración en el material y por lo tanto plantean beneficios para los materiales de diferentes espesores de ensayo. Los ensayos Knoop se utilizan comúnmente para las capas o revestimientos de prueba donde el material es muy delgado.

El ensayo Vickers permite realizar más penetraciones en una igual dimensión de la pieza, ya que las improntas son más pequeñas, ideal para realizar barridos de micro durezas, donde se quiere conocer perfectamente la relación de dureza y profundidad. Además, Vickers es el ensayo más común para ensayos de micro dureza y es la unidad de medida más convencional cuando se realiza micro durezas.<sup>43</sup>

Con la prueba Vickers se puede medir una amplia gama de materiales que van desde materiales muy blandos hasta materiales muy duros, siendo una prueba muy precisa.<sup>43</sup>

Proporciona huellas bien establecidas cómodas para realizar la medición.

A diferencia del método Brinell, con la prueba Vickers se pueden probar materiales muy duros, ya que en la prueba Brinell no se pueden realizar pruebas con materiales en los cuales su dureza se aproxime a la dureza de la bola, ya que esta sufre deformaciones y altera los resultados.<sup>43</sup>

### **III.5.2 Microscopia electrónica de barrido**

El instrumento utilizado para realizar microscopia electrónica es el Microscopio electrónico de barrido (SEM) el cual nos permite obtener un amplio espectro de información procedente de la superficie de la muestra estudiada. “Su funcionamiento se basa en barrer un haz de electrones sobre un área del tamaño que deseemos (aumentos), mientras que en un monitor se visualiza la información que hayamos seleccionado en función de los detectores que se encuentren disponibles, entre los cuales pueden encontrarse el detector de electrones secundarios, detector de electrones retrodispersos, detector de rayos X, entre otros”.<sup>44</sup>

La importancia de utilizar la microscopia electrónica de barrido radica fundamentalmente en que permite caracterizar las superficies antes y después de un determinado tratamiento o exposición a determinadas sustancias o materiales.

## **IV. OBJETIVOS**

### **IV.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto neutralizante del té verde en el jugo de *Myrciaria dubia* (Camu-camu) sobre la microdureza del esmalte humano.

### **IV.2. Objetivos específicos**

1. Determinar la microdureza superficial del esmalte expuesto a *Myrciaria dubia* (Camu-camu).
2. Determinar la microdureza superficial del esmalte expuesto a té verde.
3. Determinar la microdureza superficial del esmalte expuesto a una combinación de *Myrciaria dubia* (Camu-camu) con té verde.
4. Comparar la microdureza superficial de las muestras de esmalte que serán expuestas a jugo de *Myrciaria dubia* (Camu-camu), té verde, *Myrciaria dubia* (Camu-camu) con té verde y agua.
5. Determinar el pH de las bebidas que formarán parte del estudio: *Myrciaria dubia* (Camu-camu), *Myrciaria dubia* (Camu-camu) con té verde, té verde y agua.
6. Determinar la acidez titulable de las bebidas que formarán parte del estudio: *Myrciaria dubia* (Camu-camu), té verde, *Myrciaria dubia* (Camu-camu) con té verde y agua.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### V.1. Diseño del estudio

El presente trabajo es un estudio de tipo experimental in vitro.

### V.2. Muestra

Se utilizaron premolares humanos sanos, extraídos por motivos ortodóncicos. Los especímenes fueron almacenados en un recipiente con agua destilada desionizada previa limpieza de las muestras.

La cantidad de especímenes fue calculada utilizando el programa OpenEpi versión 3, dando como resultado un número de cinco muestras por grupo. Para la ejecución del estudio se conformaron cuatro grupos conformados por siete muestras cada grupo.

### V.3. Criterios de selección

Las piezas deben estar completamente sanas, sin fracturas, sin restauraciones.

### V.4. Variables

- 1. Bebidas:** Es cualquier líquido que se ingiere, término que se refiere por autonomasia a las bebidas alcohólicas y gaseosas. Es un tipo de variable cualitativa y será evaluada mediante las siguientes categorías; jugo de *Myrciaria dubia* (Camu-camu), té verde, Jugo de *Myrciaria dubia* (Camu-camu) + té verde, agua destilada deshionizada.
- 2. Microdureza:** Definida como el grado de resistencia de un área muy pequeña de la superficie de un material, es un tipo de variable cuantitativa, y será evaluada mediante las siguientes unidades, kgf/mm<sup>2</sup> (HV).
- 3. pH:** Definido como el coeficiente que indica el grado ácido/base de una solución acuosa, es un tipo de variable cuantitativa, y será evaluado de 0-14.

- 4. Acidez titulable:** Es la cantidad de ácido realmente presente (concentración de hidrogeniones o pH) y la fuerza relativa del ácido (o la facilidad con la cual el ácido va a liberar iones H-pKa), esto puede ser determinado por titulación usando una solución estándar de hidróxido de sodio.

El cuadro de operatizacióm de variables se observa en el Anexo 1

## V.5. Técnicas y procedimientos

Para la preparación de los especímenes los premolares fueron seccionados con un disco diamantado (KG Sorensen<sup>®</sup>, San Pablo, Brasil) bajo refrigeración constante. Se realizaron dos cortes, el primero fue a nivel del cuello de la pieza dental, para lograr separar la corona de la raíz, el segundo corte fue realizado en sentido mesio distal dividiendo la corona dental en dos porciones (vestibular y palatina). Los especímenes se insertaron en cilindros de PVC de 1 cm de altura y 8 mm de diámetro, para tal efecto se colocaron los especímenes sobre una platina de vidrio con la superficie del esmalte hacia la platina, luego se colocó acrílico rápido marca (Vitacron, Colombia) hasta llenar completamente el cilindro de PVC. El pulido de la superficie del esmalte se realizó con lija de agua Asalite (Lima, Perú) 600, 800, durante 20 s, y con los granos 1500, 2000 durante 2 min con irrigación constante para lograr una superficie uniforme en la muestra, entre el uso de lija y lija las muestras fueron lavadas durante 5 minutos utilizando agua destilada desionizada para evitar así que los granos interfirieran en la lisura de la superficie. Finalmente, Todos los especímenes fueron almacenados en agua destilada desionizada bajo refrigeración a una temperatura de 4° C hasta que se inicien los ciclos erosivos.

Estas muestras fueron expuestas a las siguientes bebidas:

- *Myrciaria dubia* (Camu-camu): Para la preparación de camu camu se utilizó 100 ml de pulpa de fruta con 200 ml de agua, en una proporción 1:2 dando un total de 300 ml de jugo.<sup>45</sup> para lograr una mezcla adecuada se usó una licuadora HR2872 (Philips, Holanda) durante 10s.
- Té verde: Para la preparación se utilizaron bolsas de té verde de 1.2g<sup>8</sup> el cual se preparó con agua hervida (300 ml) por tres minutos<sup>46</sup>. Luego se esperó hasta que alcance temperatura ambiente.

- *Myrciaria dubia* (Camu-camu) con té verde; para ello se mezclaron 220 ml de jugo de Camu-camu más 80 ml de té verde en una licuadora HR2872 (Philips, Holanda) durante 5s, para conseguir la mezcla adecuada. Cabe señalar que fueron realizadas varias mezclas con distintas proporciones, pero se eligió la proporción en la cual el sabor del jugo de Camu-camu no se vea alterado por la presencia del té verde.
- El agua destilada desionizada fue utilizada como control.

Todas las bebidas fueron utilizadas después de su preparación y luego de que alcanzaran temperatura ambiente.

#### **V.6. Ciclo experimental**

Antes de la exposición, los especímenes fueron retirados del agua destilada desionizada y secados con papel absorbente, posteriormente fueron colocados en un recipiente individual de plástico y con tapa con una capacidad de 30 ml de solución.

Los especímenes fueron expuestos a la acción de las bebidas por 1 min, seguido de 3 min en saliva artificial. Este ciclo se repitió 5 veces en un tiempo de 20 minutos para simular mejor los hábitos del consumo de bebidas.<sup>47</sup>

Este procedimiento se realizó una vez al día durante 5 días, para cada día del experimento se utilizaron bebidas nuevas para garantizar sus propiedades. Todas las muestras de prueba permanecieron en un período de reposo de un día para otro, totalmente inmersos en un recipiente conteniendo saliva artificial (Salival, Lima, Perú) (Cada 100 ml contiene: 0.084 g de NaCl, 0.120 g de KCl, 0.015 g de CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.005 g de MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.375 g de C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COONa, 4.000 g de C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>, 0.100 g de C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, 0.010 g C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> y 100 ml de agua purificada) para la simulación de las condiciones de remineralización naturalmente presentes en la cavidad bucal. Dicha sustancia fue sustituida diariamente.

Luego de cada exposición, el líquido de cada bebida fue vaciado y recolectado en un recipiente de plástico.<sup>47</sup>

Antes de iniciar el nuevo ciclo de desmineralización las muestras fueron lavadas con agua destilada y nuevamente colocadas en las bebidas de estudio.<sup>3</sup>

### **V.7. Microdureza superficial**

Para ello las muestras fueron llevadas a un microdurómetro marca Leitz (Alemania) Se realizó una primera medición de la superficie de microdureza, antes de iniciar los ciclos experimentales, para ello se usó la prueba Vickers con 50 g de presión por 5s.<sup>3</sup> La medición se realizó en todas las muestras de los distintos grupos.

Luego de terminado el proceso las muestras fueron almacenadas en saliva artificial (5ml por muestra)<sup>39</sup> hasta el siguiente día.

Al concluir los ciclos experimentales se realizó una nueva medición de la superficie de microdureza usando la prueba Vickers con 50 g de presión por 5 s.<sup>3</sup>

### **V.8. Determinación del pH**

Todas las bebidas utilizadas en el experimento tenían una fecha de producción no mayor a 6 meses y pertenecían al mismo lote de fabricación, a excepción de la pulpa de *Myrciaria dubia* (Camu-camu), misma que fue producida la misma semana de la ejecución de los ciclos erosivos.

Para el cálculo de pH se utilizó el potenciómetro 525A (Orion, Benchtop, EE.UU.) el cual fue previamente calibrado utilizando un electrodo de vidrio 8102PN (Thermo Fisher Scientific Orion, EE.UU)<sup>47</sup> cabe señalar que todo el procedimiento se realizó bajo constante agitación.

El procedimiento para calibrar el potenciómetro incluyó los siguientes pasos: primero, se introdujo el electrodo en un vaso de vidrio con una solución buffer de pH 7; segundo, la sensibilidad del aparato fue ajustada a 95% y se realizó la calibración para evaluar el valor 7; tercero, el electrodo luego de ser removido fue lavado con agua destilada y secado; para finalizar, el electrodo se introdujo en otro vaso de vidrio con una solución buffer de pH 4. El procedimiento de calibración fue repetido, esta vez para evaluar el valor 4.<sup>47</sup>

Para analizar el pH tanto de las bebidas que forman parte del estudio, se colocaron 5 ml de cada una de ellas a temperatura ambiente en frascos descartables respectivamente rotulados. Se realizaron 3 mediciones por grupo, en cada medida se empleó una bebida nueva.<sup>47</sup> Los resultados fueron registrados en una ficha.

#### **V.9. Determinación de la acidez titulable**

Para el cálculo de titularidad se empleó una solución estandarizada a base de hidróxido de sodio (NaOH). Se colocó 5 ml de cada bebida dentro de un vaso de vidrio. Luego se determinó el pH inicial con un potenciómetro 525A (Orion, Benchtop, EE.UU.). Seguidamente, con una pipeta se agregó NaOH a 0.1 mol/L, este procedimiento se realizó hasta que cada bebida alcanzó un valor de pH 7.<sup>47</sup> Todo el procedimiento se realizó en constante agitación, realizaron 3 mediciones por grupo en cada medida se empleó una bebida nueva. Finalmente se recolectaron los valores de titularidad en ml para cada bebida y se registraron en una ficha.

#### **V.10. Microscopia electrónica de barrido**

Se seleccionó una muestra de cada grupo para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido Quanta 650 (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.) para caracterizar la superficie del esmalte expuesto a las diferentes bebidas.

### **V.11. Plan de análisis**

Para el análisis de los datos, se realizó un análisis univariado de las variables microdureza, pH y acidez titulable de los datos según las bebidas utilizadas.

Se comparó la diferencia de microdureza del esmalte inicial y final post inmersión en las bebidas. Se verificó la normalidad de los datos (Microdureza) y al presentar normalidad se utilizó la prueba de ANOVA y el post test de Tukey con un nivel de significancia de 0.05%, para ello se uso el programa Biostat Pro 5.9.8.

### **V.12. Consideraciones éticas**

La presente investigación fue presentada al Comité Institucional de Ética de la UPCH para pedir su revisión y aprobación la cual fue aprobada el 14 de agosto del 2017.

## VI.RESULTADOS

En la Tabla 1 se observan los los valores de pH y acidez titulable de los diferentes grupos.

En la Tabla 2 y Gráfico 2 se observan los valores iniciales, finales y diferencias de microdureza superficial del esmalte de acuerdo a la bebida utilizada

Se analizó la normalidad de los datos utilizando la prueba de Shapiro Wilk con la cual se encontró normalidad en la distribución de los datos.

La prueba *post hoc* de Tukey evidenció que el Camu-camu produjo la mayor disminución de microdureza del esmalte ( $p < 0.05$ ) seguido de el Camu-camu con té verde. La exposición a agua y a té verde produjeron leve aumento de la microdureza del esmalte sin diferencias entre ellas ( $p > 0.05$ ).

En la tabla 3 se muestra la comparación de la diferencia de microdureza superficial del esmalte expuesto a las bebidas.

En la Figura 1 se muestra la caracterización de la superficie del esmalte con microscopía electrónica de barrido con 1200x de magnificación, en la imagen “a” se observa la superficie del esmalte previo al inicio de los ciclos erosivos, se puede apreciar una superficie uniforme. En la imagen “b” se aprecia la superficie que la que se utilizó Camu-camu y se puede observar un patrón irregular similiar al de un panal de abejas. En la imagen “c” de observa una superficie uniforme muy similar a la de la imagen “a”, en esta superficie se utilizó té verde. En la imagen “d” se puede notar una superficie con un patrón mixto similar al de la imagen “b” y “c” en está superficie se utilizó Camu-camu + té verde. En la imagen “e” se aprecia un patrón regular muy similar al de las imágenes “a” y “c”, esta superficie fue sumergida en agua destilada como control.

**Tabla 1.** Valores de pH y acidez titulable

	pH		AT	
	Promedio	Desv est	Promedio (ml)	Desv est
<b>Camu-camu</b>	2.90	0	1.08	0.02
<b>Té verde</b>	6.71	0.005	0	0
<b>Camu-camu con té verde</b>	2.96	0.011	0.75	0.02
<b>Agua</b>	6.43	0.066	0	0

pH: Unidad de medida 0-14

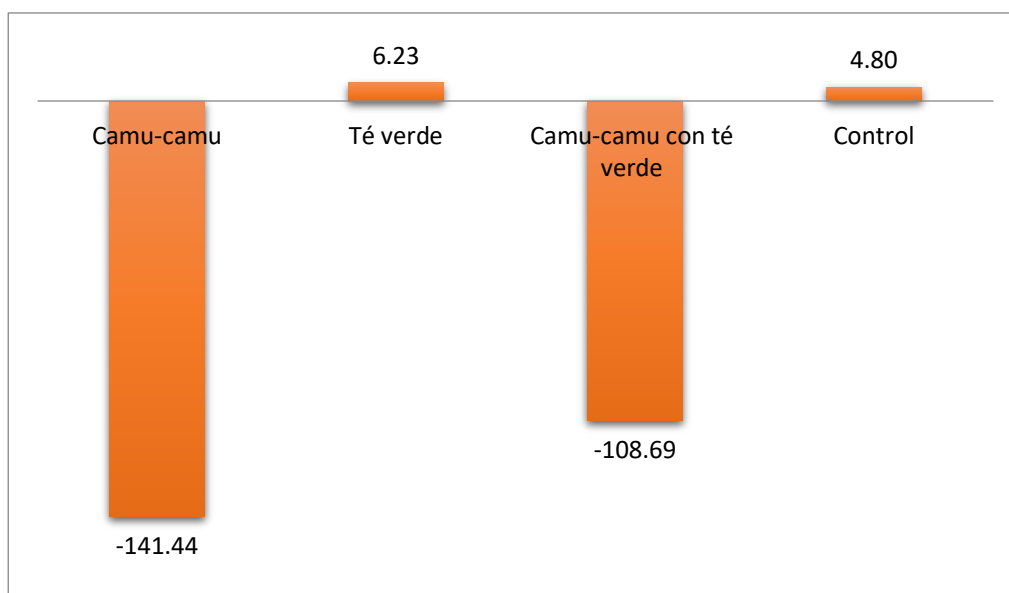
AT: ml de hidróxido de sodio 0.1 mol/L

**Tabla 2.** Microdureza superficial (kg/mm<sup>2</sup>) del esmalte antes y después de la exposición a las bebidas.

	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>Diferencia</b>	<b>PPD</b>
<b>Camu-camu</b>	182.31	40.87	- 141.44	77.58%
<b>Té verde</b>	180.7	186.9	+ 6.23	0%
<b>Camu-camu con té</b>	181.12	72.43	- 108.69	60%
<b>Agua</b>	182.29	187.09	+ 4.8	0%

Unidad de medición kg/mm<sup>2</sup>

PPD: Porcentaje de pérdida de dureza



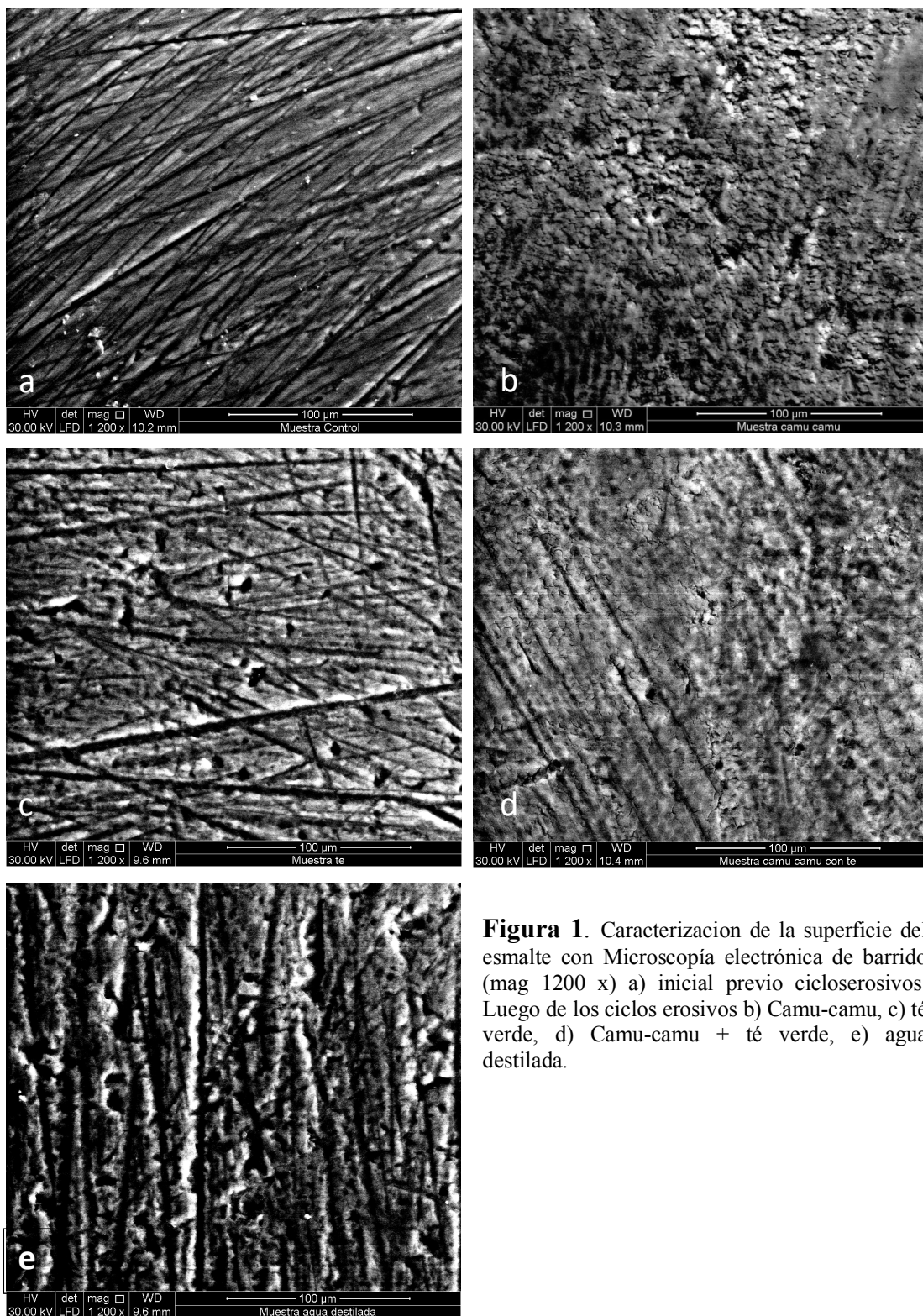
**Gráfico 1.** Diferencia de microdureza del esmalte dental expuesto a las distintas bebidas.

**Tabla 3.** Comparación de la diferencia de microdureza superficial del esmalte expuesto a las bebidas.

<b>GRUPOS</b>	<b>X(DS)</b>	<b>SIGNIFICANCIA</b>
<b>Camu-camu</b>	- 141.4414 (18.31)	c
<b>Té verde</b>	+6.237143 (11.32)	a
<b>Camu-camu con té verde</b>	-108.69 (17.84)	b
<b>Agua</b>	+4.8 (3.63)	a

ANOVA/Tukey

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa



**Figura 1.** Caracterización de la superficie del esmalte con Microscopía electrónica de barrido (mag 1200 x) a) inicial previo cicloerosivos. Luego de los ciclos erosivos b) Camu-camu, c) té verde, d) Camu-camu + té verde, e) agua destilada.

## VII. DISCUSIÓN

Para la ejecución de la presente investigación se conformaron cuatro grupos de muestras: a) Camu-Camu, b) té verde, c) Camu-camu con té verde, d) agua (control). Basándose en el objetivo principal de este trabajo que fue evaluar el efecto neutralizante del té verde en el jugo de *Myrciaria dubia* (Camu-camu) se realizaron pruebas de microdureza con el objetivo de evaluar la pérdida de mineral, dicha prueba es comúnmente utilizada en este tipo de estudios como los de Barbosa (2011); De Melo *et al* (2015); Rodrigues De Moraes *et al* (2016).<sup>8,3,9</sup>

Los ciclos erosivos consistieron en sumergir las muestras en las distintas bebidas por 1 min, seguido de 3 min en saliva artificial. Dichos ciclos se repitieron 5 veces en un tiempo de 20 minutos para simular mejor los hábitos del consumo diario de las bebidas (desayuno, almuerzo, luego de realizar alguna actividad física, o cena) los procedimientos fueron realizados durante 5 días seguidos, finalmente el tiempo total de exposición por muestra fue 1 hora y 40 min.

Se eligió este procedimiento debido a que permite simular de manera más real el consumo cotidiano que se tiene de las distintas bebidas, ya que su ingesta no es realizada una sola vez en el día o por periodos de tiempo prolongados, por ejemplo esta metodología difiere de la realizada por Jayarajan *et al* (2011)<sup>36</sup> cuyo ciclo erosivo fue de 5h por un solo día, o el ciclo erosivo que utilizó Barbosa *et al* (2011)<sup>8</sup> que consistió en 10 min de erosión y luego 1h en saliva artificial, proceso que se repitió 4 veces al día por un solo día.

Estudios previos como el de Syed y Chadwick (2009)<sup>48</sup> informan que ciclos erosivos de 60 minutos son suficientes para producir una pérdida de esmalte superficial, exponiendo la capa subsuperficial del esmalte dental, protocolo que fue corroborado por Benjakul y Chuenarron (2011).<sup>49</sup> Los ciclos erosivos son muy variados y en la

literatura no existe un consenso sobre el tiempo adecuado para producir erosión en el esmalte dental.

En los resultados del presente estudio se encontró que el Camu-camu presentó un efecto erosivo sobre el esmalte dental, existen varios indicadores que pueden condicionar este efecto; entre ellos tenemos el pH, tipo de ácido y acidez titulable del Camu-camu el cual por ejemplo ha sido determinado por Zapata y Dufour (1993)<sup>50</sup> quienes realizaron un análisis químico de la fruta y describieron un pH: 2.56 en la fruta madura, y una concentración de ácido ascórbico de: 9 -39%, años más tarde Hernandez (2010)<sup>7</sup> afirmaría que el Camu-camu presenta: pH 3.0 – 3.2, ácido ascórbico de 2.2% y una acidez de 2 ml de hidróxido de sodio.

La literatura establece que toda bebida natural o industrializada con un pH inferior a (5.5) es potencialmente erosiva para el esmalte dental. Estudios publicados a lo largo de los años proporcionan información sobre el pH de jugos de frutas que son erosivas para el esmalte dental y con ello podemos establecer una comparativa con el Camu-camu; así tenemos a Sabyasachi *et al* (2011)<sup>26</sup> quienes determinaron el potencial erosivo del jugo de lima pH:4.5, jugo de granada pH:4.4, jugo de manzana pH:3.3 y el jugo de guayaba con pH:3.1, estableciendo en base al pH un alto potencial erosivo contra el esmalte de los mencionados jugos.

Nirmala (2011)<sup>24</sup> comparó el pH y los oligoelementos de diferentes jugos de frutas y su relación con la erosión de esmalte, encontrando que el jugo piña presentaba un pH: 3.30, jugo de uva pH:3, jugo de caña pH:4.20, jugo de naranja pH:3.26, jugo de limón dulce pH:3.50, jugo de mango pH:4.20, jugo de granada pH:3.06, jugo de manzana pH:5.25, jugo de zapote pH:4.80, y el jugo de sandía pH:3.80, todos por debajo el pH crítico, proporcionándoles un alto potencial erosivo, además en base a la composición

de oligoelementos el autor afirma que los jugos de piña, uva y caña tienen oligoelementos tales como selenio, hierro y manganeso que no colaboran en la protección de la matriz del esmalte ante el ataque de bebidas ácidas; caso contrario se presenta con el jugo de naranja, limón dulce, mango, granadilla, manzana, zapote y sandía, los cuales poseen oligoelementos como el flúor y fósforo que se considera ayudan a proteger la matriz del esmalte ante elementos potencialmente erosivos.

Jensdottir *et al* (2006)<sup>23</sup> estudiaron los efectos erosivos de gaseosas y zumos de naranja dentro de los primeros minutos de exposición, así como también los efectos protectores de las proteínas salivales, en este estudio se muestra que el potencial erosivo de bebidas ácidas dentro de los 3 primeros minutos de exposición depende del pH de las bebidas y que las proteínas salivales humanas las que pueden reducir el potencial erosivo de las bebidas hasta en un 50 %.

En el presente estudio se determinó el pH del jugo de Camu-camu pH: 2.9, té verde pH: 6.71, Camu-camu con té verde pH: 2.96 y agua pH: 6.43, resultados similares a los encontrados en las investigaciones de Zapata y Dufour (1993)<sup>50</sup> y Hernandez (2010)<sup>7</sup> en referencia al pH del Camu-camu, y confirma al pH como un indicador del potencial erosivo del jugo de Camu-camu sobre el esmalte dental, además se mezcló Camu-camu con té verde en un intento por neutralizar el pH del jugo de Camu-camu, pero no se obtuvo mayor variabilidad en los resultados.

En cuanto al pH del té verde y del agua se comprobó su neutralidad lo que se traduce en un nulo potencial erosivo en contra del esmalte dental.

Rodrigues De Moraes *et al* (2016)<sup>9</sup> señalaron que el té verde presenta *epigallocatequina-3-galato (EGCG)* un polifenol con potente acción inhibidora de las MMP, Barbosa *et al* (2011)<sup>8</sup> determinaron que 1.2 g de té verde contiene 30% de

EGCG. Suyama *et al* (2011)<sup>44</sup> y Barbosa *et al* (2011)<sup>8</sup> además hacen hincapié en el contenido de Flúor que posee el té verde como agente remineralizante contra la erosión dental, éste último señala que el té verde presenta 39 ppm de flúor en su composición lo que contrarresta entre un 15 y 40% la desmineralización.

Se ha mencionado que la epigallocatequina-3-galato (EGCG) inhibe las MMP, Magalhães *et al* (2009)<sup>51</sup> y Kato *et al* (2009)<sup>52</sup> describen que esto se produce mediante interacciones hidrofóbicas con la colagenasa, el EGCG podría conducir a cambios en la conformación de la región catalítica de la MMP-2, además inhibe la activación de MMP-8 y MMP-9 de las cuales se ha demostrado que afectan a la remineralización de dentina desmineralizada.

Para entender el rol del Flúor en los procesos de desmineralización y erosión Gómez y Emilson (2005)<sup>53</sup> describen el proceso de una manera muy concisa. Teniendo en cuenta que el esmalte está compuesto por hidroxiapatita, fluorapatita y está rodeado por saliva, misma que se encuentra sobresaturada de iones calcio, fosfato y flúor. En un pH superior a 5.5 la gradiente de difusión iónica de la saliva hacia el esmalte evita que exista una degradación de la matriz de este, como consecuencia el esmalte mantiene su integridad, pero cuando se ingiere bebidas ácidas el pH desciende a valores críticos inferiores a 5.5 y la sobresaturación de iones en la saliva se altera produciendo cambios en el esmalte, hidrolizando sus sales en componentes iónicos es así que el esmalte se sobresatura de iones calcio, fosfato y flúor con respecto a la saliva invirtiendo la gradiente de difusión iónica, como consecuencia al poco tiempo y en ausencia de un proceso de remineralización (mismo que se produce en 20 minutos aproximadamente según Thylstrup y Fejerskov, 1986)<sup>54</sup> se inicia la erosión o desmineralización.

Es aquí donde el flúor cumple su principal función interfiriendo con la pérdida de minerales, disminuyendo la solubilidad del esmalte y favoreciendo a la remineralización.

En cuanto a la acidez titulable esta investigación determinó la acidez titulable del Camu-camu (1.08 ml de hidróxido de sodio 0.1 mol/L), Camu-camu con té verde (0.76 ml de hidróxido de sodio 0.1 mol/L) observando que se necesitó una cantidad baja de solución de hidróxido de sodio para neutralizar a las bebidas, resultados que no correlacionan a los encontrados por Benjakul y Chuenarrom (2011)<sup>49</sup> quienes estudiaron la asociación del pH y la acidez titulable de diversas bebidas con la pérdida del esmalte dental, en el citado estudio se analizaron 16 bebidas con un pH inferior al crítico (5.5). La relevancia de la acidez titulable se encontró cuando fueron comparadas dos bebidas con pH idéntico (pH 3.71) Carabao (bebida energética proveniente de Tailandia) y jugo de Guayaba. En el caso de Carabao la acidez titulable fue de 5.4 ml de hidróxido de sodio, por su parte el jugo de Guayaba obtuvo una acidez titulable de 1.7 ml de hidróxido de sodio. Los resultados mostraron que Carabao tuvo un mayor potencial erosivo sobre el esmalte dental que el jugo de Guayaba ya que en el cálculo de pérdida de esmalte el jugo de Guayaba obtuvo un 6.9% por su parte Carabao obtuvo 10.1% con respecto a la pérdida de esmalte, resultados que avalan a la literatura previa como el estudio de Barbour *et al* (2006)<sup>55</sup> el cual menciona que los indicadores más importantes para determinar el potencial erosivo de una bebida son pH, acidez titulable y el tipo de ácido.

Para la determinación de la acidez titulable del té verde y agua se necesitaron (0 ml de hidróxido de sodio 0.1 mol/L) debido a que son bebidas con pH neutro.

Cuando se combinó el Camu-camu con té verde hubo una menor pérdida de microdureza superficial (-108.69) comparada con la pérdida de microdureza superficial del Camu-camu (-141.4414) lo cual podría ser explicado por la dosificación de té verde que se usó para mezclar con el jugo de Camu-camu (80 ml de té verde en 220 ml de Camu-camu), la cual no fue suficiente para neutralizar completamente su efecto erosivo, tal como Rodrigues de Moraes *et al* (2016)<sup>9</sup> reportaron en su estudio que la baja concentración del té verde (0.0014%) puede ser la causa de no atenuar el efecto erosivo. Cabe agregar que no se utilizó una mayor dosificación de té verde para no modificar el sabor original del jugo de Camu-camu.

Con la finalidad de evaluar el efecto neutralizante del té verde ante el potencial erosivo del jugo de Camu-camu sobre la microdureza del esmalte, se combinaron las dos bebidas en la proporción explicada con anterioridad. Con la necesidad de lograr observar los posibles cambios morfológicos entre las muestras previo y posterior uso de las bebidas erosivas, se hizo uso de microscopía electrónica de barrido, un recurso muy utilizado para este tipo de investigaciones. Fue así que una muestra de cada grupo se observó antes y después de los ciclos erosivos en un microscopio electrónico de barrido Quanta 650 (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.) y así poder establecer los cambios en la morfología producidos por las distintas bebidas.

## **VIII. CONCLUSIONES**

1. El té verde neutralizó parcialmente el potencial erosivo del jugo de *Myrciaria dubia* (Camu-camu) sobre la microdureza del esmalte humano.
2. El Camu-camu produjo la mayor reducción de la microdureza de la superficie del esmalte, seguido del Camu-camu con té verde.
3. El té verde y el agua no provocaron pérdida de microdureza en el esmalte.
4. El Camu-camu y el Camu-camu con té verde son potencialmente erosivos en base a los valores obtenidos de pH y acidez titulable.

## **IX. RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda realizar más investigaciones relacionadas con erosión dental provocada por bebidas ácidas y las posibilidades de lograr neutralizarla.
2. Investigar distintas concentraciones de Camu-camu con té verde hasta lograr neutralizar el potencial erosivo del Camu-camu.
3. Potenciar los laboratorios de la UPCH para lograr un trabajo óptimo entre los distintos departamentos que laboran en la institución.

## X. REFERENCIAS

1. Luissi A, Jaggi T, Scharer S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. *Caries Res* 1993; 27:387-93.
2. Maximo B, Aquino M, Garcia E. Measurement of the erosive potential of different types of grape flavor industrialized beverages. *Revista Salusvita*. 2014. 34(1):45-55.
3. De Melo M, Lima J, Rodrigues M, Passos V, Parente G, Santiago S. Erosive Potential of Processed and Fresh Orange Juice on Human Enamel. *J Dent Child*. 2015; 82 (1) 10-15.
4. Peters C, Vásquez A. Estudios ecológicos del camu camu (*Myrciaria Dubia*) producción de frutos en poblaciones naturales. *Acta amazónica*.1986;16:161-74.
5. Chang A. El camu camu aspectos químicos farmacológicos y tecnológicos [ libro electrónico]. Ica-Perú: IIAP; 2013[Consultado: 20 de febrero del 2017] Disponible en: [http://www.iiap.org.pe/Archivos/publicaciones/Publicacion\\_2098.pdf](http://www.iiap.org.pe/Archivos/publicaciones/Publicacion_2098.pdf).
6. Madena R. Determinacao da formulacao e caracterizacao do néctar de camu camu. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas; 26(1):70-4.
7. Hernández M. Camu camu *myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh. Instituto amazónico de investigaciones científicas-Sichi. Bogotá-Colombia.2010.
8. Barbosa C, Kato M, Buzalaf M. Effect of supplementation of soft drinks with green tea extract on their erosive potential against dentine. *Aust Dent J*. 2011; 56(3):317-21.
9. Rodríguez de Morales M, Rodrigues J, Passos F, Lima S, Effect of green tea as a protective measure against dental erosion in coronary dentine. *Bra O Res*. 2016; 30(1): 1-6.
10. Ginn JF. Review of dentistry. St. Louis: The CV. Mosby Co.1956.
11. Budtz A, Jorgensen E. Prosthodontic for the elderly:diagnosis and treatment. Chicago: Qui Pub Co. Inc. 1999; p.26.
12. De Rossi C, Rossi G. Erosión o corrosión. De Rossi C Lesiones cervicales no cariosas la lesión dental del futuro. 1ed. Argentina: Panamericana; 2014. 19-57.
13. Eccles JD, Jeukins WG. Dental erosion and diet. *J dent*.1974;2:153-59.
14. Eccles JD. Tooth surface loss from abrasión, attrition and erosión. *Dental Update*. 1982; 9: 373-81.

15. O'Brien M. Children's Dental Health in the United Kingdom 1993. Office of Population Censuses and Surveys. London HMSO,1994.
16. Walker A, Gregory J, Bradnock G, Nunn JH, White D. National Diet and Nutrition Survey: Young people aged 4–18 years, report of the oral health survey. London: The Stationery Office; 2000 (2).
17. May J, Waterhouse PJ. Dental erosion and soft drinks: a qualitative assessment of knowledge, attitude and behaviour using focus groups of schoolchildren. A preliminary study. *Int J Paediatr Dent* 2003;13: 425-33.
18. Luo Y, Zeng XJ, Du MQ, Bedi R. The prevalence of dental erosion in preschool children in China. *J Dent* 2005; 33: 115-21.
19. El Karim IA, Sanhoury NM, Hashim NT, Ziada HM. Dental erosion among 12-14 years old schoolchildren in Khartoum: A pilot study. *Community Dent Health* 2007; 24:176.
20. Miller W, Experiments and observations on the wasting of tooth tissue variously designated as erosion, abrasion, chemical abrasion, and denudation. *Dent Cosmos* 1907;49: 225-47.
21. Zero, DT, Lussi A, Erosion - chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J, London* 2005; 55(4): 285-89.
22. Huew R, Waterhouse P, Moynihan P, Kometa S, Maguire A. Dental erosion and its association with diet in Libyan schoolchildren. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2011; 2 (5): 234-40.
23. Jensdottir T, Holbrook P, Nauntofte C. Buchwald C, Bardow A. Immediate Erosive Potential of Cola Drinks and Orange Juices. *J Dent Res*. 2006.85(3):226-30.
24. Nirmala S. A comparative study of pH modulation and trace elements of various fruit juices on enamel erosion: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2011; 29 (3):205-15.
25. Blacker S, Chadwick R. An in vitro investigation of the erosive potential of smoothies. *Bri Dent J*. 2013; 9 (4). 172-73.
26. Sabyasachi S, Venkatarayappa G, Shivkumar S, Kumar S. Effect of commonly consumed fresh fruit juices and commercially available fruit juices on pH of saliva at various time intervals. *J of Int Dent And Med Res*. 2011.
27. Assayag S, de Oliveira R. Avaliação do pH de Refrigerantes, Sucos e Bebidas Lácteas Fabricados na Cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr, João Pessoa*.2009; 9(3):347-53.

28. Rodrigues R, De Menezes, H, Cabral, L, Dornier, M, Reynes, M. An Amazonian fruit with a high potential as a natural source of vitamin C: the Camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Fruits*.2001; 56: 345-54.
29. Pinedo M. Sistema de producción de camu camu en restinga. 2001. IAAP Iquitos.
30. Klinar S, Chang A, Chanllio L. Evaluación de la actividad antioxidante de *Myrciaria Dubia* (H.B.&K) McVaugh (camu camu). Unica. 2007.
31. Rengifo E. Monografía: camu camu – *Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh. Perubiodiverso. Lima-Perú 2009.
32. Schwertz M. Hypolipidemic effect of camu camu juice in rats. *Rev nutr campinas*. 2012;25(1):35-44.
33. Inoue T. Tropical fruit camu camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and antiinflammatory properties. *J Cardiol*. 2008; 52(2): 127-32.
34. Yazawa K. Anti-inflammatory effects of seeds of the tropical fruit camu camu (*Myrciaria dubia*). *J nutr Sci Vitaminol*. 2011; 57(1):104-7.
35. Ten Cate JM, Buijs M, Chaussain C, Exterkate R. Elevated Fluoride Products Enhance Remineralization of Advanced Enamel Lesions. *J Dent Res*. 2008; 87 (10): 943-47.
36. Jayarajan J, Janardhanam P, Jayakumar P. Efficacy of CPP-ACP and CPP-ACPF on enamel remineralization – An in vitro study using scanning electron microscope and DIAGNOdent. *Indian J Dent Res*. 2011; 22(1):77-82.
37. Kumar v, Itthagaran A, King N. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Au Dent As*. 2008.
38. Vyavhare S, Sharma, Kulkarni VK. Effect of Three Different Pastes on Remineralization of Initial Enamel Lesion. *J Clin Pediatr Dent*. 2015; 39 (2): 49-60.
39. Navneet G, Vinod K, Sukrit G. Surface remineralization potential of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel eroded by cola-drinks: An in-situ model study. *Cont Clin Dent*. 2013; 4(3): 331-37.
40. Cardoso C, de Castilho A, Salomao P, Costa A, Magalhães A, Buzalaf M. Effect of Xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in vitro. *J Dent*, 2014 (42):1495-1501.
41. Zhang Xu, Li Y, Sun X, Kishen A, Deng X, Yang X, Wang H, Cong C, Wang Y, Wu M. Biomimetic remineralization of demineralized enamel with nanocomplexes of phosphorylated chitosan and amorphous calcium phosphate. *J Mater Sci Mater Med*. 2014;25(12):2619-28

42. Suyama E, Tamura T, Ozawa T, Susuki A, Lijima Y, Saito T. Remineralization and acid resistance of enamel lesions after chewing gum containing fluoride extracted from Green tea. *Aust Dental J.* 2011; 56(4): 394-400.
43. Benavente R. Microdureza y nanoindentación, efecto del grado de cristalinidad. *Materiales poliméricos amorfos y semi cristalinos.* CYTED.2011(1):2-31.
44. Microscopía electrónica de barrido UPV [Internet] Valencia:2012 [actualizado 31 de mayo del 2017; citado 7 de marzo 2017]. Disponible en: <http://www.upv.es/entidades/SME/info/753120normalc.html>.
45. Ferreira A. Avaliação de sucos de frutas sobre materiais restauradores utilizados em lesões vermicais não cáries. [Tesis Doctoral] Universidad de Paulo - Brasil. 2013.
46. WikiHow: Como hacer té verde chino [Internet] California: Rosy Guerra; 2005 [actualizado 20 de mayo 2017, citado 8 de marzo 2017]. Disponible en: <http://www.es.wikihow.com/hacer-té-verde>.
47. Vargas S, Delgado L. Evaluación in vitro del potencial erosivo sobre el esmalte humano de cervezas y piscos de consumo en la ciudad de Lima. [ Tesis de especialidad] UPCH, Lima-Perú, 2016.
48. Syed J, Chadwick. A laboratory investigation of consumer addition of UHT milk to lessen the erosive potential of fizzy drinks. *Br Dent J.* 2009;206 (3):152-58.
49. Benjakul P, Chuenarrom C. Association of dental enamel loss with the pH and titratable acidity of beverages. *J of Dent Sci.* 2011;6(3):129-33.
50. Zapata S, Dufour J. Camu-Camu *Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh: Chemical Composition of Fruit. *J Sci Food agric.* 1993; 61:349-51.
51. Magalhães A; Wiegand A; Rios D; Hannas A; Attin T; Buzalaf M. Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. *J Dent.* 2009;37 (12):994-98.
52. Kato M; Magalhães A; Rios D; Hannas A; Attin T; Buzalaf M. Protective effect of green tea on dentin erosion and abrasion. *J Appl Oral Sci.* 2009;17 (6): 560.
53. Gómez S. Fluoroterapia en Odontología. 4 ed. Cap 8.
54. Thylstrup A, Fejerskov O. *Caries.* 1ed. Barcelona: DOYMA;1986.
55. Barbour M, Finke M, Parker D, Hughes J, Allen G, Addy M. The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. *J Dent.* 2006; 34:207-13.

## **ANEXOS**

**Anexo 1. Cuadro de operatización de variables.**

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Tipo</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Escala de medición</b>	<b>Valores y categorías</b>
Bebidas Variable independiente	Bebida es cualquier líquido que se ingiere, término que se refiere por antonomasia a las bebidas alcohólicas y gaseosas.	Líquidos de consumo humano a base de frutas y hierbas que pueden producir o neutralizar pérdida de minerales.	Cualitativa	Tipo de bebida utilizada	Nominal	Jugo de camu camu Té verde Jugo de camu camu con té verde Agua
Microdureza Variable dependiente	Grado de resistencia de un área muy pequeña de la capa de superficie de un material.	Resistencia de un material o cuerpo pequeños.	Cuantitativa	Valor emitido por el microdurómetro en Vickers	Razón	Kgf/mm <sup>2</sup> (HV)
pH covariable	Coficiente que indica el grado ácido/base de una solución acuosa.	Grado de acidez de la bebida evaluada.	Cuantitativa	Valor emitido por el pH metro	Razón	0-14
Acidez titulable covariable	Cantidad de base necesaria para que un producto llegue a un pH neutro.	Concentración de iones hidrógeno.	Cuantitativa	NaOH	Razón	ml