

Variación del pH salival por consumo de chocolate y su relación con el IHO en adolescentes

Variation of salivary pH level for consumption of chocolate and its relationship with the IHO in adolescents

Recibido: Enero, 2012. Aceptado: Marzo, 2012

Antonio Armando Aguirre Aguilar*
Segundo Sergio Vargas Armas***Cirujano Dentista. Especialista en Odontopediatría. Profesor asociado del Departamento Académico de Estomatología. Universidad Nacional de Trujillo, Perú
Autor responsable
**Cirujano Dentista egresado de la Universidad Nacional de Trujillo, PerúDescriptor: cacao, saliva, índice de higiene oral, concentración de iones de hidrógeno
Keyword: cocoa, saliva, index of oral hygiene, hydrogen ion concentration

- Aguirre, A.A.A., Vargas, A.S.S. Variación del nivel del pH salival por consumo de chocolate y su relación con el IHO en adolescentes. Oral Año 13. Núm. 41. 2012. 857-861

resumen

La presente investigación tuvo como propósito determinar la relación entre el nivel de pH salival y los diferentes niveles de IHO, luego del consumo de chocolate en adolescentes de 12 a 13 años de edad. El estudio longitudinal y comparativo: se realizó en una población de 39 adolescentes divididos en tres grupos: individuos con Higiene Oral adecuada, aceptable y deficiente a los que se les realizaron dos mediciones de pH salival, uno basal y otro a los cinco minutos de ingerir una tableta de chocolate comercial, encontrándose que: para el grupo con IHO adecuado el pH basal fue de 7.39 ± 0.22 y después del consumo 7.08 ± 0.31 estableciéndose una variación de -0.30 ± 0.10 . $t=11.04$ $p<0.001$. En el grupo con IHO aceptable el pH basal fue de 7.30 ± 0.16 y después del consumo 6.95 ± 0.28 estableciéndose la variación de -0.35 ± 0.12 . $t=11.75$ $p<0.001$. En el grupo con el IHO deficiente el pH inicial fue 7.22 ± 0.18 y después del consumo 6.74 ± 0.16 estableciéndose una variación de -0.49 ± 0.05 . $t=38.10$ $p<0.001$. De la investigación se concluye que el pH salival a los cinco minutos después del consumo de chocolate sufre un descenso directamente proporcional al nivel de Higiene Oral sin llegar a niveles críticos para la desmineralización del esmalte dentario.

abstract

The aim of the study was to determine the relationship between the level of pH salivary and the different levels of OHI, after the consumption of chocolate in adolescents between 12 to 13 years old. The prospective, longitudinal and comparative study: conducted in a population of 39 adolescents who were divided in 3 groups; adolescents with appropriate, acceptable and deficient Oral Hygiene, two measurements of pH salivary was done, one baseline and another after 5 minutes from eating a comercial chocolate, the results were: For the group with OHI appropriate the pH was of 7.39 ± 0.22 and after consumption was 7.08 ± 0.31 establishing a variation of -0.30 ± 0.10 . $t=11.04$ $p<0.001$. In the group with OHI acceptable the basal pH was 7.30 ± 0.16 and after its consumption 6.95 ± 0.28 establishing a variation of -0.35 ± 0.12 , $t=11.75$ $p<0.001$. In the group with the OHI deficient the pH initial was 7.22 ± 0.18 and after the consumption of chocolate was 6.74 ± 0.16 establishing a variation of -0.49 ± 0.05 ; $t=38.10$ $p<0.001$. The conclusion was that the pH salivary with the consumption of chocolate suffers a directly proportional decline to the level of oral hygiene without reaching critical levels for the demineralization of tooth enamel.

Introducción

En Odontología las acciones de orden preventivo han cobrado gran importancia en estas últimas décadas, siendo el estudio de la saliva humana, uno de los puntos cruciales al considerar la variación de su pH como principal factor de medición del Riesgo Estomatológico para Caries, obteniéndose así, evidencias de funciones atribuibles a este fluido y relacionados directamente con el proceso de caries.^{1,2}

La saliva como secreción exocrina compleja, proviene de las glándulas salivales mayores en el 93% de su volumen y de las menores en 7% restantes, las cuales se extienden por todas las regiones orales.¹⁻⁸

La saliva contiene dos tipos principales de secreción proteica: secreción serosa rica en ptialina(a-amilasa), que es una enzima para digerir los almidones, y una secreción mucosa que contiene mucina, que cumple funciones de lubricación y protección de la superficie. Las glándulas

parótidas secretan exclusivamente saliva serosa, mientras que las glándulas submaxilares y sublinguales secretan ambos tipos. Las glándulas salivares menores son esencialmente mucosas.^{4,9,10}

El 99% de saliva es agua mientras que 1% restante está constituido por moléculas orgánicas e inorgánicas.^{2,4-6}

Entre los componentes orgánicos se encuentran carbohidratos, lípidos, aminoácidos, inmunoglobulinas (IgA, IgM, IgG), proteínas ricas en prolina, glicoproteínas, mucinas, histaminas, urea, ácido úrico, lactato, y algunas enzimas como alfa amilasas peroxidásas salivales y anhidrasas carbónicas.^{3,4-6,11}

Los componentes inorgánicos se comportan como electrolitos, siendo los más importantes: los iones de calcio, fosfatos y fluoruros de gran importancia en el proceso de remineralización, tiocinato, hiotiocinato, yodo y cloro, de interés en el mecanismo defensivo del hospedador; bicarbonato como elemento tampón; sodio, potasio, magnesio, amonio y dióxido de carbono; de estos el calcio

es el más importante, se encuentra unido a proteínas, ionizado o como ion inorgánico.^{3,4-6,10-12}

El biofilm dental es una comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un substrato o superficie, o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o la expresión de sus genes.^{13,14}

La placa dental puede ser clasificada en términos de su localización, supragingival y subgingival,^{8,15-18} por su potencia patógena como cariogénica y periodontopatogénica y por sus propiedades en adherentes o no adhrentes,¹⁹ ésta placa, de eliminarse mediante instrumentación mecánica se vuelve a formar en minutos¹⁵⁻¹⁷ y ha sido evaluada mediante diferentes índices para valorar la Higiene Oral en pacientes, siendo uno de los principales el IHO-S de Greene y Vermillion.^{1,3,12,13,17}

El pH de la cavidad bucal y el de la placa dentobacteriana están relacionados con la capacidad amortiguadora de la saliva, la que está determinada por la presencia de sistemas amortiguadores, tales como: bicarbonatos, fosfatos, amoníaco y proteínas, entre otros. Se ha propuesto la existencia de una estrecha relación entre la capacidad amortiguadora de la saliva y la incidencia de caries en los individuos.^{19,20}

El pH salival es la forma de expresar en términos de una escala logarítmica la concentración de iones hidrógeno que se encuentran en la solución salival, determinando así las características ácidas o básicas de la saliva. El pH salival tiende a la neutralidad con un valor promedio de 6.7 variando entre 6.2 y 7.6.^{20,21}

El chocolate -convertido en uno de los placeres gastronómicos más extendidos en el mundo- desde siempre ha sido considerado cariogénico, sin embargo, actualmente existen estudios del efecto inhibidor del cacao, ingrediente principal del chocolate, sobre la actividad bioquímica del *Streptococcus mutans*. A pesar de ello, estos estudios no pueden atribuirle una acción anticario-génica ya que su efecto no es inmediato.²²

El chocolate se obtiene mezclando azúcar con dos derivados de la manipulación de las semillas del cacao; una materia sólida (la pasta de cacao) y una materia grasa (la manteca de cacao). A partir de esta combinación básica, se elabora los distintos tipos de chocolate, que dependen de la proporción entre estos dos elementos y de su mezcla o no con otros productos tales como leche y frutos secos.²²⁻²⁶

Miller en 1890, con su teoría quimioparasitaria logró demostrar que las bacterias orales producen ácidos al fermentar los carbohidratos de la dieta y que esos ácidos disuelven el esmalte y ocasionan su deterioro, pero no fue hasta 1960 que Keyes estableció que la etiología de la caries dental obedecía a un esquema compuesto por tres agentes (huésped, microorganismos y dieta) que debe interactuar entre si a la cual se le denominó la triada de Keyes. En 1978, Newbrun adicionó el factor "tiempo" a la interacción de los mismos, siendo estos cuatro factores

imprescindibles para que se inicie la lesión cariosa.²⁷⁻³¹

Para poder comprender el mecanismo del proceso carioso hay que comprender las características elementales de las reacciones químicas de desmineralización y remineralización que se producen en la superficie del diente. El componente mineral del esmalte, la dentina y el cemento es la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. En un medio neutro, la hidroxiapatita se encuentra en equilibrio con el entorno acuoso local, que está saturado de iones Ca_2^+ y PO_4^{3-} .^{22,32}

La hidroxiapatita reacciona con los hidrogeniones a un pH de 5.5 o inferior. Los hidrogeniones reaccionan preferentemente con los grupos fosfato del entorno acuoso inmediatamente adyacente a la superficie del cristal. Podemos considerar este proceso como una conversión de PO_4^{3-} en HPO_4^{2-} por la adición de un hidrogenión. El HPO_4^{2-} no puede contribuir ya al equilibrio normal de la hidroxiapatita, ya que contiene PO_4^{3-} , no HPO_4^{2-} , y por consiguiente, el cristal de hidroxiapatita se disuelve. Es lo que se conoce como desmineralización.³²

Es posible invertir el proceso de la desmineralización si el pH es neutro y existen suficientes iones Ca_2^+ y PO_4^{3-} en el entorno inmediato. Los productos de la disolución de la apatita pueden alcanzar la neutralidad mediante el taponamiento o los iones Ca_2^+ y PO_4^{3-} de la saliva pueden inhibir el proceso de disolución mediante el efecto del ion común. Esto permite reconstruir los cristales de apatita parcialmente disueltos; es lo que se conoce como remineralización.^{32,33}

Stephan en 1940 demostró que entre 2 a 5 minutos después de enjuagarse con una solución de glucosa o sacarosa, el pH de la placa dentobacteriana desciende y retorna a su nivel basal dentro de los 40 minutos, este fenómeno se conoce como la curva de Stephan.^{34,35}

Lo característico de la curva de Stephan es que revela la caída rápida del pH de la placa, sin embargo la recuperación del pH puede tomar entre 15 y 40 minutos dependiendo de las características de la saliva de cada individuo y de la naturaleza del estímulo.³⁵

En el 2005, Olayo y col en Cuba, determinaron el flujo, pH y la actividad peroxidásica de la saliva estimulada en 82 niños de ambos sexos, con edades comprendidas entre 7 y 11 años concluyendo que el medio ácido es favorable para el desarrollo de caries.³⁶

Estudios in vitro, realizados en la Escuela de Estomatología de la Universidad Nacional de Trujillo en Perú determinan que tanto el cacao como los productos contenido cacao (chocolates) poseen efecto inhibitorio sobre el crecimiento del *Streptococcus mutans*.^{37,38} Esta área de investigación llega a la experimentación clínica y determina el efecto que el consumo de chocolate tiene sobre el pH salival en jóvenes, concluyendo que ante su consumo a los cinco minutos se produce una disminución significativa del pH salival³⁹; interrogantes, a partir de éstas investigaciones previas, surgen y para ello se propone determinar si el consumo de un chocolate comercial llega a variar el pH salival hasta niveles críticos para la

desmineralización del esmalte y/o dentina en diferentes condiciones de higiene oral en adolescentes de 12 a 13 años de edad.

Material y método

El estudio experimental empleó la fórmula de muestreo comparativo para variable cuantitativa $n = (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2S^2 / (X_1 - X_2)^2$, así fue realizado en muestras de saliva de 39 adolescentes estudiantes de 12 a 13 años de edad, seleccionados del Colegio Rafael Narváez Cadenillas de la Universidad Nacional de Trujillo, con CPO D moderado⁴⁰ y pH normal⁴¹, divididos en tres grupos según nivel de Higiene Oral (IHO-S)^{40,41} y siguiendo los principios de la Declaración de Helsinki⁴².

Cada grupo estuvo conformado por 13 adolescentes a los que se les efectuó una medición de pH antes del consumo de una tableta de chocolate y después de cinco minutos de consumirla utilizando el método para saliva no estimulada indicada por Tomas Seif².

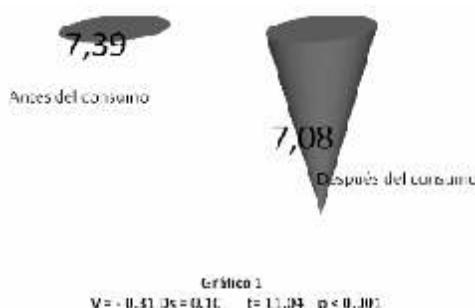
Después se realizó la recolección de la muestra y se registró el pH salival utilizando el potenciómetro HANNA HI98128 calibrado al inicio y cada diez muestras según método y recomendación del fabricante.

Los datos se procesaron de manera automatizada con el soporte del paquete estadístico SPSS- 15.0 luego se presentan los resultados en gráficos y tabla de acuerdo a los objetivos planteados. En el análisis estadístico se calculó el promedio de desviación estándar del pH y se utilizó la prueba T de student de grupos independientes y de grupos apareados; donde se consideró que la diferencia es significativa si la probabilidad de equivocarse es menor al 5% ($p < 0.05$).

Resultados

En el grupo de adolescentes con higiene oral adecuada se encontró que el pH salival antes de la masticación fue de 7.39 ± 0.22 mientras que después de su masticación fue 7.08 ± 0.31 estableciéndose una variación de pH de -0.31 ± 0.1 ($p < 0.001$) (Gráfico 1).

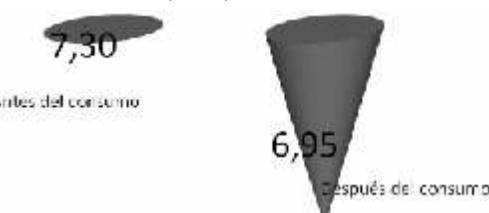
Variación del pH salival en adolescentes con IHO adecuado que consumen chocolate



Fuente: Muestras salivales obtenidas de alumnos del 1º grado de secundaria del Colegio Narváez Cadenillas -UNT, 2011.

En el grupo de adolescentes con higiene oral aceptable se encontró un pH salival antes de la masticación de 7.30 ± 0.16 mientras que después de su masticación fue 6.95 ± 0.28 estableciéndose una variación de pH de -0.35 ± 0.12 ($p < 0.001$) (Gráfico 2).

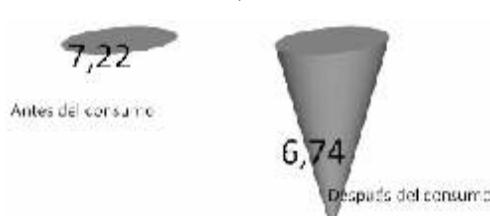
Variación del pH salival en adolescentes con IHO aceptable que consumen chocolate



Fuente: Muestras salivales obtenidas de alumnos del 1º grado de secundaria del Colegio Narváez Cadenillas -UNT, 2011.

En el grupo de adolescentes con higiene oral deficiente se encontró que el pH salival antes de la masticación fue de 7.22 ± 0.18 mientras que después de su masticación fue 6.74 ± 0.16 estableciéndose una variación de pH de -0.49 ± 0.05 ($p < 0.001$) (Gráfico 3).

Variación del pH salival en adolescentes con IHO deficiente que consumen chocolate



Fuente: Muestras salivales obtenidas de alumnos del 1º grado de secundaria del Colegio Narváez Cadenillas -UNT, 2011.

La comparación de variaciones de pH salival en adolescentes en los diferentes grupos de higiene oral después del consumo de chocolate estableció que entre los índices adecuado y aceptable se obtuvo una $t = 1.04$ $p > 0.05$, entre los grupos adecuado y deficiente una $t = 5.72$ $p < 0.001$ y entre los grupos aceptable y deficiente una $t = 3.70$ $p < 0.01$ (Tabla 1).

Tabla 1

IHO	VARIACIÓN DE pH SALIVAL		
	$\bar{x} \pm s$	t	p
Adecuado	-0.31 ± 0.12	1.34	>0.05
Aceptable	-0.35 ± 0.12		
Adecuado	-0.31 ± 0.10	6.71	<0.001
Deficiente	0.48 ± 0.15		
Aceptable	-0.05 ± 0.12	3.73	<0.05
Deficiente	-0.49 ± 0.05		

Fuente: Muestras salivales obtenidas de alumnos del 1º grado de secundaria del Colegio Narváez Cadenillas -UNT, 2011.

Discusión

Los estudios realizados al momento,^{35,39} sostienen la variación de valores estadísticamente significativos congruentes con el principio o Curva de Stephan que revela la caída rápida del pH de la placa luego de la exposición a una solución azucarada^{34,35}; en este caso con chocolate de leche que en su composición contiene azúcar²²⁻²⁶. La interrogante es entonces ¿éste descenso del pH salival, llega a niveles críticos para la desmineralización de los tejidos duros del diente?

Al respecto en el estudio, en el grupo de adolescentes con higiene oral adecuada, a pesar de haber determinado un descenso del pH con variación estadística altamente significativa, debemos tener presente que la acidificación de la saliva de 7.39 a 7.08 no representa niveles críticos de desmineralización tanto para el esmalte o para la dentina, al haber establecido ya autores, valores críticos en un rango de 5.3 a 5.7 para el esmalte y de 6.5 a 6.7 para la dentina^{21,29}. (Gráfico 1).

El mismo fenómeno se presentó en el grupo de adolescentes con higiene oral aceptable que a pesar de haber determinado una variación altamente significativa en la acidificación de la saliva de 7.30 a 6.95, de igual modo, no representa niveles críticos de desmineralización para los tejidos dentarios²⁹. (Gráfico 2).

Estos resultados coinciden con los reportados por Yabar E y col³⁹ en un estudio similar realizado en jóvenes estudiantes universitarios (19 a 25 años), lo que nos permitiría afirmar que la capacidad buffer y el comportamiento fisiológico de la saliva no variaría de la adolescencia a la juventud.

En el grupo de adolescentes con higiene oral deficiente se establece nuevamente una variación de pH altamente significativa, con una acidificación de la saliva de 7.22 a 6.74, siendo el valor mínimo de éste rango, el que representaría el riesgo de inicio de desmineralización sólo para la dentina²⁹, por lo que sólo en éstos individuos, alteraciones en el esmalte de sus órganos dentarios -como ab-

fracciones, erosiones, caries y demás que hayan expuesto al medio bucal a la dentina- iniciarían un proceso de desmineralización post consumo de chocolate. (Gráfico 3).

Comparando las variaciones de pH salival por consumo de chocolate entre los diferentes grupos de higiene oral encontramos diferencias significativas sólo entre los grupos relacionados con el nivel Deficiente, esto probablemente corrobore, que es en éste grupo, en el que se presentaría desmineralización de tejido dentinario luego del consumo de chocolate. (Tabla 1).

Al final del análisis se puede afirmar que el nivel de pH salival desciende significativamente con el consumo de chocolate, y éste descenso está relacionado al nivel de higiene oral, sin llegar a niveles críticos para la desmineralización del esmalte.

Conclusiones

1. El pH salival en el grupo con higiene oral adecuada desciende significativamente 0.309 iones libres de hidrógeno, después del consumo de chocolate.
2. El pH salival en el grupo con higiene oral aceptable desciende significativamente 0.354 iones libres de hidrógeno, después del consumo de chocolate.
3. El pH salival en el grupo con higiene oral deficiente desciende significativamente 0.485 iones libres de hidrógeno, después del consumo de chocolate.
4. El descenso del pH salival después del consumo de chocolate es directamente proporcional al nivel de Higiene Oral, sin llegar a niveles críticos para desmineralizar el esmalte y llegando al nivel superior crítico de desmineralización para la dentina sólo en el grupo con nivel de Higiene oral Deficiente.

Bibliografía

- 1.-Caridad, C. El pH, Flujo Salival y Capacidad Buffer en Relación a la formación de placa dental. ODOUS Científica (Internet). 2008 (consulta el 18 de febrero 2011); 10(1): 25-32. Disponible en: <http://servicio.cid.uc.edu.ve/odontologia/revista/v9n1/art3.pdf>.
- 2.Seif, R.T.J. Cariología. 1^{er} ed. Venezuela. Editorial Actualidades Odontológicas Latinoamericana, C.A.: 1997.
- 3.-Cuenca, E., Cuenca, S. Saliva y Placa Bacteriana. Odontología Preventiva y comunitaria. España: Editorial Masson; 2007.
- 4.-Llena, C. La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal (Internet). 2006 (consulta el 12 de Abril 2011); 11:449-455. Disponible en: <http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v11i5/medoralv11i5p449e.pdf>.
- 5.-Loyo, K., Balda, R., González, O., Lorena, A., González, M. Actividad cariogénica y su relación con el flujo salival y la capacidad amortiguadora de la saliva. Acta Odontol. Venez (Internet). 1999 (consulta 18 de Febrero 2011); 37 (3): 10-17. Disponible en: http://www.actaodontologica.com/ediciones/1999/3/actividad_cariogenica_relacion_flujo_salival.asp.
- 6.-Merino, S. Relación entre los niveles de flujo salival y estrés en estudiantes de la Escuela de Estomatología de la Universidad Nacional de Trujillo. (tesis para

obtener el grado de bachiller en Estomatología). Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo;2005.

7.-Infantes, E. Nivel de Flujo y pH salival en gestantes y no gestantes de 18-35 años de edad, que acuden al Hospital IV Victor Lazarte Echegaray. Estudio comparativo (tesis de bachiller en estomatología).Trujillo, Universidad Nacional de Trujillo;2008.

8.-Gómez, M., Campos, A., Histología y Embriología bucodental 2° ed México: Editorial Médica Panamericana;2002 pag.201-215.

9.-Guyton, A., Hall, J. Tratado de Fisiología Médica. 10°ed México: Editorial MacGraw-Hill Interamericana; 2001.pag. 314-330.

10.-Ganong, W. Fisiología Médica. 18°ed. México: Editorial El Manual Moderno: 2005.

11.-Sernaqué, R. Variación del flujo salival en niños asmáticos por el uso de inhaladores B2 adrenérgicos (tesis para obtener el título de Cirujano Dentista) Trujillo, Universidad Mayor de San Marcos, 2008.

12.-Newman, H.N. La Placa Dental. Ecología de la flora de los dientes humanos. 1°ed. México Editorial Manual Moderno, S.A.;1982.

13.-Serrano, J., Herrera, D., León, R. Placa Bacteriana. Su papel en las enfermedades de la encía. Factores que modifican la acción de la placa bacteriana. En: Manual de Higiene Bucal de la Sociedad Española de Periodoncia y Oseointegración (Internet). 1°ed. España: Editorial Médica Panamericana; 2009: 1-7. Disponible en: http://beta.medicapanamericana.com/uploads/archivos_obra/45affa497a44ac7c31f8b326b8ca876b36c5c9bc.pdf.

14.-Serrano, J., Herrera, D. La placa dental como biofilm. ¿Cómo eliminarla? RCOE(Internet).2005(consulta el 18 de Febrero);10 (4):431-439.

15.-Lindhe, J., Lang, N.P., Karring, T. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 5°ed. Estados Unidos: Editorial Blackwell Munksgaard; 2008.

16.-Lindhe, J., Lang, N.P., Karring, T. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 4°ed. México: Editorial Panamericana; 2003.

17.-Carranza, F.A., Newman, M.G., Takei, H.H. Periodontología Clínica. 9°ed. México: Editorial Mc Graw Hill Interamericana; 2004.

18.-Genco, R.J., Golman, H.M., Cohen, D.W. Periodoncia. 1° ed. México: Editorial Mc Graw-Hill Interamericana, 1990.

19.-Francia, C., Lissara, R., Battellino, L. Película Adquirida Salival: Revisión de la Literatura. Acta Odont. Venezuela (Internet). 2007(consulta el 18 de Febrero 2011); 45(3): 1-11. Disponible en: <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2007/3>.

20.-Baños, F., Aranda, R. "Placa Dentobacteriana". AMD 60(1): 34- 36, enero-febrero 2003.

21.-Jenkins, G. N. Fisiología y Bioquímica Bucal. Editorial Limusa. México 1993.

22.-Colaboradores de Wikipedia. Chocolate [en línea]. Wikipedia. La encyclopædia libre. 2009 [fecha de consulta: 15 de enero de 2010]. Disponible en <http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Chocolate&oldid=25483711>

23.-Colaboradores de Botanical- online SL. Propiedades alimentarias y medicinales del chocolate [en línea]. Botanical- online SL, 2009 [fecha de consulta: 15 de enero de 2010]. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/chocolate.htm>.

24.-Colaboradores de Wordreference. Chocolate- Significados en español y discusiones con el uso de "chocolate" [en línea]. Wordreference, Diccionario de la lengua, 2009 [fecha de consulta: 15 de enero de 2010]. Disponible en: <http://www.wordreference.com/definicion/chocolate>.

25.-Butov, I., Sapere, B. Chocolate [en línea]. Arte y Ciencia del Buen Comer, Enciclopedia Gourmet, 2006 [fecha de consulta: 16 de enero de 2010]. Disponible en http://www.delbuencomer.com.ar/index_archivos/chocolate.htm.

26.-García, W. Análisis de la cadena de Golosinas de chocolate [en linea].1998 [fecha de consulta: 16 de enero de 2010]. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/azucar/choco/G_chocolate.htm.

27.-Hørsted- Binslev, P., Mjör, I.A. Modern Concepts in Operative Dentistry. 1a ed. Copenhagen: Munksgaard; 1988.

28.-Thylstrup A., Ferjerskov O. Textbook of clinical cariology. 2a ed. Copenhagen: Munksgaard;1994.

29.-Henostroza, G., Henostroza, N., Úrzua, I. En: Henostroza G., coordinador. Caries Dental: Principios y procedimientos para el diagnóstico. 1a ed. Lima: Ripano; 2007 p. 16-36.

30.-Liébana, J. Microbiología oral. Editorial Latinoamericana. Madrid. España.1995.

31.-Negroni, M. Microbiología Estomatológica. Fundamentos y Guía Práctica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires 1999.

32.-McIntyre, J. Características y progresión de la caries dental. En Mount G.J., Hume W.R. coordinadores. Conservación y restauración de la estructura dental. 1a ed. Madrid: Harcourt Brace; 1999. p. 9-17

33.-Nithila, A. Bourgeois, D. et col. "Banco Mundial de Datos sobre Salud Bucodental de la OMS, 1986-1996: panorámica de las encuestas de salud bucodental". Rev. Panam. Pública / Public Health 1988; 4(6): 411- 415.

34.-Dawes, C. What is the critical pH and Why does a tooth dissolve in Acid? J. Can Dent Assoc. 2003; 69 (11): 722-4.

35.-Stephan, R. Changes in Hydrogen-ion concentration on tooth surface and in carious lesions. J. Amer. Dent. Ass 27, 718 (1940).

36.-Olayo, A., y col. Determinación del flujo, el pH y la actividad peroxidásica salival en niños con diferentes grados de caries dental. Revista Habanera Ciencias Médicas vol.4,2005.

37.-Rosas, M. Efecto "in vitro" de cuatro derivados comerciales del cacao sobre el crecimiento del Streptococcus mutans. Tesis de Bachiller en Estomatología. Universidad Nacional de Trujillo. 2008.

38.-Briceño, P. Efecto "in vitro" de los chocolates: Sublime, Triángulo de D'onofrio, Costa Nuss maní extra grande y Triángulo Dark; sobre el crecimiento del Streptococcus mutans. Tesis de Bachiller en Estomatología. Universidad Nacional de Trujillo. 2009.

39.-Yabar, E., Aguirre, A. Variación de pH salival en jóvenes por consumo de chocolate de leche. Vis dent. Enero-Febrero 2011; 14 (1): 729-33.

40.-Araya, C., et al. Ciencia Ahora. Descripción de factores de riesgo para la salud en general en estudiantes de 3° año de las carreras del área de la salud y humanistas de la Universidad de Concepción, año 2007. Ciencia...Ahora. Marzo-Setiembre 2008; 21 año 11: 19-28.

41.-Namoc, J. Relación entre el nivel de biofilm dental con flujo, pH y capacidad buffer salivales en 58 estudiantes de 15 y 16 años. [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista], Trujillo, Universidad Nacional de Trujillo; 2011.

42.-Carter, Greco, Kloiber, Letlape y Nelson. Informe del grupo de trabajo sobre la revisión del párrafo 30 de la declaración de Helsinki. Asociación Médica Mundial. 2004.