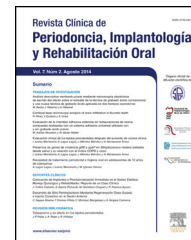




Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral

www.elsevier.es/piro



TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Capacidad buffer de la saliva en presencia de bebidas energéticas comercializadas en Chile, estudio in vitro



Jenny Carolina Sánchez González^a, Iván Urzúa Araya^a, Simone Faleiros Chiocca^a,
Juan Pablo Lira Toro^b, Gonzalo Rodríguez Martínez^c y Rodrigo Cabello Ibacache^{a,*}

^a Facultad de Medicina, Escuela de Odontología, Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo

^b Dentista general

^c Departamento de Restauradora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile

Recibido el 30 de septiembre de 2013; aceptado el 1 de junio de 2014

Disponible en Internet el 7 de abril de 2015

PALABRAS CLAVE

Capacidad buffer;
Bebidas energéticas;
pH;
Saliva

Resumen

Objetivo: Determinar la capacidad buffer de la saliva al ser añadida a distintas bebidas energéticas comercializadas en Chile, mediante mediciones de pH in vitro.

Métodos: Fue requerida la participación de 3 pacientes jóvenes sistémicamente sanos, sin enfermedad de las glándulas salivales. Las muestras de saliva estimulada fueron obtenidas de cada paciente, las cuales fueron mezcladas y almacenadas en una sola muestra. Se seleccionaron 13 bebidas energéticas comercializadas a nivel nacional. Un total de 5 mL de cada bebida energética se distribuyó en 4 tubos Falcon. Se midió el pH de cada una de las bebidas energéticas, de la saliva y del agua potable. Se añadió 1 mL de agua potable al tubo Falcon número 1 y 1 mL de saliva a los 3 tubos restantes, cada 3 min hasta completar 13 mL de solución en cada uno (38% vol./vol.). Las mediciones de pH fueron realizadas en cada 1 mL añadido (saliva/agua), para permitir al ph-metro registrar de manera correcta.

Resultados: Los rangos de pH para las bebidas energéticas van desde pH $2,42 \pm 0,008$ (Battery Gingered®), hasta pH $3,44 \pm 0,005$ (Battery Sugar Free®). La saliva en promedio tuvo un valor de pH 7,99 y el agua potable de 7,05. La bebida que más logró aumentar el pH, luego de agregar la saliva, fue la bebida Speed® que llegó a un valor de pH 4,38, mientras la que logró menos fue la bebida Quick Energy®, con un valor de pH 3,37.

Conclusión: La capacidad buffer de la saliva logró aumentar entre 17 y 54% el pH de las bebidas energéticas analizadas en este estudio. Sin embargo, no pudo neutralizar los bajos niveles de pH de estas bebidas más allá de un pH final de 4,38, que es crítico para la estructura dentaria.

© 2013 Sociedad de Periodoncia de Chile, Sociedad de Implantología Oral de Chile y Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral de Chile. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: rcabelloi@hotmail.com (R. Cabello Ibacache).

KEYWORDS

Buffering capacity;
Energy drinks;
pH;
Saliva

In vitro* study of the buffering capacity of saliva in the presence of energy drinks sold in Chile*Abstract**

Objective: To determine, using *in vitro* pH measurements, the buffering capacity of saliva when added to different energy drinks sold in Chile.

Method: The participation of 3 young and systemically healthy patients, with no diseases of the saliva glands, was obtained. Samples of stimulated saliva were obtained from each patient and then mixed and stored as one sample. The study used 13 energy drinks sold nationwide, with 5 mL of each one being distributed into 4 Falcon tubes. The pH of each of the energy drinks, the saliva sample, and drinking water was measured. 1 mL of drinking water was added into Falcon tube number 1, and 1 mL of saliva into the 3 remaining every 3 min until completing 13 mL of solution in each one (38% vol./vol.). The pH measurements were performed upon adding each 1 mL (saliva/water) to allow the pH meter to correctly register the data.

Results: The pH levels for energy drinks range between pH 2.42 ± 0.008 (Battery Gingered®), to pH 3.44 ± 0.005 (Battery Sugar Free®). The saliva had a mean pH value of 7.99, and 7.05 for drinkable water. The energy drink that achieved a higher increase in pH level was Speed®, reaching a value of pH 4.38, while the energy drink that increased the pH level the least was Quick Energy®, only reaching a pH of 3.37.

Conclusion: The buffering capacity of saliva managed to increase the pH level of energy drinks analyzed in this study between 17 and 54%. However, saliva was unable to neutralize further than 4.38 the low levels of pH in these drinks, thus being critical to dental structure.

© 2013 Sociedad de Periodoncia de Chile, Sociedad de Implantología Oral de Chile y Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral de Chile. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

El consumo de bebidas deportivas y energéticas, especialmente en niños y adolescentes de los EE. UU., ha aumentado durante los últimos años¹. Se ha informado que aproximadamente el 30-50% de los adolescentes y adultos jóvenes en los EE. UU. consumen bebidas energéticas y que entre el 51 y el 62% de los adolescentes consumen por lo menos una bebida deportiva al día¹. En Chile, la realidad no es muy diferente, ya que el consumo de estas bebidas energéticas ha aumentado desde su llegada hace 10 años, con un crecimiento de hasta el 26,7%².

Se presume que la mayoría de los consumidores no están plenamente informados de los contenidos de estas bebidas y, por lo general, piensan que son mejores y más saludables para los dientes que las bebidas carbonatadas. Sin embargo, la acidez de estas bebidas preocupa al sector odontológico debido al potencial de erosión que esta posee sobre el esmalte dentario³.

La erosión dental es el resultado físico de un ataque con ácido (no debido a las bacterias) sobre cualquier superficie expuesta del diente, causando locales desmineralizaciones de los tejidos duros dentales⁴. El potencial erosivo de una bebida está determinado por ciertos factores como: el pH, la capacidad buffer de la saliva frente a los ácidos, el tiempo de exposición y frecuencia de ingesta de la bebida, entre otros⁵.

Las bebidas energéticas son sustancias sin alcohol y con algunas virtudes estimulantes, las cuales no deben confundirse con las bebidas deportivas, cuya función principal es la hidratación. En los últimos años se ha investigado sobre

sus componentes, analizando principalmente el contenido de azúcar (hidratos de carbono), cafeína, guaraná, vitaminas y ácido cítrico. El ácido cítrico presente se ha reportado que es muy erosivo para el esmalte dentario, ya que el efecto desmineralizador sobre él continúa incluso después de neutralizar el pH¹.

Seow et al.⁶ realizaron un estudio sobre el efecto erosivo de algunas bebidas comunes sobre premolares extraídos. Analizaron bebidas como Coca-Cola®, jugo de limón, Pepsi® y Red Bull®, entre otras. Realizaron mediciones de pH y como este se comporta al agregar saliva y agua. Lograron demostrar una reducción en el grosor del esmalte dentario al exponerlo en las bebidas más ácidas. Pero no analizaron más a fondo la bebida Red Bull®, a pesar de presentar un pH de 3,1.

Hasta la fecha, la bebida energética con más estudios en esta materia es la bebida Red Bull®⁶⁻⁹. Sin embargo, recientemente Jain et al.¹⁰ compararon las bebidas energéticas con las bebidas deportivas y cómo estas afectaban al esmalte dentario. Analizaron las propiedades químicas de ambos tipos de bebidas, pH, cantidad de flúor (ppm) y acidez titulable, es decir, la cantidad en moles de NaOH necesaria para neutralizar el pH de una sustancia. Los resultados mostraron que las bebidas energéticas tienen una acidez titulable mayor y menor cantidad de flúor comparadas con las bebidas deportivas. Son los primeros investigadores en analizar más de 2 bebidas energéticas, obteniendo resultados satisfactorios. El estudio encuentra una relación significativa entre acidez titulable y pérdida de esmalte dentario.

La saliva presenta un punto de saturación frente a diferentes sustancias que son ingeridas, y algunas personas

pueden tardar hasta 20-30 min en neutralizar el pH intraoral¹¹. En personas con baja concentración de calcio y fosfato, el pH crítico para la descalcificación de la hidroxapatita podría ser de 6,5; mientras que en aquellos esmaltes con altas concentraciones de calcio y fosfato, el pH crítico podría ser de 5,5, y de pH 4,5 para esmaltes con concentraciones de flúor^{8,11,12}.

Larsen y Nyvad¹³ investigaron in vitro el potencial erosivo de bebidas carbonatadas, aguas minerales y zumos de naranja, y compararon las profundidades de erosión con el pH y la capacidad de amortiguación. Concluyeron que la erosión fue mínima en las bebidas que contenían un pH superior a 4,2, pero se hizo más evidente con la disminución de pH por debajo de 4,0.

La gran variedad de bebidas energéticas disponibles en el mercado y su consumo frecuente, así como investigaciones que afirman que el contenido de ácido de estas bebidas puede provocar daños en la estructura dentaria, llevó a los autores a realizar este estudio con el fin de determinar la capacidad buffer de la saliva al ser añadida a diferentes bebidas energéticas disponibles en el mercado chileno, mediante la medición de pH in vitro a distintas concentraciones de solución.

Materiales y métodos

Diseño y selección de bebidas energéticas

El diseño experimental fue in vitro. Para la realización de este estudio fueron seleccionadas bebidas energéticas (n = 13) disponibles en más de un establecimiento de consumo masivo y con red de distribución a nivel nacional, supermercados, estaciones de servicio y pequeños establecimientos. Fue considerada como bebida energética aquella que tuviera ingredientes estimulantes como: cafeína, taurina, ginseng o guaraná.

Sujetos y recolección de saliva

Fueron seleccionados 3 adultos sanos⁶ (edad 18-25 años, de ambos sexos) estudiantes y miembros del personal de la Facultad de Odontología, Universidad del Desarrollo, los cuales aceptaron participar voluntariamente en este estudio y firmaron el formulario de consentimiento informado. Los criterios de inclusión fueron: ser mayores de 18 años, COPD 0 y estar dispuestos a completar un cuestionario de revisión médica. Los criterios de exclusión fueron: participación en cualquier estudio oral concurrente, padecer periodontitis, ser fumadores, tener historia de alergias, enfermedades cardíacas o sistémicas, haber recibido terapia de radiación de cabeza y cuello, padecer enfermedades metabólicas como la diabetes, y presentar otras condiciones médicas, así como consumir fármacos y colutorios que pudieran afectar la tasa de flujo salival.

Las muestras de saliva estimulada fueron recolectadas en la Clínica Odontológica de la Universidad del Desarrollo, Santiago (Chile), en 2 sesiones para cada individuo, bajo las mismas condiciones de temperatura y humedad, entre las 8 y las 12 de la mañana con el objetivo de reducir la influencia de los ritmos circadianos de cada sujeto. Todos los voluntarios se abstuvieron de comer o beber por los menos 8 h

antes de la recolección de saliva, y de realizar higiene bucal 2 h antes del estudio¹⁴. Se les permitió usar pasta dental fluorada durante la higiene bucal.

Cada voluntario se enjuagó la boca con agua durante 30 s y posteriormente masticó un trozo de cera de parafina sin sabor durante 5 min¹⁵. La saliva acumulada fue depositada en un envase de plástico de 60 mL. Este ejercicio se repitió 5 veces hasta acumular 50-60 mL de saliva por paciente, por sesión, para un total de 110 mL de saliva por individuo.

Las muestras salivales fueron almacenadas durante 7 días a una temperatura de $-21,5^{\circ}\text{C}$ para evitar contaminación bacteriana.

Confección del conjunto de saliva

Las muestras de saliva fueron trasladadas al Instituto de Ciencias de la Universidad del Desarrollo (Santiago, Chile). Una vez en el lugar, se dejaron descongelar a temperatura ambiente de $21,5^{\circ}\text{C}$. Toda la saliva se recolectó en un envase de vidrio, agrupando un total de 330 mL de saliva (110 mL por individuo). Luego, fueron divididas en 13 tubos Falcon de 25 mL y congeladas a $-21,5^{\circ}\text{C}$ durante 7 días.

Mediciones de pH

Las mediciones de pH fueron realizadas utilizando un electrodo de pH (HI 1110B, electrodo pH, conector BNC, 1m cable) conectado al equipo Hanna pH 21 (Woonsocket, EE. UU.). Previamente el electrodo fue calibrado al inicio de cada sesión utilizando soluciones de tampón estándares de pH 4,0 y 7,0. Todas las mediciones fueron hechas a $21,5^{\circ}\text{C}$ de temperatura.

Se procedió a descongelar las muestras de saliva a la temperatura anteriormente descrita. Posteriormente se vertieron 5 mL de bebida energética en 4 tubos Falcon y se midió el pH inicial. Se agregó 1 mL de agua al tubo número uno y 1 mL de saliva a los 3 tubos restantes cada 3 min hasta obtener una solución de 13 mL (38% vol./vol.). Las mediciones fueron hechas en cada 1 mL añadido (saliva y agua) en períodos de 3 min para permitirle al pH-metro registrar de manera correcta el pH. Este procedimiento se realizó con cada una de las bebidas energéticas. Se obtuvo un total de 3 mediciones (bebida energética + saliva) y una medición (bebida energética + agua) para cada tipo de bebida energética.

El pH de la saliva fue determinado midiendo cada alícuota de saliva de 25 mL, antes de ser mezclado con bebida energética, al igual que el agua potable.

Las pruebas se realizaron durante 5 días; entre cada procedimiento, el electrodo fue lavado con solución de lavado de proteínas para limpiar los residuos de saliva adosados, disminuyendo así algún error en la medición. Luego de terminar de ocupar el electrodo fue guardado en solución de almacenamiento.

Resultados

Los valores de pH de cada sustancia analizada se encuentran detallados en la [figura 1](#).

Los rangos de pH para las bebidas energéticas van desde pH $2,42 \pm 0,008$ (Battery Gingered®), hasta pH $3,44 \pm 0,005$

Valor de pH de bebidas energéticas analizadas	
Nombre	pH (± DS)
Adrenaline rush	3,16 ± 0,022
Battery	2,42 ± 0,010
Battery gingered	2,42 ± 0,008
Battery hydro	2,85 ± 0,008
Battery sugar free	3,44 ± 0,005
Burn	2,59 ± 0,014
Dark dog	2,84 ± 0,010
Dark dog light	2,87 ± 0,005
Enerday 6-horas	2,82 ± 0,017
Quick energy	2,72 ± 0,010
Red bull	3,34 ± 0,013
Red bull light	3,32 ± 0,008
Speed	2,85 ± 0,008
Agua potable	7,05 ± 0,026
Saliva	7,99 ± 0,027

Figura 1 Valor de pH de bebidas energéticas analizadas. Se pueden apreciar los valores promedio de pH para cada una de las sustancias analizadas más la desviación estándar. Promedio de 4 mediciones. DE: desviación estándar.

(Battery Sugar Free®). Mientras que la saliva en promedio tuvo un valor de pH 7,99 y el agua potable de 7,05.

Los cambios de pH experimentados luego de adicionar agua o saliva se pueden observar en las figuras 2 y 3, respectivamente, donde el 100% de solución corresponden a 5 mL de bebida energética y progresivamente va diluyéndose en saliva o agua agregada, hasta obtener una solución al 38% vol./vol de bebida energética.

Los valores de pH inicial y de pH final para cada bebida luego de agregar agua o saliva se muestran en la tabla 1.

Según lo observado, la bebida que más logra aumentar el pH, luego de agregar la saliva, es la bebida Speed®, que llega a un valor de pH 4,38, mientras que la que menos logra aumentar el pH es la bebida Quick Energy®, que llega a un valor de pH 3,37.

Discusión

La erosión dental puede ser causada por factores intrínsecos y extrínsecos. Dentro de los factores extrínsecos, el consumo de bebidas ácidas está considerado como la principal causa. Las investigaciones que se han realizado sobre este tema se centran en la evaluación de diferentes parámetros como el pH, la acidez titulable, las concentraciones de calcio, fosfato y fluoruro, y el grado de saturación con respecto a la hidroxiapatita y a la fluorapatita. Numerosos estudios están de acuerdo en que el pH es el principal factor en determinar el potencial erosivo de las bebidas ácidas¹⁶⁻¹⁹, y se ha evidenciado que existe una correlación positiva entre la capacidad buffer de la saliva y el potencial erosivo con respecto al esmalte dentario^{9,20,21}.

Los pH de las bebidas energéticas analizadas en este estudio son altamente ácidos, con valores que oscilan entre 2,42 (Battery®) y 3,44 (Battery Sugar Free®), los cuales están muy por debajo del pH crítico (6,5-4,5) para el esmalte.

Al analizar las variaciones de pH después de agregar agua, se puede apreciar que esta no logra variar el pH de ninguna bebida de manera significativa (1-7%), esto podría deberse a la carencia de elementos buffer. Por otro lado, el agua puede amortiguar los pH de diferentes sustancias por medio de la dilución, pero en este caso las bebidas energéticas tienen

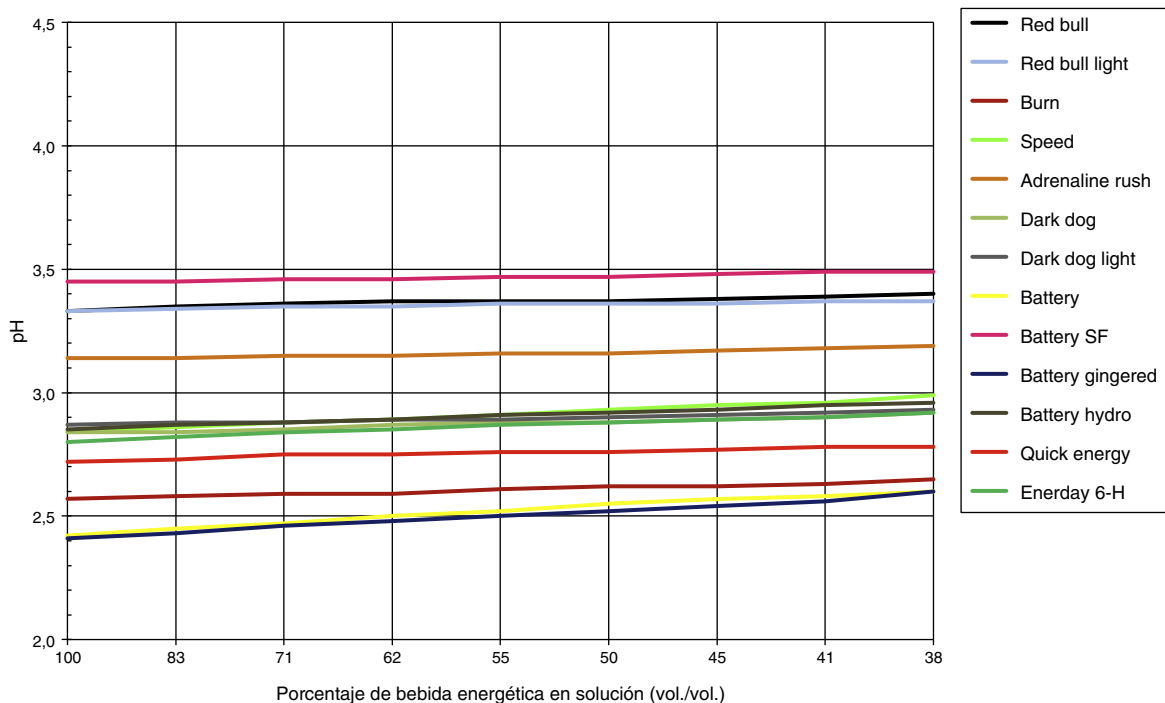


Figura 2 Cambios en el pH de cada bebida energética después de agregar agua. La bebida energética que tuvo mayor variación entre el pH inicial y final fue Battery Gingered®, y la que tuvo la menor variación fue Adrenaline Rush®.

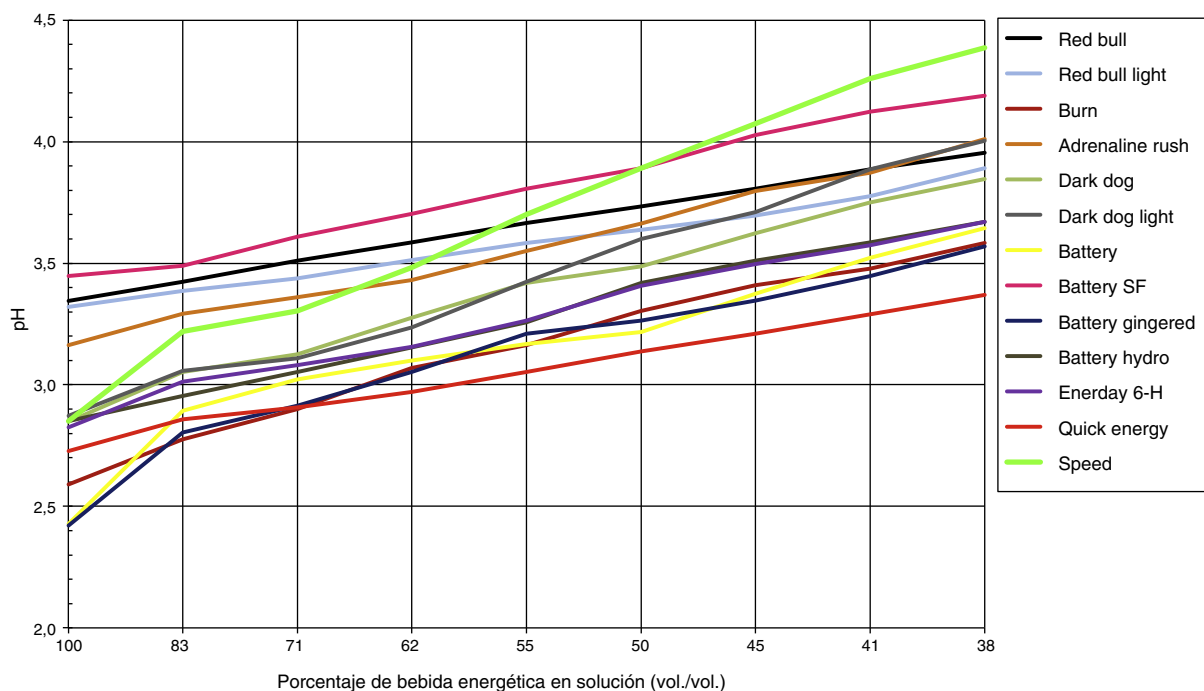


Figura 3 Cambios en el pH de cada bebida energética después de agregar saliva. La bebida energética que sufrió la mayor variación en el pH después de agregar 8 mL de saliva fue Speed®, y la que tuvo menor variación fue Quick Energy®.

una concentración de iones de hidrógeno (H⁺) muy fuerte, lo que las hace muy difíciles de diluir. La bebida que sufrió la variación de pH más elevada luego de agregar agua fue la bebida Battery Gingered®, con un pH inicial de 2,42 y un pH final de 2,60.

La saliva es una sustancia compuesta por 99% agua y un 1% de diferentes componentes, entre estos: bicarbonato, fosfato, urea y diferentes proteínas que se comportan como buffers²². Luego de analizar los resultados, la saliva sí logró amortiguar y elevar el pH de todas las bebidas energéticas (17-54%), pero en ningún caso por encima del pH crítico del esmalte (4,5-6,5), esto en una solución de 38% de bebida energética (5 mL bebida energética más 8 mL de saliva). La

bebida que logró alcanzar el pH más elevado y la mayor variación entre pH inicial y final, luego de agregar saliva, fue la bebida energética Speed® (pH inicial 2,85 y pH final 4,38). Por otro lado, la bebida que sufrió menos variación de pH fue Quick Energy® de 2,72 a 3,37. Esto no significa que la saliva no logre amortiguar el pH de las bebidas energéticas, sino que requiere más tiempo y volumen de saliva para lograr neutralizar este tipo de bebidas. El problema está durante ese tiempo, cuando la cavidad oral está expuesta a un pH muy bajo y, cuanto más tiempo transcurra antes de restablecer el pH, mayor será el riesgo de sufrir erosiones.

Dentro de las bebidas energéticas evaluadas en este estudio, la única que coincide con las analizadas por Jain

Tabla 1 Valores de pH iniciales y finales para cada bebida energética. Se pueden apreciar los valores iniciales de cada bebida y los valores finales luego de agregar 8 mL de agua/saliva a la solución

Nombre de la bebida energética	pH (±DE) inicial	pH final + agua	Delta %	pH final + saliva	Delta %
Adrenaline Rush	3,16 ± 0,022	3,19	1	4,01	27
Battery	2,42 ± 0,010	2,60	7	3,64	50
Battery Gingered	2,42 ± 0,008	2,60	7	3,57	48
Battery Hydro	2,85 ± 0,008	2,96	4	3,67	29
Battery Sugar Free	3,44 ± 0,005	3,49	1	4,19	22
Burn	2,59 ± 0,014	2,65	2	3,58	38
Dark Dog	2,84 ± 0,010	2,92	3	3,84	35
Dark Dog Light	2,87 ± 0,005	2,93	2	4,00	39
Enerday 6-Horas	2,82 ± 0,017	2,92	4	3,67	30
Quick Energy	2,72 ± 0,010	2,78	2	3,39	25
Red Bull	3,34 ± 0,013	3,40	2	3,95	18
Red Bull Light	3,32 ± 0,008	3,37	2	3,89	17
Speed	2,85 ± 0,008	2,99	5	4,38	54

et al.¹⁰ es Red Bull®, en la que se obtuvieron valores de pH ($3,34 \pm 0,013$) muy similares a los registrados por Jain et al. ($3,37 \pm 0,06$). Por otro lado, ellos utilizaron Red Bull Sugar Free® en la cual registraron valores de pH $3,27 \pm 0,01$ que son muy cercanos a los obtenidos en este estudio con Red Bull Light® ($3,32 \pm 0,008$). Por lo tanto, es necesario hacer un análisis detallado de los ingredientes de cada una de estas bebidas y cómo influyen en su pH.

Algunas bebidas relativamente nuevas en el mercado chileno son las bebidas Enerday 6-H® y Quick Energy®, las cuales contienen tan solo 60 mL y están compuestas en su mayoría por vitaminas. Estas bebidas son altamente ácidas y muy difíciles de neutralizar. Jain et al.¹⁰ en su estudio también analizan una de estas bebidas y llegan a la misma conclusión.

En este estudio se utilizó saliva estimulada de pacientes jóvenes y sanos. La saliva estimulada tiene un pH mayor que la saliva no estimulada y contiene más cantidad de bicarbonato¹¹, considerado el principal buffer de la saliva, pero aún así, en este estudio no logró neutralizar los bajos niveles de estas bebidas más allá de un pH final de 4,38. La saliva posee adicionalmente otras funciones que no pudimos incluir en este estudio como el flujo salival, la película protectora y el clearance, que funcionan como barreras de protección frente a ataques ácidos, lo que podría provocar erosión en los dientes. Existe una mayor preocupación hacia los individuos que sufren de hiposalivación, xerostomía, película adquirida delgada y pH salival bajo, ya que estos individuos, al ingerir este tipo de bebidas, son más vulnerables y tienen mayor riesgo de sufrir erosiones dentales. La saliva demora aproximadamente entre 20 y 30 min en restablecer los niveles normales de pH en la cavidad oral después de la ingesta de sustancias ácidas, por lo que, en caso de existir una nueva ingesta de estas bebidas dentro de este tiempo, los dientes podrían estar expuestos a una mayor desmineralización¹⁰.

Es necesario el conocimiento por parte de los profesionales de la salud oral de los posibles efectos nocivos de las bebidas energéticas sobre la estructura dentaria, para que puedan asesorar a sus pacientes, especialmente a los jóvenes, y brindarles medidas de prevención después de consumir este tipo de bebidas, como masticar chicle para estimular la producción de saliva y tomar abundante agua.

Conclusión

La presente investigación in vitro determinó que la capacidad buffer de la saliva no es suficientemente efectiva para neutralizar el pH ácido de las bebidas energéticas, manteniendo valores por debajo de 4,38, los cuales se encuentran dentro de un rango erosivo.

Debido a la masificación del consumo de este tipo de bebidas energéticas, se sugiere seguir investigando los posibles efectos de su consumo sobre la estructura dentaria.

Financiación

Las fuentes de financiamiento fueron realizadas por la Universidad del Desarrollo, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina.

Conflicto de intereses

Todos los autores declaran que no existe conflictos de interés en este trabajo, ni asociación o vinculación con alguna de las marcas comerciales utilizadas o nombradas en este estudio.

Agradecimientos

- A la Facultad de Medicina, Escuela de Odontología, Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo por brindar su infraestructura en la elaboración de este trabajo.
- A la Dra. Paulette Conget y a Paola Ramos por la ayuda con los trabajos de laboratorio.
- A los voluntarios que participaron en este estudio.

Bibliografía

1. American Academy of Pediatrics, Committee on Nutrition, & the Council on Sports Medicine and Fitness. Sports drinks and energy drinks for children and adolescents: Are they appropriate? *Pediatrics*. 2011;127(6):1182-9.
2. Global Energy Drinks Report 2011. NEW YORK. 2011. (citado 4 de Junio 2012). Disponible en: http://www.reportlinker.com/p0707479/Global-Energy-Drinks-Report-2011.html#utm_source=prnewswire&utm_medium=pr&utm_campaign=Sport_and_Energy_Drink.
3. Banda C, Marietta A, Syler G, Hoover W. College students' knowledge, attitudes and behaviors related to energy drinks. *J Am Diet Assoc*. 2010;110(9):A108.
4. Higashida B. Odontología preventiva. Placa dentobacteriana. México: McGraw-Hill Interamericana; 2000. p. 62.
5. Dugmore CR, Rock WP. The progression of tooth erosion in a cohort of adolescents of mixed ethnicity. *Int J Paediatr Dent*. 2003;13(5):295-303.
6. Seow WK, Thong KM. Erosive effects of common beverages on extracted premolar teeth. *Aust Dent J*. 2005;50(3):173-8.
7. Cairns AM, Watson M, Creanor SL, Foye RH. The pH and titratable acidity of a range of diluting drinks and their potential effect on dental erosion. *J Dent*. 2002;30:313-7.
8. Ehlen LA, Marshall TA, Gian F, Wefel JS, Warren JJ. Acidic beverages increase the risk of in vitro tooth erosion. *Nutr Res*. 2008;28(5):299-303.
9. Lussi A, Megert B, Shellis RP, Wang R. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. *BJN*. 2012;107:252-62.
10. Jain P, Hall-May E, Golabek K, Ma Zenia A. A comparison of sports and energy drinks. Physicochemical properties and enamel dissolution. *Gen Dent*. 2012;60(3):190-7.
11. Nauntofte B, Tenovou JO, Lagerlöf F. Secretion and composition of saliva. En: Fejerskov O, Kidd E, editores. *Dental caries. The disease and its clinical management*. Oxford Blackwell Munksgard; 2003. p. 7-29.
12. Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the etiology of dental erosion. *Caries Res*. 2004;(38):34-44.
13. Laser MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH: Buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res*. 1999;33(1):81-7.
14. Zárate AN, Leyva ER, Martínez FF. Determinación de pH y proteínas totales en saliva en pacientes con y sin aparatología ortodóncica fija. *Rev Odontol Mex*. 2004;8(3):59-63.
15. López Jornet MP, Bermejo Fenoll A. Principales técnicas de recogida y registro del fluido salival en el hombre: ventajas e inconvenientes. Murcia: Universidad de Murcia, Secretariado de Publicaciones; 1993.

16. Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res.* 1999;33:81–7.
17. Mahoney E, Beattie J, Swain M, Kilpatrick N. Preliminary in vitro assessment of erosive potential using the ultra-micro-indentation system. *Caries Res.* 2003;37:218–24.
18. Jensdottir T, Holbrook P, Nauntofte B, Bunchwald C, Bardow A. Immediate erosive potential of cola drinks and orange juices. *J Dent Res.* 2006;85:226–30.
19. Hemingway CA, Parker DM, Addy M, Barbour ME. Erosion of enamel by non-carbonated soft drinks with and without toothbrushing abrasion. *Br Dent J.* 2006;201:447–50.
20. Lussi A, Jäggi T, Jäggi-Schärer S. Prediction of the erosive potential of some beverages. *Caries Res.* 1995;29, 349-345.
21. Lussi A, Jäggi T, Jäggi-Schärer S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. *Caries Res.* 1993;27:387–93.
22. Edgar M, Dawes C, O’Mullane D, editores. *Saliva and oral health.* 3rd ed. London: British Dental Association; 2004. p. 32–49.