

apunts

MEDICINA DE L'ESPORT

www.apunts.org



TREBALL ORIGINAL

Efecte de l'exercici anaeròbic làctic sobre el pH salival

Sonia Julià-Sánchez^{a,*}, Jesús Álvarez-Herms^a, Aritz Urdampilleta^b, Francesc Corbi^c,
Teresa Pagès^a, Ginés Viscor^a

^a *Departament de Fisiologia i Immunologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, Espanya*

^b *Departamento de Nutrición, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco, Vitòria-Gasteiz, Espanya*

^c *Facultat de Ciències de l'Activitat Física i l'Esport - Institut Nacional d'Educació Física de Catalunya, Centre de Lleida, Universitat de Lleida, Lleida, Espanya*

Rebut el 7 de novembre de 2012; acceptat el 14 de maig de 2013

PARAULES CLAU

pH salival;
Exercici anaeròbic;
Càries

Resum

Introducció: Uns valors baixos del pH salival estan altament relacionats amb un risc major de càries dental. L'objectiu d'aquest estudi fou valorar els canvis dels valors del pH salival després de realitzar exercici anaeròbic màxim, la seva possible relació amb el valor del lactat sanguini, i l'anàlisi de l'estat de la cavitat bucal d'esportistes de disciplines de caràcter anaeròbic.

Material i mètodes: Estudi de tipus experimental, amb la participació de 6 subjectes (3 homes, 3 dones; edat $21,67 \pm 5,32$ anys; pes $61 \pm 7,18$ kg; alçada $1,70 \pm 0,05$ m), atletes de nivell alt, no d'elit. Els subjectes realitzaren 2 sessions (S1, S2) d'exercici anaeròbic làctic amb els mateixos criteris (màxim nombre de sèries de 300 m en pista al 90% de la intensitat màxima individual). Es prengueren mostres de saliva total, no estimulada, en 3 moments: a) just abans de l'exercici; b) immediatament després de cada sèrie, i c) 30 min després de l'exercici, per mesurar el pH salival. També es prengueren mostres del lactat sanguini immediatament després de cada sèrie.

Resultats: La variació del pH salival basal respecte al pH de l'última sèrie és estadísticament significativa en ambdues sessions (S1: $p = 0,028$; S2: $p = 0,044$).

Conclusions: Les dades obtingudes suggereixen una resposta alcalinitzant de les glàndules salivals durant la realització d'exercici anaeròbic làctic. Fóra interessant estudiar les modificacions qualitatives de la composició de la saliva durant la realització d'exercici anaeròbic i la prolongació de l'efecte de dites modificacions en el temps.

© 2012 Consell Català de l'Esport. Generalitat de Catalunya. Publicat per Elsevier España, S.L. Tots els drets reservats.

*Autor per a correspondència.

Correu electrònic: soniajulia@hotmail.com (S. Julià-Sánchez).

KEYWORDS

Salivary pH;
Anaerobic exercise;
Caries

The effect of anaerobic lactic acid-producing exercise on salivary pH**Abstract**

Introduction: A low salivary pH is strongly associated with the incidence of dental caries. The aim of this study was to determine if high intensity anaerobic exercise could affect the salivary pH response, to determine if there is correlation between salivary pH and blood lactate values. Additionally, we also aim to determine the state of oral health in anaerobic events athletes.

Material and methods: Six healthy and physically active subjects, high-level athletes (3 men, 3 women; age 21.67 ± 5.32 years; weight 61 ± 7.18 kg; height 1.70 ± 0.05 m) performed a clinical trial consisting of two sessions of anaerobic lactic acid-producing exercise. Each session consisted of running the maximum number of sets of 300 meters at 90% of the individual maximal intensity. Non-stimulated whole saliva samples were collected from all subjects at three different times: (i) before the exercise; (ii) immediately after each 300 m set, and (iii) 30 minutes after the exercise. Blood lactate was measured after each 300 m set to assess the anaerobic character of the test.

Results: Salivary pH increased significantly after the exercise in both sessions of the study (S1: $P = .028$; S2: $P = .044$).

Conclusion: Our results suggest that performing anaerobic lactic acid-producing exercise has an effect on saliva alkalinization. More research is needed to assess the qualitative modifications in saliva due to performing anaerobic exercise and their effect on dental health.

© 2012 Consell Català de l'Esport. Generalitat de Catalunya. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducció

La saliva és un fluid orgànic amb funcions imprescindibles per mantenir la salut oral^{1,2}: participa en l'eliminació d'hidrats de carboni cariogènics^{3,4}, en la neutralització d'àcids mitjançant mecanismes tampó⁵, en la remineralització de la superfície dental⁶, i a més té una acció antimicrobiana potent^{7,8}.

La secreció salival primària és un fluid isotònic procedent de la filtració del plasma de la vascularització local, els ions es reabsorbeixen posteriorment en els conductes glandulars i produeixen un fluid salival hipotònic respecte al plasma⁹. El pH salival es modifica al llarg d'aquest procés, essent de 7,0 a la secreció primària, i oscil·la en un rang de 6,2 a 7,4 en el pH salival^{10,11}. La importància del valor del pH en la salut bucodental és prou coneguda, de manera que valors de pH més àcids s'associen a un risc major de càries dental^{11,12}.

La composició i la taxa de flux salival depenen de diversos transmissors químics, però l'estrès i l'exercici físic també poden modificar la composició d'electròlits i proteïnes salivals¹³. La majoria d'investigacions que han estudiat la saliva i els seus components n'han fet la valoració en exercici aeròbic¹⁴⁻¹⁸, bé que els resultats obtinguts no aconsegueixen concloure una tendència uniforme en la resposta de la saliva a l'exercici. La bibliografia relativa a l'exercici anaeròbic és més reduïda i els resultats més contradictoris, i es registren modificacions qualitatives de la saliva¹⁹ que no s'observen en altres investigacions²⁰.

La diferència fisiològica entre l'exercici aeròbic i l'anaeròbic és molt àmplia. Quan augmenta la intensitat de

l'exercici, el metabolisme anaeròbic té un paper primordial en la generació d'energia per via anaeròbica²¹. Hi ha canvis en la regulació de l'activitat cel·lular, major tolerància a productes del metabolisme anaeròbic²² i millora la capacitat tampó del sistema muscular²³.

L'objectiu principal de l'estudi se centra en analitzar els possibles canvis en el pH salival sota la influència de la realització d'exercici anaeròbic d'alta intensitat, així com valorar l'estat de salut bucodental d'atletes de disciplines de caràcter predominantment anaeròbic pel que fa a la prevalença de càries.

Material i mètodes**Subjectes**

El disseny de l'estudi fou de tipus experimental, amb criteris específics d'inclusió de la mostra: atletes d'alt nivell, de disciplines atlètiques de 400 i 800 m, no fumadors, no estar sota prescripció mèdica que afectés la secreció salival i no patir malalties agudes o cròniques de la mucosa oral i/o glàndules salivals.

Se seleccionaren 6 subjectes (3 homes i 3 dones), de raça caucàsica (edat $21,67 \pm 5,32$ anys; pes $61 \pm 7,18$ kg; alçada $1,70 \pm 0,05$ m) per participar a l'estudi.

Els subjectes assistiren a 2 sessions informatives abans de començar l'estudi. A la primera sessió foren informats dels objectius de l'estudi, la naturalesa i riscos de l'entrenament i les proves d'avaluació que se'ls aplicarien, i firmaren un consentiment informat. L'estudi es

dissenyà d'acord amb els estàndards del Comitè de Bioètica de la Universitat de Barcelona i d'acord amb els principis de la Declaració d'Helsinki de 1975, revisada el 2008. Els subjectes foren advertits que no havien de consumir aliments ni begudes, tret d'aigua, durant l'hora prèvia a la realització de la sessió, d'acord amb el temps requerit per a la normalització del pH salival després de la ingesta d'aliments²⁴. A la segona sessió els subjectes es familiaritzaren amb els procediments d'entrenament i es realitzà un test inicial per tal d'ajustar individualment la intensitat.

Equipament i protocol d'entrenament

Els subjectes foren sotmesos a una exploració de la cavitat oral pel mateix odontòleg, per evitar el biaix interexaminador, per tal de detectar malalties orals i l'estat de la cavitat oral. Es registrà l'edat, el sexe, la talla, el pes i els hàbits de tabaquisme, dietètics i d'higiene oral, i es valorà l'índex CAOD (dents cariades, absents per càries i obturades) per estimar la prevalença de càries.

L'estudi es desenvolupà en 2 sessions, amb una separació de 6 setmanes, per valorar el factor de repetició i comprovar la fiabilitat dels resultats obtinguts. El protocol consistí en efectuar exercici anaeròbic làctic mitjançant la realització de sèries de 300 m en pista. La intensitat de realització de les sèries fou ajustada individualment en base a un test de 300 m realitzat a la sessió de familiarització. Durant les sessions, els subjectes realitzaren el màxim nombre de sèries de 300 m al 90% d'intensitat, amb una recuperació de 3 min entre sèries. L'exercici acabava quan el subjecte no podia mantenir la intensitat prescrita en 2 sèries consecutives.

A cada sessió es prengueren mostres de saliva total no estimulada en 3 moments diferents: a) just abans de l'exercici; b) immediatament després de cada sèrie (durant el temps de recuperació), i c) 30 min després d'haver finalitzat la prova.

La secreció salival es prengué de saliva total no estimulada, per tal de no alterar la quantitat de la saliva ni els seus components i el pH¹⁰. Les mostres salivals es prengueren amb els subjectes asseguts, en posició relaxada, inclinant el cap lleugerament cap endavant i deixant fluir la saliva passivament cap a l'interior dels tubs col·lectors de saliva (Salivette®) fins a arribar a un volum de 0,5 ml²⁵. Les mostres foren preses entre les 17.00 i les 20.30 h, en condicions de temperatura similars en tots els casos (20-24 °C).

Es prengueren mostres de sang capil·lar 3 min després de cada sèrie realitzada per analitzar la concentració de lactat sanguini (Lactate Pro ARKRAY, Kyoto, Japó).

Anàlisi del valor del pH

La medició del pH de les mostres salivals es realitzà in situ i immediatament després de la recollida per evitar modificacions de la composició de la saliva per temperatura o humitat. Per mesurar el valor del pH de les mostres salivals s'utilitzà un pH-metre digital (LTLutron PH-220 que compleix la norma ISO-9001), que de manera automatitzada oferia el valor del pH de forma digital amb 2 decimals. Tots els mesuraments foren realitzats pel mateix operador i amb

la mateixa metodologia: a) calibratge del pH-metre; b) immersió de l'elèctrode en el tub col·lector de saliva; c) esperar 5 s des de l'estabilització de la lectura del pH; d) rentat de l'elèctrode amb aigua destil·lada, i e) conservació en una solució tampó.

Anàlisi estadística

L'anàlisi estadística es realitzà amb el programari SigmaPlot versió 11.0 (SYSTAT Software Inc, San José, CA, EUA). L'anàlisi dels valors del pH salival es contrastà mitjançant un test t d'Student de 2 variables per a mostres aparellades, amb la finalitat de comparar les mostres d'abans i de després de l'exercici. S'utilitzà el coeficient de correlació (Pearson) per examinar les relacions entre variables.

Els resultats s'expressen com a mitjana \pm desviació estàndard. Els valors de $p < 0,05$ foren considerats estadísticament significatius.

Resultats

Estat de salut bucodental

L'índex CAOD dels subjectes fou de $2,83 \pm 3,71$. El 50% dels subjectes presentaren carrall a nivell sublingual.

Anàlisi del valor del pH salival

L'anàlisi de les mostres salivals mostrà una tendència a incrementar gradualment el valor del pH salival després de cada sèrie d'exercici anaeròbic. Hi ha un increment del valor del pH salival significatiu estadísticament quan es comparen els valors basals amb els assolits en finalitzar la última sèrie d'exercici, tant a la primera sessió ($p = 0,028$) com a la segona ($p = 0,044$), mentre que als 30 min d'haver finalitzat l'exercici els valors del pH salival s'aproximen als valors basals en ambdues sessions (fig. 1).

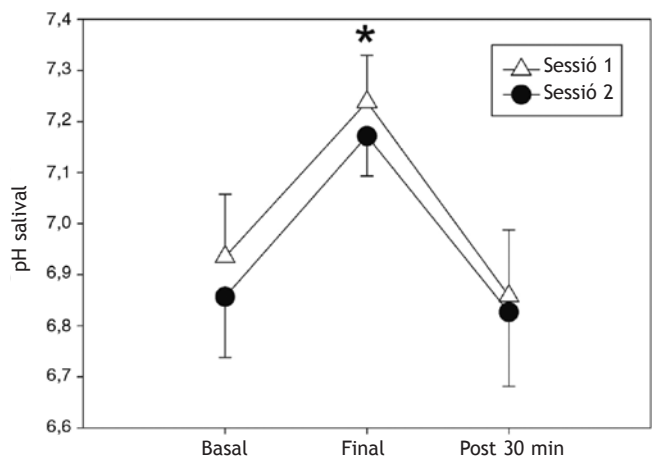


Figura 1 Mitjana de valors (les línies verticals indiquen l'error estàndard de la mitjana) del pH salival basal (Basal), després de realitzar l'última sèrie d'exercici (Final), i als 30 min d'haver finalitzat l'exercici (Post 30 min). * $p < 0,05$.

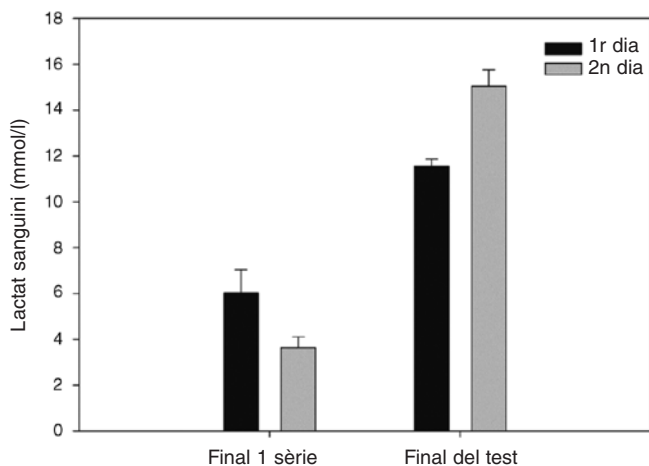


Figura 2 Mitjana de valors (les línies verticals indiquen l'error estàndard de la mitjana) del lactat sanguini després de la realització de la primera (Final 1 sèrie) i la última sèrie d'exercicis (Final del test). Barres negres a la sessió 1 i barres grises a la sessió 2.

No s'ha quantificat el valor del flux salival, però s'ha valorat l'aspecte macroscòpic de la saliva, i s'observa un aspecte més dens i viscos a les últimes sèries, en comparació amb la saliva fluïda de les mostres basals.

Anàlisi del lactat sanguini

El mesurament del lactat sanguini (fig. 2) mostra un increment progressiu del valor del lactat en tots els subjectes al llarg de les sèries a les 2 sessions. Els valors obtinguts individualment pels subjectes demostren un caràcter anaeròbic de l'exercici realitzat, que arriba a superar els 10 mmol/l en tots els subjectes a les últimes sèries en ambdues sessions.

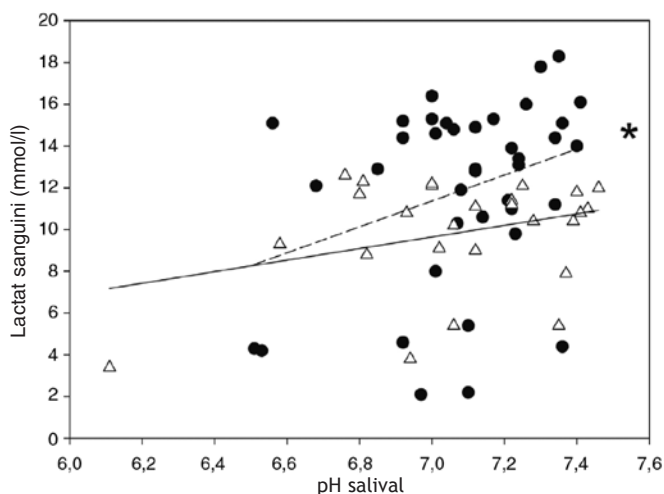


Figura 3 Correlació entre valors del lactat sanguini i del pH salival. Els triangles indiquen els valors de la sessió 1 (línea de regressió contínua) i els cercles els de la sessió 2 (línea de regressió discontinua). * $p < 0,05$.

Correlació entre el lactat sanguini i el pH salival

La correlació entre els valors del lactat sanguini i del salival (fig. 3) és significativa estadísticament en els valors de la segona sessió (coeficient de correlació = 0,327; $p = 0,04$); en canvi, tot i que s'ha observat una tendència paral·lela en l'increment del lactat sanguini i el pH salival, no s'ha trobat una correlació significativa estadísticament en dites variables a la primera sessió (coeficient de correlació = 0,332; $p = 0,09$).

Deshidratació

Els nivells de deshidratació observats en els subjectes en ambdues sessions no arriben en cap dels casos al 2% de deshidratació ($S1 = 0,96 \pm 0,36\%$; $S2 = 1,03 \pm 0,28\%$). La pèrdua de pes experimentada pels subjectes és estadísticament significativa en finalitzar tant la primera sessió (pes pre, $61 \pm 7,18$ kg; pes post, $60,71 \pm 7,26$ kg; $p = 0,026$), com a la segona (pes pre, $60,85 \pm 7,35$ kg; pes post, $60,53 \pm 7,33$ kg; $p = 0,010$).

Discussió

Els resultats observats al nostre estudi mostren una tendència incremental dels valors del pH salival durant la realització d'exercici de capacitat anaeròbica làctica, d'intensitat màxima i limitant.

L'anàlisi macroscòpica de la saliva mostra una disminució del flux salival, així com un aspecte més dens de la saliva, especialment a les últimes sèries de les sessions. La disminució del flux salival durant l'exercici intens s'atribueix a una aportació sanguínia menor a les glàndules salivals, degut a la redistribució del flux regional causada per l'augment de la secreció de catecolamines²⁰. La major viscositat de la saliva es pot explicar per l'augment del contingut proteic de la saliva durant l'exercici¹⁶. També s'ha atribuït la deshidratació com un factor causal de la disminució del flux salival durant l'exercici, fins i tot encara que es mantingui una ingesta hídrica regular^{26,27}, i els resultats de la deshidratació en els subjectes mostren valors menors del 2% en ambdues sessions.

S'ha descrit que la disminució del flux salival és una causa d'acidificació del pH salival²⁸. En canvi, en el nostre estudi detectarem un augment del valor després de la realització d'exercici de capacitat anaeròbica làctica i limitant. Investigacions anteriors han demostrat que el valor del pH salival disminueix per la influència d'estimulacions perllongades, degut a que el clorur substitueix el bicarbonat^{29,30}. Tanmateix, després de la realització d'exercici físic intens s'ha reportat un augment de la capacitat tampó de la saliva³¹, cosa que podria explicar l'augment del pH salival que trobem al nostre estudi, en què predomina una estimulació d'intensitat màxima, amb una intensitat d'execució alta i recuperacions incompletes.

En el període de temps comprès entre la primera i la segona sessió els subjectes realitzaren un entrenament de capacitat làctica, i per aquesta raó el nombre de sèries realitzat pels subjectes a la segona sessió ($6,5 \pm 2,17$) fou major que el registrat a la primera ($4,33 \pm 1,21$). L'anàlisi

de valors del lactat mostra una tolerància major dels subjectes a la segona sessió, en què s'assoliren valors molt superiors als de la primera.

Existeix una tendència paral·lela entre els valors del lactat sanguini i del pH salival, i augmenten tots dos amb la intensitat de l'exercici. La correlació entre els valors del lactat sanguini i del pH salival és inconcloent, i és significativa estadísticament en els valors de la segona sessió ($p = 0,04$).

La prevalença de càries dels subjectes, mesurada amb el CAOD ($2,83 \pm 3,71$), reflecteix un bon estat de la cavitat oral dels subjectes de disciplines atlètiques de mig fons. Aquest CAOD és menor que l'enregistrat en altres esports com el futbol (índex: $5,7 \pm 4,1$)³². Estudis de la població general espanyola de l'any 2005 mostren un CAOD de 2,18 en subjectes de 15 anys i de 9,61 en adults joves (35-44 anys); no es disposa de dades de grups de població d'edats compreses entre els 15 i els 35 anys³³. Podem observar que la nostra mostra registra uns valors de CAOD baixos en comparació a la població d'adults joves espanyols, cosa que indica una prevalença menor de càries dental dels subjectes de l'estudi.

Els efectes de l'exercici sobre la salut general són ben coneguts, però no ho són respecte a la implicació en la salut oral. Hi ha estudis que assenyalen l'exercici anaeròbic com a factor protector enfront a l'activitat cariogènica dels microorganismes salivals³⁴; a més, l'augment de l' α -amilasa després de l'exercici pot contribuir a inhibir la formació de placa bacteriana³⁵. En el nostre estudi observarem una alcalinització incremental del pH salival al llarg de l'exercici, bé que els valors del pH salival als 30 min es troben normalitzats i propers als valors basals individuals.

Cal destacar que en la mostra de subjectes, atletes de disciplines de caràcter anaeròbic, el valor del pH salival basal ($6,9 \pm 0,3$) s'aproxima als valors màxims del rang del pH salival, que oscil·la entre 6,2 i 7,4^{10,11}, i que valors del pH propers a la neutralitat contribueixen a mantenir l'homeòstasi microbiana de la placa³⁶⁻³⁸, mentre que valors del pH més àcid s'associen a un risc de càries major^{11,12}.

Cal més treballs per poder concloure els efectes de l'exercici anaeròbic sobre la resposta del pH salival. Malauradament en aquest estudi no es realitzà una anàlisi de la composició salival. Fóra interessant valorar la resposta del pH salival després de realitzar exercici anaeròbic a llarg termini, així com valorar possibles canvis dels valors basals del pH salival i la seva implicació en la salut bucodental d'esportistes de diferents disciplines.

Finançament

Estudi realitzat sense ajuda externa.

Conflicte d'interessos

Els autors declaren que no tenen cap conflicte d'interessos.

Informació no presentada prèviament ni totalment ni parcial.

Agraïments

Els autors agraeixen la col·laboració generosa de tots els subjectes voluntaris.

Bibliografia

1. Saliva: Its role in health and disease. Working group 10 of the Commission on Oral health, Research and Epidemiology (CORE). *Int Dent J.* 1992;42 Suppl 2:287-304.
2. Sreebny LM, Baum BJ, Edgar WM, Epstein J, Fox PC, Larmas M. Saliva: Its role in health and diseases. *Int Dent J.* 1992;42:291-304.
3. Abelson DC, Mandel ID. The effect of saliva on plaque pH in vivo. *J Dent Res.* 1981;60:1634-8.
4. Turtola LO, Luoma H. Plaque pH in caries-active and inactive subjects modified by sucrose and fluoride, with and without bicarbonate-phosphate. *Scand J Dent Res.* 1972;80:334-43.
5. Nauntofte B, Tenevuo J, Lagerlöf F. Secretion and composition of saliva. En: Fejerskov O, Kidd E, editors. *Dental caries. The disease and its clinical management.* Oxford: Blackwell Munksgard; 2003.
6. Seif TR. Saliva: su rol en la salud y en la enfermedad. En: Seif T, editor. *Cariología. Prevención, diagnóstico y tratamiento de la caries dental.* Caracas: Actualidades Médico-odontológicas Latinoamericanas; 1997.
7. Bernimoulin JP. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol.* 2003;30 Suppl 5:7-9.
8. Liébana J, González M, Liébana M, Parra L. Composición y ecología de la microbiota oral. En: Liébana J, editor. *Microbiología oral.* 2.ª ed. Madrid: MacGraw-Hill-Interamericana; 2002.
9. Baum BJ. Principles of saliva secretion. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;694:17-23.
10. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva—a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13:197-212.
11. Swerdlove CK. Relation between the incidence of dental caries and the pH of normal resting saliva. *J Dent Res.* 1942;21:73.
12. Stephan R. Intra-oral hydrogen-ion concentrations associated with dental caries activity. *J Dent Res.* 1944;23:257.
13. Emmelin N. Nerve interactions in salivary glands. *J Dent Res.* 1987;66:509-17.
14. Salminen S, Kontinen A. Effect of exercise on Na and K concentrations in human saliva and serum. *J Appl Physiol.* 1963; 18: 812-4.
15. Ljungberg G, Ericson T, Ekblom B, Birkhed D. Saliva and marathon running. *Scand J Med Sci Sports.* 1997;7:214-9.
16. Dawes C. The effects of exercise on protein and electrolyte secretion in parotid saliva. *J Physiol.* 1998;320:139-48.
17. Gilman S, Thornton R, Miller D, Biersner R. Effects of exercise stress on parotid gland secretion. *Horm Metab Res.* 1979; 11:454.
18. Shannon IL. Effect of exercise on parotid fluid corticosteroids and electrolytes. *J Dent Res.* 1967;46:608-10.
19. Chicharro JL, Serrano V, Urena R, Gutierrez AM, Carvajal A, Fernandez-Hernando P, et al. Trace elements and electrolytes in human resting mixed saliva after exercise. *Br J Sports Med.* 1999;33:204-7.
20. Blannin AK, Robson PJ, Walsh NP, Clark AM, Glennon L, Gleeson M. The effect of exercising to exhaustion at different intensities on saliva immunoglobulin A, protein and electrolyte secretion. *Int J Sports Med.* 1998;19:547-52.
21. Weyand PG, Lee CS, Martinez-Ruiz R, Bundle MW, Bellizzi MJ, Wright S. High-speed running performance is largely unaffected by hypoxic reductions in aerobic power. *J Appl Physiol.* 1999;86:2059-64.

22. Stathis CG, Febbraio MA, Carey MF, Snow RJ. Influence of sprint training on human skeletal muscle purine nucleotide metabolism. *J Appl Physiol*. 1994;76:1802-9.
23. Terrados N, Melichna J, Sylven C, Jansson E, Kaijser L. Effects of training at simulated altitude on performance and muscle metabolic capacity in competitive road cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1988;57:203-9.
24. Stephan R. Changes in the hydrogen ion concentration on tooth surfaces and in carious lesions. *J Am Dent Assoc*. 1940;27:718.
25. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci*. 1993;694:72-7.
26. Walsh NP, Montague JC, Callow N, Rowlands AV. Saliva flow rate, total protein concentration and osmolality as potential markers of whole body hydration status during progressive acute dehydration in humans. *Arch Oral Biol*. 2004;49:149-54.
27. Walsh NP, Laing SJ, Oliver SJ, Montague JC, Walters R, Bilzon JL. Saliva parameters as potential indices of hydration status during acute dehydration. *Med Sci Sports Exerc*. 2004;36:1535-42.
28. Moss SJ. Dental erosion. *Int Dent J*. 1998;48:529-39.
29. Lagerlof F, Oliveby A. Caries-protective factors in saliva. *Adv Dent Res*. 1994;8:229-38.
30. Weissenbach M, Chau N, Benamghar L, Lion C, Schwartz F, Vadot J. Oral health in adolescents from a small French town. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1995;23:147-54.
31. Nakagawa M, Mizuma K, Inui T. Changes in taste perception following mental or physical stress. *Chem Senses*. 1996;21:195-200.
32. Gay-Escoda C, Vieira-Duarte-Pereira DM, Ardevol J, Pruna R, Fernandez J, Valmaseda-Castellon E. Study of the effect of oral health on physical condition of professional soccer players of the Football Club Barcelona. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16:e436-9.
33. Bravo-Pérez M, Casals-Peidró E, Cortés-Martínicorena FJ, Llodra-Calvo JC, Álvarez-Arenas Pardina I, Hermo-Señariz P, et al. Encuesta de salud oral en España 2005. *RCOE*. 2006;11:409-56.
34. Fernández Fraga F, Suárez Quintanilla JA. Estudio comparativo de parámetros salivares en relación al test de Alban, en reposo y en ejercicio. A Coruña: Universidade da Coruña; 1996.
35. Walsh NP, Blannin AK, Clark AM, Cook L, Robson PJ, Gleeson M. The effects of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and alpha-amylase. *J Sports Sci*. 1999;17:129-34.
36. Blasco Sansano R, Castellar Ponce M, Llorca Salort N, Valero Rosique J, García Espinosa R. Study on risk factors of caries and evaluation of a test indicating dental plaque pH values, the revealed of the plaque and the buffer capacity of the saliva. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 2009;11:33-47.
37. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm: The significance of pH in health and caries. *Compend Contin Educ Dent*. 2009;30:83-7,76, 78, 80,quiz 88, 90.
38. Thaweboon S, Thaweboon B, Nakornchai S, Jitmaitree S. Salivary secretory IgA, pH, flow rates, mutans *Streptococci* and *Candida* in children with rampant caries. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2008;39:893-9.