

L'assunzione di Acqua minerale bicarbonato calcica Lete[®] migliora lo stato di idratazione in atleti dopo esercizio anaerobico di breve termine.

P. Brancaccio^a, F.M. Limongelli^a, I. Paolillo^b, A. D'Aponte^a, V. Donnarumma^c, L. Rastrelli^{b*}

^a*Seconda Università di Napoli, Servizio di Medicina dello Sport, Via Costantinopoli 16 80138, Napoli, Italia;*

^b*Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Biomediche, Università di Salerno, Via Ponte Don Melillo, 84084 Fisciano, Salerno, Italy;*

^c*Laboratorio di diagnostica e ricerca clinica Roecker, Marano di Napoli.*

*Corresponding author. Phone: 0039 89969766. Fax: 0039 89969602, E-mail: rastrelli@unisa.it

Abstract

Background: Studi in letteratura suggeriscono che acque minerali con alte concentrazioni di calcio e bicarbonato possono influenzare l'equilibrio acido base. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare su atleti volontari gli effetti dell'assunzione di acqua Lete[®] (un'acqua minerale naturale bicarbonato calcica) sul bilancio acido-base corporeo e sulla densità urinaria in paragone a quelli esercitati da un'acqua classificata come minimamente mineralizzata.

Metodi: 88 atleti maschi volontari sono stati sottoposti a due prove da sforzo utilizzando il Wingate test modificato: la prima prova è stata effettuata senza idratazione (Test C, n=88), la seconda (Test H) dopo una settimana di idratazione controllata con 1.5 L/giorno di acqua, somministrando a 44 atleti l'acqua minimamente mineralizzata (gruppo A) e ad altri 44 Acqua Lete[®] (gruppo B). Prima (t0), immediatamente dopo (t1), ed a 5' (t2) e 30' (t3) dopo l'esercizio sono state effettuate le seguenti determinazioni: rilievo della temperatura corporea, analisi bioimpedenziometrica, ecografia muscolare, analisi delle urine.

Risultati: Il migliore stato di idratazione atteso nel Test H, e dovuto ad un aumento della concentrazione di acqua corporea, è stato confermato da una diminuzione della temperatura corporea e da un aumento dello spessore muscolare, misurato mediante ecografia del quadricipite femorale destro dopo esercizio. Per quanto riguarda l'esame delle urine, nel test H è stato rilevato in entrambi i gruppi di atleti una significativa riduzione del peso specifico urinario dopo lo sforzo, con valori significativamente più bassi nel gruppo B, nello stesso gruppo è stato rilevato inoltre un significativo aumento del pH urinario.

Conclusioni: Tutti gli atleti idratati con Acqua Lete[®] hanno mostrato un effetto positivo sul loro stato di idratazione dopo esercizio anaerobico, associato ad una significativa diminuzione della densità urinaria ed un moderato aumento del pH.

Keywords: Acqua Minerale Lete[®]; Densità Urinaria; pH Urinario; Acqua Corporea Intracellulare; Ecografia Muscolare.

INTRODUZIONE

Il mondo scientifico e quello dello sport prestano particolare attenzione alle strategie di idratazione al fine di garantire il migliore equilibrio idro-elettrolitico e migliorare la performance [1,2]. L'American College of Sports Medicine [3] e la National Athletic Trainers' Association [4] hanno definito lo stato di idratazione basandosi sulla valutazione del peso specifico delle urine, stabilendo le linee guida, recentemente confermate [5] e raccomandando la conservazione di un ottimo stato di idratazione sia per migliorare la performance che per prevenire gli infortuni

Le acque minerali naturali si distinguono dalle altre acque per la loro specifica origine geologica sotterranea, la composizione stabile di minerali e la loro purezza. Le acque minerali possono esercitare effetti benefici sulla salute [6], compresa la salute delle ossa [7]. Diversi ricercatori hanno suggerito, per esempio, che le acque minerali, in particolare quelle con alte concentrazioni di calcio e bicarbonato, possono avere un impatto sull'idratazione [8], sull'equilibrio acido-base [9] e contribuire alla prevenzione della perdita del tessuto osseo [10]. In letteratura è riportato che acque alcalinizzate possono influenzare l'equilibrio acido-base del corpo. Anche piccole variazioni di pH hanno effetti cruciali sulla funzione cellulare. Burckhardt ha suggerito che il consumo intenzionale di acqua minerale, rappresenta uno dei mezzi più pratici per aumentare il carico nutrizionale di alcali [11].

D'altro canto numerosi studi hanno dimostrato che le acque minerali alcalinizzate, a basso contenuto di SO_4^{2-} e ricche in HCO_3^- hanno un migliore effetto sul metabolismo del Ca^{+2} e sui markers di riassorbimento osseo, rispetto ad acque ricche di SO_4^{2-} e Ca^{+2} [12].

Acqua Lete[®] con contenuti modesti di sodio e (4.88-5.01 mg/L) e potassio (1.93-2.11 mg/L) e con valori significativi di calcio (311.9-334.1 mg/L) e magnesio (13.93-15.14 mg/L), appartiene al gruppo delle acque bicarbonato-calciche (Tabella 1).

Scopo del nostro studio è stato quello di esaminare la relazione tra l'assunzione di Acqua Lete[®] e la distribuzione dell'acqua corporea totale, lo spessore muscolare e i markers urinari di idratazione in 88 atleti dopo esercizio fisico di tipo anaerobico. Basandoci su evidenze sperimentali abbiamo ipotizzato che l'ingestione di Acqua minerale Lete[®] possa essere correlata con l'equilibrio acido-base corporeo ed in grado di abbassare il peso specifico delle urine e garantire una efficace e corretta idratazione durante l'esercizio a breve termine.

MATERIALI E METODI

Protocollo

88 atleti amatoriali di sesso maschile, hanno partecipato allo studio volontariamente. I soggetti sono stati reclutati in modo consecutivo e suddivisi in due gruppi ciascuno composto da 44 elementi. Gli atleti, nuotatori o podisti, si hanno eseguito allenamenti di 4-5 ore a settimana. Il protocollo seguito è stato approvato dal Comitato Etico (*Human Ethics Committee*) e ciascun partecipante ha sottoscritto il proprio consenso. Durante l'intero periodo di studio (2 settimane) ciascun atleta ha sospeso le proprie attività di allenamento e l'assunzione di eventuali integratori minerali.

I due gruppi di studio sono qui di seguito descritti:

Gruppo A: età 34.7 anni \pm 7.4 (media \pm S.D.); altezza 178.5 cm \pm 5.6; peso 79.6 kg \pm 6.9, Indice di Massa Corporea (BMI) 24.6 \pm 1.2.

Gruppo B: età 33.7 anni \pm 8.6 (media \pm S.D.); altezza 174.6 cm \pm 5.4; peso 79.6 kg \pm 9.6, Indice di Massa Corporea (BMI) 25.7 \pm 3.4.

Entrambi i gruppi sono stati sottoposti a due prove sperimentali, eseguite su ergometro elettricamente frenato (Bicycle SECA Hamburg, Germany) con il seguente protocollo Wingate modificato: cinque serie di 60" ad una velocità media di 80 CPM con recupero di 60" tra le serie. Il carico imposto è stato l'85% del massimale calcolato in una seduta preliminare eseguita una settimana prima del primo test, mediante test incrementale ad esaurimento.

I due test eseguiti sono di seguito descritti:

- Test C di controllo, eseguito in condizioni basali senza idratazione, per entrambi i gruppi.
- Test H, eseguito dopo una settimana di idratazione controllata mediante l'assunzione di 1.5 L/die di acqua minimamente mineralizzata (residuo fisso 14.3 mg/l) somministrata al gruppo A, e di 1.5 L/die di acqua bicarbonato calcica (Acqua Lete[®]) a medio contenuto minerale (residuo secco >840 mg/l), al gruppo B. Inoltre gli atleti hanno ricevuto 750 ml di acqua, utilizzando sempre bottiglie appena aperte, un'ora prima dell'esercizio e 250 ml durante i 30 minuti successivi allo sforzo, come raccomandato dal National Athletic Trainer Association [4].

Prima dei test, tutti i soggetti sono stati sottoposti ad anamnesi e visita medica, per accertarne lo stato di buona salute. Per ciascuna sessione di lavoro (Test C e Test H), sono stati determinati i seguenti parametri: temperatura corporea; acqua corporea totale (TBW), acqua extracellulare (ECW), acqua intracellulare (ICW); dimensione del muscolo quadricipite femorale; analisi delle urine

La tempistica dei vari esami è stata la seguente:

- *A riposo prima dell'esercizio (t0):*
rilievo della temperatura corporea, esame bioimpedenziometrico per il calcolo di TBW, ECW e ICW, ecografia muscolare per rilevare la dimensione del quadricipite femorale, esame delle urine;
- *Immediatamente dopo l'esercizio (t1):*
rilievo della temperatura corporea;
- *5 minuti dopo l'esercizio (t2):*
Esame bioimpedenziometrico, esame ecografico muscolare;
- *30 minuti dopo l'esercizio (t3):*
analisi delle urine

Analisi chimica delle acque

L'acqua minerale bicarbonato calcica, (Acqua Lete[®]; Società Generale delle Acque Minerali, Pratella, CE, Italia), che è stata utilizzata per l'idratazione del gruppo B è stata fornita agli atleti direttamente dal laboratorio di controllo dello stabilimento di imbottigliamento. L'acqua minerale minimamente mineralizzata è tra quelle reperibili facilmente in commercio su tutto il territorio italiano; questa non contiene quantità significative di minerali o elettroliti di alcun genere. Entrambe le acque sono state analizzate presso i nostri laboratori per la determinazione di 15 parametri chimici caratterizzanti. La maggior parte degli elementi è stata determinata mediante cromatografia ionica (IC) utilizzando uno Dionex, mentre un'aliquota non acidificata è stata utilizzata per la determinazione di pH, conducibilità elettrica, (EC), titolazione dell'alcalinità. I 15 parametri chimici e chimico-fisici determinati

in ciascun campione sono riportati in Tabella 1. I metodi analitici utilizzati sono quelli standard di riferimento adottati delle normative italiane (IRSA - CNR methods 1994).

Temperatura corporea

Il rilevamento della temperatura corporea è stato effettuato mediante termometro timpanico Braun ThermoScan.

Esame bioimpedenziometrico

La valutazione qualitativa e quantitativa della composizione corporea è stata fatta mediante strumentazione Bodygram AKERN (Firenze Italia) che valuta la composizione corporea e dei tessuti, l'idratazione e lo stato nutrizionale. Il metodo BIA si basa su equazioni empiriche che considerando l'altezza, il peso del soggetto e la resistenza o impedenza a 50 kHz misurata con due elettrodi posti al polso e alla caviglia, permettono la determinazione del volume del liquido e dell'acqua corporea totale in base alla resistività dei tessuti. Sono stati valutati i seguenti parametri: acqua corporea totale (TBW), acqua corporea extracellulare (ECW) e acqua corpo intracellulare (ICW). L'esame a t₀ è stato eseguito a digiuno da cibo e bevande, mentre in t₂ dopo l'idratazione controllata secondo il protocollo dello studio.

Ecografia muscolare

L'ecografia muscolare è una metodica semplice e non invasiva che consente di rilevare differenze di volume muscolare dopo esercizio. Lo spessore muscolare del quadricipite femorale destro, è stato determinato mediante esame ecografico con una sonda da 10 MHz su soggetti seduti sul lettino con anche e ginocchia flesse a 90° e rilassati, come riportato in precedenza [13]. Lo stesso operatore ha eseguito tutte le misure rilevate al limite fra il III° medio e il III° inferiore della distanza fra la spina iliaca anteriore superiore e il polo superiore della rotula. Il punto rilevato è stato marcato con penna dermatografica. Le misure sono state eseguite immediatamente prima dell'esercizio (t₀), e 5 minuti dopo il termine del test al cicloergometro (t₂). Lo spessore del quadricipite femorale (rectus femoris + vastus intermedius) è stato misurato con la sonda posizionata trasversalmente.

Esame delle urine

L'urina è stata raccolta in contenitori di polietilene e miscelati con 5 ml/L di una soluzione al 5% di timolo in isopropanolo. Durante il periodo di raccolta, i contenitori ed il loro contenuto sono stati mantenuti a 5 ° C I campioni di urine sono stati testati per la presenza di sangue e infezioni. Campioni positivi per nitriti ed ematuria sono stati scartati.

Il peso specifico delle urine è stato valutato utilizzando un rifrattometro (Atago Digital Urina Rifrattometro Peso specifico). Il pH delle urine è stato registrato utilizzando potenziometro (Rondolino, Mettler Toledo). Il colore delle urine è stato valutato mediante una scala visiva. Vogel 1 (urine giallo, urine giallo pallido, giallo chiaro), Vogel 2 (giallastre, rossastre, rosse), Vogel 3 (rosso bruno e marrone urine).

Analisi Statistica

La valutazione statistica dei risultati è stata eseguita utilizzando un pacchetto SPSS per Windows, versione 17.0 (Chicago, IL, USA). Sono stati confrontati i risultati ottenuti per ciascun gruppo durante tutti gli stadi dello studio:

- in test C (senza idratazione) prima e dopo lo sforzo;
- in test H (a seguito di idratazione) prima e dopo lo sforzo;
- I due gruppi tra loro.

Il significato statistico dei due gruppi (A e B) è stato determinato mediante il T Test di Student per campioni indipendenti: i parametri statistici sono stati calcolati e i valori espressi come media \pm deviazione standard (S.D.). Le relazioni tra le misure raccolte sono stati calcolati con una correlazione bivariata di Pearson. Le differenze sono state considerate statisticamente significative quando $p < 0.05$.

RISULTATI e DISCUSSIONE

Tutti i soggetti si sono sottoposti al protocollo sperimentale descritto precedentemente. Tutti i test sono stati eseguiti ad una temperatura ambientale di $19.50 \pm 0.53^\circ\text{C}$ con un'umidità del $58.38 \pm 0.52\%$.

Test C. Nel primo test effettuato senza idratazione, la temperatura corporea ha mostrato un aumento significativo immediatamente dopo il termine del test cicloergometro (t0-t1): gli atleti hanno iniziato l'esercizio con una temperatura media di $35.9 \pm 0.6^\circ\text{C}$, raggiungendo alla fine del lavoro $36.5 \pm 0.4^\circ\text{C}$; $p < 0.001$. Nessuna differenza è stata osservata nella distribuzione corporea di acqua totale, con quasi gli stessi livelli di ICW ed ECW rilevati prima (t0) e 5 minuti dopo l'esercizio fisico (t2) (Tabella 1). L'esame ecografico eseguito a riposo (t0) e 5' dopo il Wingate test (t2) ha mostrato in entrambi i gruppi una variazione dello spessore muscolare in accordo con i nostri precedenti studi [7] (gruppo A: 29.94 ± 3.89 mm vs 32.29 ± 3.13 mm, $p = 0.00$; gruppo B: 30.56 ± 3.30 mm vs 33.08 ± 2.89 mm, $p = 0.00$).

L'analisi delle urine raccolte a t0 e t3 non ha mostrato alcuna differenza significativa nel colore; è stato osservato una diminuzione del pH urinario a t2 (Tabella 3) come previsto dopo esercizio anaerobico, mentre il peso specifico urinario dopo lo sforzo ha mostrato un aumento significativo (gruppo A: 1020 ± 4.7 g/L vs 1022 ± 4.4 g/L; $p = < 0.001$; gruppo B: 1018 ± 6.5 g/L vs 1019 ± 5.5 g/L; $p = \text{ns}$), (Figura 1). I dati sul pH e densità delle urine sono stati confrontati anche tra i due gruppi. I valori non hanno mostrato differenze significative

Test H. La temperatura corporea ha mostrato un aumento t0-t1 così come si era verificato nel test C ($35.9 \pm 0.4^\circ\text{C}$ vs $36.4 \pm 0.4^\circ\text{C}$; $p = < 0.001$). L'Analisi bioimpedenziometrica eseguita dopo idratazione (Tabella 2), non ha mostrato differenze nel gruppo A, mentre nel gruppo B è stato riscontrato un lieve ma significativo aumento della ECW a riposo e una concomitante diminuzione della ICW. Dopo esercizio il gruppo B, idratato con Acqua Lete[®] ha mostrato uno spostamento di acqua corporea, dal compartimento extracellulare a quello intracellulare.

L'esame ecografico ha rilevato un incremento dello spessore muscolare, così come già osservato nel Test C, (gruppo A: 29.93 ± 3.89 mm vs 32.00 ± 3.61 mm; gruppo B: 30.84 ± 3.47 mm vs 32.82 ± 2.72 mm).

In atleti idratati con acqua Lete[®] è stato osservato un pH delle urine più alcalino rispetto a quelli che hanno idratati con l'acqua minerale minimamente mineralizzata (Tabella 3) ed una significativa riduzione del peso specifico urinario dopo esercizio sforzo, sempre in confronto con gli atleti appartenenti al gruppo A (gruppo A 1014 ± 4.1 g/L vs gruppo B 1008 ± 4.3 g/L; Figura 2).

Molti studi hanno utilizzato il Wingate test e il Wingate test modificato [14], per valutare le risposte fisiologiche all'esercizio anaerobico: nel nostro studio è stata valutata la risposta all'esercizio anaerobico prima e dopo idratazione con un'acqua minerale bicarbonato-calcica chiamata Acqua Lete[®] in paragone ad un'acqua classificata come minimamente mineralizzata (residuo fisso 14.3 mg/L).

Un modesto incremento della temperatura corporea si è verificato nonostante i soggetti avessero eseguito l'esercizio ad un'intensità media per un breve tempo. Sebbene non ci siano conclusioni uniche in letteratura circa la relazione fra temperatura corporea, intensità dell'esercizio e stato di idratazione [15], alcuni studi riportano un aumento della temperatura corporea dopo Wingate test, con un indice di fatica più alto per temperature corporee più alte [16]. Altri studi riportano un aumento della temperatura dopo blando esercizio, come il riscaldamento muscolare, in funzione della durata dell'esercizio [17]. La relazione fra i livelli di idratazione e la temperatura corporea è stata ampiamente studiata, e nonostante sia ben documentato che la disidratazione aumenta la temperatura corporea durante esercizio [18], molti studi concordano che l'iperidratazione non fornisce particolari vantaggi nel mantenimento dell'omeostasi idrica durante esercizio [19, 20]. Nel nostro studio abbiamo trovato una modesta ma significativa differenza nei livelli di temperatura corporea dopo esercizio fra Test C e Test H ($36.5 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ vs $36.4 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$; $p < 0.001$), con i minori valori dopo idratazione. Questi dati confermano che la corretta idratazione ottenuta nel secondo test, ha garantito il mantenimento di una migliore omeostasi termoregolatoria.

La valutazione della composizione corporea è utile in una serie di contesti clinici per ottenere informazioni relative alle condizioni nutrizionali e alla distribuzione dei fluidi corporei. L'analisi bioimpedenziometrica (BIA) è una tecnica sicura, non invasiva, poco costosa e facile da usare. Studi precedenti hanno accertato l'accuratezza dell'analisi impedenziometrica [21] ed hanno riportato differenze nella distribuzione dell'acqua corporea totale prima e dopo lo sforzo, dovute ad un passaggio della stessa dal comparto extracellulare a quello intracellulare conseguente a modificazioni dell'osmolarità cellulare dopo esaurimento energetico [22, 23]. Numerosi fattori regolano gli spostamenti dei liquidi fra i compartimenti: l'esercizio è un potente stimolo per lo spostamento dei fluidi, determinando una riduzione del volume plasmatico correlato con un aumento della sezione trasversale dei muscoli [24]. Queste conclusioni supportano l'idea che l'esercizio determini un movimento di fluidi dal plasma allo spazio intracellulare e interstiziale. Durante l'esercizio, l'aumento di attività metabolica all'interno delle cellule, porta ad un aumento della pressione osmotica e stimola un afflusso di fluidi nel comparto intracellulare per ristabilire l'equilibrio osmotico. Sebbene in letteratura siano riportate variazioni della TBW come conseguenza dell'esercizio di lunga durata [25], noi abbiamo trovato significative variazioni della TBW in entrambi i gruppi di soggetti, durante lo sforzo eseguito senza idratazione (Test C). Al contrario dopo idratazione entrambi i gruppi hanno mostrato un contenuto simile di acqua corporea totale, ma differenti distribuzioni di ECW ed ICW: il gruppo B, idratato con acqua minerale bicarbonato-calcica Lete[®], ha mostrato un significativo shift di acqua attraverso il comparto intracellulare. Questo gruppo, rispetto al gruppo idratato con acqua minimamente mineralizzata, ha raggiunto al picco dell'esercizio, un livello di lattatemia più alto (9.8 ± 0.6 mmol/L vs 7.4 ± 0.8 mmol/L; $p < 0.05$), portando presumibilmente ad una variazione del pH intracellulare che attraverso variazioni dell'osmolarità cellulare può essere stata responsabile dell'aumentato volume di acqua nello spazio intracellulare [26].

All'esame ecografico entrambi i gruppi hanno mostrato un analogo incremento di volume muscolare 5 minuti dopo il termine dell'esercizio (gruppo A: 2.14 ± 1.06 mm e gruppo B: 2.55 ± 1.22 mm;). Variazioni di volume e architettura muscolare sono state riportate in

numerosi studi e messe in relazione ai cambiamenti biochimici che insorgono con l'affaticamento muscolare [27]. In un precedente studio, abbiamo trovato dopo test ergometrico, un significativo aumento del volume muscolare, unito a variazioni dell'architettura muscolare [13] probabile conseguenza di edema muscolare. L'aumento del volume muscolare può anche essere il risultato di un diminuito rilassamento muscolare dovuto ad un accumulo intracellulare di Ca^{++} e H^+ : in questo caso la stimolazione della via proteolitica Ca^{++} -dipendente degrada proteine strutturali e contrattili e la riduzione del pH riduce il distacco dei legami a ponte [28].

Dopo idratazione abbiamo inoltre trovato in entrambi i gruppi una interessante correlazione fra l'aumento di ICW e lo spessore del quadricipite (gruppo A: $r=0.957$, $p<0.001$; gruppo B: $r=0.454$, $p<0.05$): in questo caso l'aumentato volume del quadricipite femorale sembra essere dovuto ad un aumentato contenuto di acqua cellulare (gruppo A incremento medio di 2.35 ± 1.27 mm vs gruppo B: 2.52 ± 0.91 mm). La stessa relazione non è stata trovata nel Test C: una possibile spiegazione può essere che nel Test di controllo l'aumento di volume sia prevalentemente dovuto ad una diminuzione del rilassamento muscolare, possibile conseguenza di una seppur modesta disidratazione [29].

L'esame delle urine consente di valutare lo stato di idratazione di atleti e sedentari valutando in particolare l'osmolarità urinaria, il peso specifico ed il colore. Questi parametri sembrano infatti estremamente sensibili alle variazioni dello stato di idratazione e dell'osmolarità plasmatica [30]. In base alle posizioni dell'American College of Sports Medicine [3] e del National Athletic Trainers' Association [4], uno stato di corretta idratazione è definito da un peso specifico urinario minore di 1.020; ipoidratazione da 1.020 a 1.029; e disidratazione importante per valori uguali o maggiori di 1.030. Nel nostro studio abbiamo valutato peso specifico delle urine, pH e colore, prima (t_0) e 30' dopo il termine del test al cicloergometro (t_3) in entrambe le sessioni (senza e con idratazione). Quando i gruppi sono stati testati senza idratazione, abbiamo trovato in entrambi un minimo ma significativo incremento del peso specifico dopo esercizio, al contrario, abbiamo potuto riscontare una diminuzione della densità urinaria dopo idratazione acuta. Risultato significativo è stato quello di aver osservato, dopo esercizio, livelli significativamente più bassi del gruppo B rispetto al gruppo A (1008.1 ± 6.3 g/L vs 1014.6 ± 5.1 g/L; $p<0.00$). Entrambi i gruppi erano quindi ben idratati, ma il gruppo B, ottenendo un livello medio di peso specifico urinario minore di 1.010, dimostra una migliore idratazione rispetto al gruppo A [5].

Questo risultato può essere attribuito alla specifica composizione chimica delle acque utilizzate nel Test H. Le acque somministrate durante il Test H sono infatti molto diverse tra loro (Tabella 1): l'acqua minimamente mineralizzata è caratterizzata da livelli minimi di calcio e bicarbonato con un residuo di 14.3 mg/l (Tabella 1), l'Acqua Lete[®] caratterizzata da un contenuto modesto di sodio (4.91mg/L) e potassio (2.10 mg/L) e con un contenuto significativo di bicarbonato (981.1 mg/L), calcio (313.7 mg/L), magnesio (15.12 mg/L) e stronzio (0.15 mg/L) appartiene al gruppo delle acque minerali bicarbonato-calciche.

Il peso specifico dipende dal numero e dal peso dei soluti, costituiti prevalentemente da urea ed elettroliti. In condizioni fisiologiche il maggiore assorbimento di acqua induce una diminuzione della concentrazione di soluti, producendo urine con un basso peso specifico, che indica quindi la migliore capacità di trattenere acqua (come riscontrato nel gruppo B). Inoltre il consumo di acqua minerale ricca in magnesio e bicarbonato può aumentare il pH urinario, e l'escrezione di magnesio e citrato, e diminuire la concentrazione di ossalati di calcio [31].

Nel presente studio, l'idratazione con Acqua Lete[®] è risultata associate ad un significativo aumento del pH urinario, se comparata con l'idratazione mediante acqua minimamente mineralizzata.

In un precedente studio König et al. [32] hanno dimostrato che il consumo di acque ricche di minerali, può aumentare significativamente il pH urinario. Analogamente Heil [9] ha dimostrato che acque minerali arricchite con agenti alcalinizzanti migliorano l'equilibrio acido-base e lo stato di idratazione. Inoltre in un precedente studio abbiamo riportato l'influenza dell'Acqua Lete[®] sulla concentrazione di lattato ematico in atleti dopo esercizio [26].

Le osservazioni effettuate in questi studi concordano con le variazioni urinarie osservate nel nostro studio nel gruppo B: l'apporto di bicarbonato fornito mediante Acqua Lete[®] e la sua peculiare composizione chimica produce un effetto alcalinizzante che aumenta i valori di pH urinario.

Conclusioni

Al momento la maggior parte degli studi riportati in letteratura si sono concentrati sul mantenimento di un ottimale stato di idratazione durante esercizio strenuo, mentre poco è stato scritto sulle strategie di idratazione nel caso di esercizi a breve termine, quando le perdite di acqua sono minime e altri aspetti del recupero devono essere presi in considerazione. Il risultati del nostro studio confermano che nell'esercizio di breve durata una corretta idratazione è altrettanto importante che nell'esercizio prolungato. L'assunzione di acqua minerale bicarbonato-calcica denominata Acqua Lete[®] da parte di atleti amatoriali, prima e dopo il Wingate test, è stato associato ad un aumento del pH urinario e ad un minore peso specifico delle urine, indicando che questa acqua minerale può rappresentare una preziosa risorsa nutrizionale in grado di influenzare lo stato di idratazione degli atleti.

BIBLIOGRAFIA

1. Murray R. Rehydration strategies-balancing substrate, fluid, and electrolyte provision. *Int J Sports Med* 1998; 19: 133-135.
2. Maughan RJ, Noakes TD. Fluid replacement and exercise stress. A brief review of studies on fluid replacement and some guidelines for the athlete. *Sports Med.* 1991; 12:16-31.
3. Sawka MN, Burke LM, Eichner ER, Maughan RJ, Montain SJ, Stachenfeld SN. American College of Sports Medicine: exercise and fluid replacement. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39: 377-390.
4. Casa DJ, Armstrong LE, Hillman SK, Montain SJ, Rich B, Roberts WO, Stone JA. National Athletic Trainers' Association Position Statement: Fluid Replacement for Athletes. *J Athlet Train* 2000; 35: 212-224.
5. Montain SJ. Hydration recommendations for sport. *Curr Sports Med Rep* 2008; 7: 187-192.
6. Petraccia L, Liberati G, Giuseppe Masciullo S, Grassi M, Fraioli A. Water, mineral waters and health. *Clin Nutr.* 2006 ;25:377-85.
7. Vandevijvere S, Horion B, Fondu M, Mozin MJ, Ulens M, Huybrechts I, van Oyen H, Noirfalise. Fluoride intake through consumption of tap water and bottled water in Belgium. *A Int J Environ Res Public Health.* 2009;6:1676-90.
8. Meyer LG, Horrigan DJ Jr, Lotz WG. Effects of three hydration beverages on exercise performance during 60 hours of heat exposure. *Aviat Space Environ Med.* 1995; 66:1052-7.
9. Heil DP. Acid-base balance and hydration status following consumption of mineral-based alkaline bottled water. *J Int Soc Sports Nutr* 2010; 7: 29-41.
10. Guillemant J, Accarie C, de la Guéronnière V, Guillemant S. Calcium in mineral water can effectively suppress parathyroid function and bone resorption. *Nutr Res* 2002; 8: 901-910.
11. Burckhardt P. The effect of the alkali load of mineral water on bone metabolism: Interventional studies. *J Nutr* 2008; 138: 435S-437S.
12. Wynn E, Raetz E, Burckhardt P. The composition of mineral waters sourced from Europe and North America in respect to bone health: composition of mineral water optimal for bone. *Br J Nutr.* 2009; 101:1195-1199.

13. Brancaccio P, Limongelli FM, D'Aponte A, Narici M, Maffulli N. Changes in skeletal muscle architecture following a cycloergometer test to exhaustion in athletes. *J Sports Sci Med* 2008; 11: 538-541.
14. Fattorini L, Egidio F, Faiola F, Pittiglio G. Power output and metabolic response in multiple Wingate tests performed with arms. *Medicina dello Sport* 2008; 61: 21-28.
15. Casa DJ, Stearns RL, Lopez RM, Ganio MS, McDermott BP, Walker Yeargin, S, Yamamoto LM, Mazerolle SM, Roti MW, Armstrong, LE, Maresh CM. Influence of Hydration on Physiological Function and Performance During Trail Running in the Heat. *J Athlet Train* 2010; 45: 147-156.
16. Souissi N, Driss T, Chamari K, Vandewall H, Davenne D Gam A, Fillard JR, Jousselin E. Diurnal variation in Wingate test performances: influence of active warm-up. *Chronobiol Int* 2010; 27: 640-652.
17. Roelands B, Meeusen R Alterations in central fatigue by pharmacological manipulations of neurotransmitters in normal and high ambient temperature. *Sports Med.* 2010;40:229-46
18. Racinais S, Blonc S, Hue O. Effects of active warm-up and diurnal increase in temperature on muscular power. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37: 2134-2139.
19. Buono MJ, Wall AJ. Effect of hypohydration on core temperature during exercise in temperate and hot environments. *Pflugers Archiv* 2000; 440: 476-480.
20. Sawka MN, Montain SJ, Latzka WA. Hydration effects on thermoregulation and performance in the heat. *Comp Biochem Physiol Mol Integr Physio* 2001; 128: 679-690.
21. De Lorenzo A, Andreoli A, Matthie J, Withers P. Predicting body cell mass with bioimpedance by using theoretical methods: a technological review. *J Appl Physiol* 1997; 82: 1542-1558.
22. Mohan K, Raja GH, Raymer GR, Marsh G, Thompson GG. Changes in tissue water content measured with multiple-frequency bioimpedance and metabolism measured with ³¹P-MRS during progressive forearm exercise. *J Appl Physiol* 2006; 101: 1070-1075.
23. Ploutz-Snyder LL, Convertino VA, Dudley GA. Resistance exercise-induced fluid shifts: change in active muscle size and plasma volume. *Am J Physiol* 1995; 269: R536-543.
24. Mohsenin V, Gonzalez RR Tissue pressure and plasma oncotic pressure during exercise. *J Appl Physiol.* 1984; 56:102-8.
25. Baker LB, Lang JA, Kenney WL. Change in body mass accurately and reliably predicts change in body water after endurance exercise. *Eur J App Physiol* 2009; 105: 959-967.
26. Brancaccio P, Limongelli FM, Paolillo I, Grasso C, Donnarumma V, Rastrelli L. Influence of Acqua Lette[®] (Bicarbonate Calcic Natural Mineral Water) Hydration on Blood Lactate after Exercise. *The Open Sports Med J* 2011; 5: 24-30.
27. Rudroff T, Staudenmann D, Enoka R. Electromyographic measures of muscle activation and changes in muscle architecture of human elbow flexors during fatiguing contractions. *J Appl Physiol* 2008; 104: 1720-1726.
28. Armstrong RB, Warren GL, Warren JA. Mechanism of exercise-induced muscle fibre injury. *Sports Med* 1991; 12: 184-207.
29. Montain SJ, Tharion WJ. Hypohydration and muscular fatigue of the thumb alter median nerve somatosensory evoked potentials. *Appl Physiol Nut Met* 2010; 35: 456-463.
30. Oppliger RA, Magnes SA, Popowski LA. Accuracy of urine specific gravity and osmolarity as indicators of hydration status. *Int J Sport Nutr Exerc Met* 2005; 15: 236-251.
31. Kessler T, Hesse A. Cross-over study of the influence of bicarbonate-rich mineral water on urinary composition in comparison with sodium potassium citrate in healthy male subjects. *Br J Nutr* 2000; 84: 865-871.
32. König D, Muser K, Dickhuth HH, Berg A, Deibert P. Effect of a supplement rich in alkaline minerals on acid-base balance in humans. *J Nutr* 2009; 8: 23-31.

Tabella 1. Caratteristiche chimiche delle acque minerali utilizzate nello studio*

Parametri	Unità di Misura	Acqua Lete	Acqua Minimamente Mineralizzata
Conducibilità	mS/cm	1321.40 ± 46.10	17.57 ± 0.91
pH	pH	6.14 ± 1.91	5.00 ± 0.21
Residuo Fisso	mg/l	878.41 ± 25.21	14.31 ± 0.68
CO ₂	mg/L	1890.12 ± 72.51	15.22 ± 0.77
HCO ₃ ⁻	mg/l	981.11 ± 33.82	3.51 ± 0.15
Cl ⁻	mg/l	8.24 ± 2.22	0.41 ± 0.02
SO ₄ ²⁻	mg/l	6.60 ± 0.91	1.40 ± 0.08
NO ₃ ⁻	mg/l	4.14 ± 0.20	1.91 ± 0.08
Na ⁺	mg/l	4.91 ± 0.33	1.21 ± 0.05
K ⁺	mg/l	2.10 ± 0.08	0.32 ± 0.01
Ca ⁺⁺	mg/l	313.70 ± 9.81	1.11 ± 0.05
Mg ⁺⁺	mg/l	15.12 ± 3.92	0.42 ± 0.03
Fe	mg/l	0.02 ± 0.01	< 0.01
Sr ⁺⁺	mg/l	0.15 ± 0.01	< 0.1
Li ⁺	mg/l	< 0.01	< 0.01

*I risultati riportati sono la media ± SD di analisi eseguite in triplicato

Tabella 2. Acqua corporea totale (TBW), acqua extracellulare (ECW) e acqua intracellulare (ICW)* rilevate nel Test C e nel Test H prima e dopo esercizio *

Test C	TBW		ECW		ICW	
	t ₀	t ₃	t ₀	t ₃	t ₀	t ₃
Gruppo A	56.69±1.14 ^a	55.30±1.05 ^a	40.60±2.48	41.20±2.84	59.40±2.40	58.81±2.84
Gruppo B	57.50±1.80 ^b	55.87±0.75 ^b	37.76±4.17	37.46±2.82	62.24±4.17	62.54±2.82

Test H	TBW		ECW		ICW	
	t ₀	t ₃	t ₀	t ₃	t ₀	t ₃
Gruppo A	57.83±3.75	57.43±5.01	40.85±2.87	40.57±2.42	59.15±2.87	59.43±2.42
Gruppo B	57.84±2.26	57.37±3.11	38.47±1.11 ^c	37.10±1.04 ^c	61.53±1.14 ^d	62.94±0.94 ^d

*I valori sono espressi in percentuale (%)

I dati sono espressi come media ± SD: n=44;

I valori sono significativamente differenti rispetto ai valori di riposo (t₀): ^{a e b}p < 0.001; ^{c e d}p < 0.05

Tabella 3. pH delle urine in Test C (controllo) e Test H (idratazione) prima e dopo esercizio *

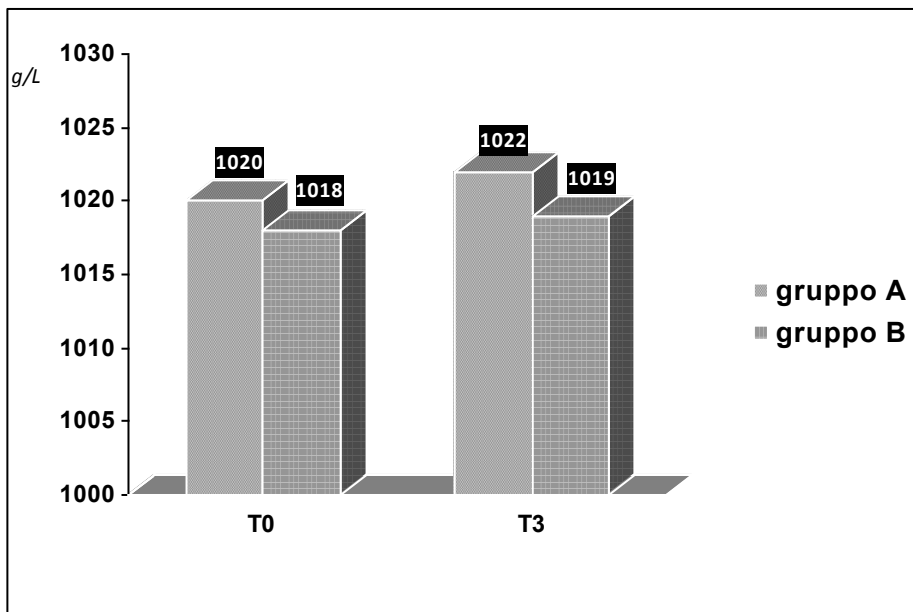
Test C	t ₀	t ₂
Gruppo A	5.6 ± 0.2 ^a	5.3 ± 0.1 ^a
Gruppo B	5.6 ± 0.4	5.4 ± 0.5

Test H	t ₀	t ₂
Gruppo A	5.5 ± 0.8	5.4 ± 0.9
Gruppo B	5.4 ± 0.2 ^b	5.7 ± 0.1 ^b

*I dati sono espressi come media ± SD: n=44;

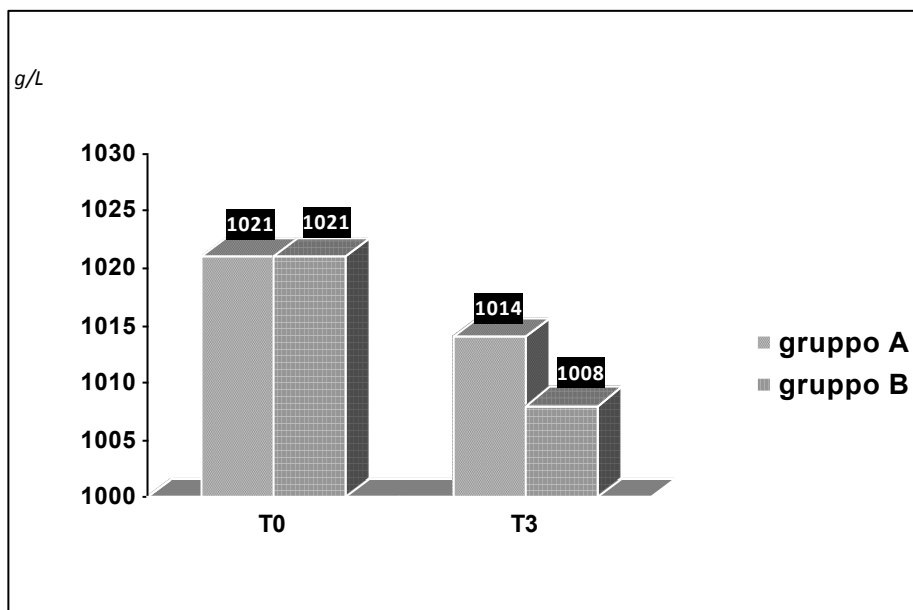
I valori sono significativamente differenti: ^{a e b}p < 0.05

Figura 1. Peso specifico urinario rilevato nel Test C prima e dopo esercizio*



* I dati sono espressi come media \pm SD: n=44;
Gruppo A: 1020 ± 4.7 (t_0) vs 1022 ± 4.4 (t_3): $p < 0.05$
Gruppo B: 1018 ± 6.5 (t_0) vs 1019 ± 5.5 (t_3), $p = ns$

Figura 2. Peso specifico urinario rilevato nel Test H prima (t_0) e 30' dopo esercizio (t_3)*.



* I dati sono espressi come media \pm SD: n=44;
Gruppo A: 1021 ± 4.6 (t_0) vs 1014 ± 4.1 (t_3), $p < 0.05$
Gruppo B: 1021 ± 3.7 (t_0) vs 1008 ± 4.3 (t_3), $p < 0.05$
Gruppo A (t_3) vs Gruppo B (t_3) = $p < 0.0$

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Supplementation of Acqua Lete[®] (Bicarbonate Calcic Mineral Water) improves hydration status in athletes after short term anaerobic exercise

Paola Brancaccio¹, Francesco Mario Limongelli¹, Iride Paolillo², Antonio D'Aponte¹, Vincenzo Donnarumma³ and Luca Rastrelli^{4*}

Abstract

Background: Experimental studies suggest that mineral waters with high concentrations of calcium and bicarbonate can impact acid–base balance. The purpose of this study was to test the effect on acid–base balance and specific urine gravity, of a bicarbonate calcic mineral water (Acqua Lete[®]) compared to a minimally mineralized water.

Methods: 88 amateur male athletes underwent two experimental trials with a modified Wingate test: the first was carried out without hydration (Control Test, Test C, n = 88); the second was carried out after one week of controlled hydration (Test with hydration, Test H, n = 88), with 1.5 L/day of a very low mineral content water (Group A, n = 44) or 1.5 L/day of Acqua Lete[®] (Group B, n = 44). Measure of body temperature, bioimpedance analysis, muscular ultrasound, and urinalysis were taken before (t₀), immediately after (t₁), 5' (t₂), and 30' (t₃) after exercise.

Results: Hydration results in a decreased core temperature; muscular ultrasound showed increased muscle thickness after exercise related to content of body water. Regarding urinalysis, in test H, we found in both groups after exercise a significant decrease of specific urine gravity with significantly lower levels in Group B. We also found a significant increase of pH in the same Group B.

Conclusions: In conclusion all the athletes hydrated with Acqua Lete[®] showed a positive impact on hydration status after anaerobic exercise with significant decrease of specific urine gravity and a positive effect on pH.

Keywords: Acqua Lete[®] mineral water, Urine specific gravity, Urine pH, Intracellular body water, Muscular ultrasound

Background

Scientists and athletes pay particular attention to the strategies of water intake in order to guarantee the best balance of fluids and to improve performance [1,2]. American College of Sports Medicine and the National Athletic Trainers' Association have defined hydration-status founding on urine specific gravity [3,4]. In 1996 the American College of Sport Medicine established the guideline, recently confirmed [5], recommended to preserve an optimal balance of hydration in order to improve performance and to prevent injuries.

Natural, untreated, spring water distinguishes itself from other bottled waters by its specific underground geological origin, its stable composition of minerals and its purity. Mineral waters can have potential beneficial effects on health [6], including bone health and numerous health claims have been made for the benefits arising from the traces of a large number of minerals found in solution [7]. Water alone provides adequate hydration during performance [8]; several researchers have suggested, for instance, that mineral waters, especially those with high concentrations of calcium and bicarbonate, can impact acid–base balance [9] and contribute to the prevention of bone loss [10].

Alkalinizing mineral waters can influence the acid–base equilibrium of the body [11]. Even small changes in

* Correspondence: rastrelli@unisa.it

⁴Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Biomediche, University of Salerno, Via Ponte Don Melillo, Fisciano, Salerno 84084, Italy
Full list of author information is available at the end of the article

pH have crucial effects on cellular function, suggesting that the purposeful consumption of mineral water represents one of the most practical ways to increase the nutritional load of alkali to the body. On the other hand, several studies have shown that alkalinizing mineral waters low in SO_4^{2-} and rich in HCO_3^- had better effects on Ca metabolism and bone resorption markers than waters rich in SO_4^{2-} and Ca [12].

Acqua Lete[®] mineral water has calcium concentrations of 314 mg/L, magnesium of 15 mg/L and bicarbonate of 981 mg/L, being a very high calcium and bicarbonate mineral water. The Acqua Lete[®] exhibits other peculiarities, notably high levels of carbon dioxide, and low contents of sodium and potassium.

Objectives of this study were to examine the relationship between Acqua Lete[®] intake and total body water, muscle thickness and urinary markers of hydration after short term anaerobic exercise. Based on experimental evidence, we hypothesized that Acqua Lete[®] mineral water ingestion will correlate with acid–base balance in the body lowering specific urine gravity of athletes and that it can guarantee the effectiveness of a correct hydration during short term exercise.

Methods

Protocol

All testing procedures were approved by the institution's Human Research Ethics committee. Eighty-eight male amateur athletes volunteered to participate in the study. All potential participants attended a familiarization session where details of the test protocol and their time commitment were described. All participants were advised that they were free to withdraw from testing at any time without any adverse consequences. Upon completion of the consent form, participants were randomly divided in two groups (A and B groups) of 44 subjects. Athletes trained (swimming or running) 4–5 hours per week. All the subjects stopped the training and followed a diet without any kind of mineral supplements during the entire period of the study (2 weeks).

Group A : age 34.7 ± 7.4 (mean \pm S.D.); height $178.5 \text{ cm} \pm 5.6$; weight $79.6 \text{ kg} \pm 6.9$, and Body Mass Index (BMI) 24.6 ± 1.2 . Group B : age 33.7 ± 8.6 (mean \pm S.D.); height $174.6 \text{ cm} \pm 5.4$; weight $79.6 \text{ kg} \pm 9.6$, and Body Mass Index (BMI) 25.7 ± 3.4 .

Both groups underwent two experimental trials, performed on an electrically braked ergometer (Bycycle SECA Hamburg, Germany) with a modified repeated Wingate protocol: five bouts of cycling of 60" with a mean speed of 80 RPM and 60" of rest between the sessions. The workload was 85 % of their maximal workload computed in a preliminary session a week before the first Test, with an incremental test on bicycle until exhaustion.

The two Tests were: test C of control, in basal conditions and without hydration the day of trial, for both groups and test H, after one week of controlled hydration with 1.5 L/die of a very low mineral content water in group A and 1.5 L/die of Acqua Lete[®], a bicarbonate calcic water with a medium mineral content in group B. Moreover athletes received 750 ml of water using freshly opened bottles one hour before the exercise and 250 ml of water in the following 30 minutes after effort, as recommended by National Athletic Trainer Association [4]. The type of water used was still the very low mineral content water (Group A) and Acqua Lete[®] (Group B).

Before testing, participants received a physical examination including medical history. In each session of work (Test C and Test H), we measured: body temperature; total body water (TBW), extracellular water (ECW), intracellular water (ICW); muscular size of quadriceps femoris; urinalysis.

The timing of measurements were:

at rest before the exercise (t_0): body temperature, bioimpedance analysis for TBW, ECW and ICW, muscular ultrasound for detection of muscular size, urinalysis;

immediately after the last session of exercise (t_1): body temperature;

5 minute after exercise (t_2): bioimpedance analysis, muscular ultrasound examination;

*30 minutes after exercise (t_3):*urinalysis;

Water analysis

The bicarbonate-rich mineral water Acqua Lete (Acqua Lete[®]; Società Generale delle Acque Minerali, Pratella, CE, Italy), consumed by the experimental Group B was shipped directly to the testing lab from its bottling facility. The very low mineral content water used for Group A is commonly available throughout Italy; it does not contain significant minerals or electrolytes whatsoever. Very low mineral content and Acqua Lete waters were also analyzed for 15 chemical parameters in our laboratory. Most of the elements were determined by ion chromatography (IC) using a Dionex instrument. A non-acidified aliquot was used to determine pH, electrical conductivity (EC), to titrate alkalinity. The 15 chemical and chemical-physical variables measured on each sample are listed in Table 1. Analytical methods are not further discussed here since they represent standard methods fixed by Italian regulations (IRSA – CNR methods 1994). Results are expressed as mean values \pm SD (standard deviation) of three replicate analyses for each water.

Table 1 Chemical characteristics of mineral waters used in the study*

Parameter	Measurement unit	Acqua Lete®	Very low mineral content
Conductivity	mS/cm	1321.40 ± 46.10	17.57 ± 0.91
pH	pH	6.14 ± 0.11	5.00 ± 0.09
Fixed residue	mg/l	878.41 ± 25.21	14.31 ± 0.68
CO ₂	mg/L	1890.12 ± 72.51	15.22 ± 0.77
HCO ₃ ⁻	mg/l	981.11 ± 33.82	3.51 ± 0.15
Cl ⁻	mg/l	8.24 ± 2.22	0.41 ± 0.02
SO ₄ ²⁻	mg/l	6.60 ± 0.91	1.40 ± 0.08
NO ₃	mg/l	4.14 ± 0.20	1.91 ± 0.08
Na ⁺	mg/l	4.91 ± 0.33	1.21 ± 0.05
K ⁺	mg/l	2.10 ± 0.08	0.32 ± 0.01
Ca ⁺⁺	mg/l	313.70 ± 9.81	1.11 ± 0.05
Mg ⁺⁺	mg/l	15.12 ± 3.92	0.42 ± 0.03
Fe	mg/l	0.02 ± 0.01	< 0.01
Sr ⁺⁺	mg/l	0.15 ± 0.01	< 0.1
Li ⁺	mg/l	< 0.01	< 0.01

*Each results represents the mean ± SD of three analysis for each water.

Body temperature

The Measurement of body temperature was made by means of tympanic thermometer Braun ThermoScan.

Bioimpedance analysis

The qualitative and quantitative appraisal of the body composition was made by means of instrumentation Bodygram AKERN, Florence Italy, which evaluates body and tissue composition, hydration and nutrition status. BIA methods are based on empirical equations based on height, weight and resistance or impedance of the wrist-ankle at 50 kHz, and allows determination of fluid volume and total body water from measurements of resistivity of tissues. We estimated the following parameters: total body water (TBW), extracellular body water (ECW) and intracellular body water (ICW). The examination at T0 was performed fasting from food and drink, whereas at T2 after the controlled hydration.

Muscle ultrasound

Muscle thickness were determined on the right leg by ultrasonography with a 10 MHz probe with the subject sitting on the examination couch with hips and knees flexed at 90° as reported previously. Muscular ultrasound is a non invasive, available method to detect differences in muscular size after exercise [13]. Subjects were asked to stay relaxed. The same operator performed all measurements at the border between the lower one third and the upper two thirds of the distance between the anterior superior iliac spine and the

upper pole of the patella. The measuring point was marked with a marking pen. Measurements were performed just before the exercise test (t₀), and 5 minute after the end of the cycloergometer test (t₂). We measured the thickness of the quadriceps femoris (rectus femoris + vastus intermedius) with the probe placed in the transverse plane.

Urinalysis

The urine was collected in polyethylene containers and mixed with 5 ml/L of a 5 % solution of thymol in isopropanol to preserve the urine. During the collection period, the containers and their contents were maintained at 5 °C. Urine samples were tested for the presence of blood and infection. Nitrite-positive and haematuria samples were discarded. Urine Specific Gravity was evaluated using a refractometer (Atago Digital Urine Specific Gravity Refractometer). Urine pH was recorded using a Rondolino sample changer potentiometer (Mettler Toledo). The color of the urine has been evaluate using a visual staircase. Vogel 1 (yellow urine, yellow pale, yellow clear), Vogel 2 (yellowish urines, reddish, redheads), Vogel 3 (red brownish and brown urines). 2 (yellowish urines, reddish, redheads), Vogel 3 (red brownish and brown urines).

Statistical analyses

Statistical analysis was performed by SPSS statistical package for Windows, release 17.0 (Chicago, IL, USA). We compared the data collected in each group at every step of work. Statistical significance between group A and group B was evaluated by unpaired samples *T* Test : descriptive statistics were calculated, and values reported as mean ± SD. Statistical significance within group A and group B, comparing Test C and Test H, was also evaluated by Student's *T* Test for paired samples: descriptive statistics were calculated, and values are reported as mean ± standard deviation. Relationships between the measures collected were calculated with a bivariate correlation measuring the Pearson's correlation coefficient. Differences were considered statistically significant when $P \leq 0.05$.

Results and discussion

All of the subjects underwent the protocol as described. In Table 1 we reported the features of the mineral waters used in the study.

Tests were performed at an environmental temperature of 19.50 ± 0.53 °C with a wetness of 58.38 ± 0.52 %.

Test C

In the first test made without hydration, the body temperature showed a significant increase immediately at the end of the cycloergometer test: the athletes started

exercise with a mean temperature of 35.9 ± 0.6 °C, reaching at the end of work 36.5 ± 0.4 °C; ($p < 0.001$). No differences were perceived in total body water distribution, with almost the same levels of ICW and ECW detected before (t_0) and 5 minute after exercise (t_2). Conversely significant changes were detected in TBW during the test C (Table 2).

Ultrasonography performed at rest (t_0) and 5' after the Wingate test (t_2) showed in both groups a variation of muscular thickness, consistent with our previous study [11]. (Group A: 29.94 ± 3.89 mm vs 32.29 ± 3.13 mm: $p = 0.00$); Group B: 30.56 ± 3.30 mm vs 33.08 ± 2.89 mm: $p = 0.00$).

Urinalysis collected at t_0 and t_3 showed no significant difference in colour; we observed a decrease of urinary pH at t_2 (Table 3), as expected after anaerobic exercise, whereas specific urinary gravity after effort (Figure 1) showed a significant increase (Group A: 1020 ± 4.7 g/L vs 1022 ± 4.4 g/L; $p = <0.001$; Group B: 1018 ± 6.5 g/L vs 1019 ± 5.5 g/L; $p = ns$). Data on urine pH and specific gravity between the two groups were compared. The values were not different between the two groups.

Test H

The body temperature showed an increase t_0 - t_1 in test C (35.9 ± 0.4 °C vs 36.4 ± 0.4 °C; $p = <0.001$). Bioimpedance analysis performed after hydration (Table 2), showed no difference in group A, whereas in group B we found a slight but significant decrease of ECW at rest and a concomitant increase of ICW. After exercise group B showed a shift of body water, from extracellular to intracellular compartment.

Ultrasonography detected an increase in muscular thickness, in test H. (Group A: 29.93 ± 3.89 mm vs 32.00 ± 3.61 mm; Group B: 30.84 ± 3.47 mm vs 32.82 ± 2.72 mm).

In athletes hydrated with Acqua Lete urine pH was more alkaline than in those who drank very low mineral

Table 3 Urine pH detected in Test C (control) and in Test H (hydration) before and after Exercise*

Test C	t_0	t_2
Group A	5.6 ± 0.2^a	5.3 ± 0.1^a
Group B	5.6 ± 0.4	5.4 ± 0.5
Test H	t_0	t_2
Group A	5.5 ± 0.8	5.4 ± 0.9
Group B	5.4 ± 0.2^b	5.7 ± 0.1^b

* Data are expressed as mean \pm SD, $n = 44$. Mean values were significantly different: ^a and ^b $p < 0.05$.

content water (Table 3). The specific gravity of the urine after effort sustained a significant and similar decrease in the two groups but subjects who drank Acqua Lete mineral water (Group B) showed a significantly lower mean values of specific urinary gravity when compared with athletes belonging to Group A (Group A 1014 ± 4.1 g/L vs Group B 1008 ± 4.3 g/L - Figure 2).

Many studies used Wingate Test and modified Wingate Test [14], to assess physiological responses to anaerobic exercise. In our study we evaluated the response to anaerobic exercise before and after hydration with a bicarbonate-calcic mineral water, named Acqua Lete, compared to a very low mineral content water (dry residues 14.3 mg/L).

A modest increase in core body temperature occurred despite subjects performed at a moderately high exercise intensity for a short time, although there are not univocal conclusions in the literature about the relation between core temperature, intensity of exercise and hydration status [15]. However some studies reported increase of core temperature after Wingate test, with a fatigue index higher when core temperature values are highest [16]. The exact mechanism of fatigue is not known; but presumably it is a complex interplay between both peripheral and central factors: the mechanism is probably mediated by catecholamines dopamine and noradrenaline. [17].

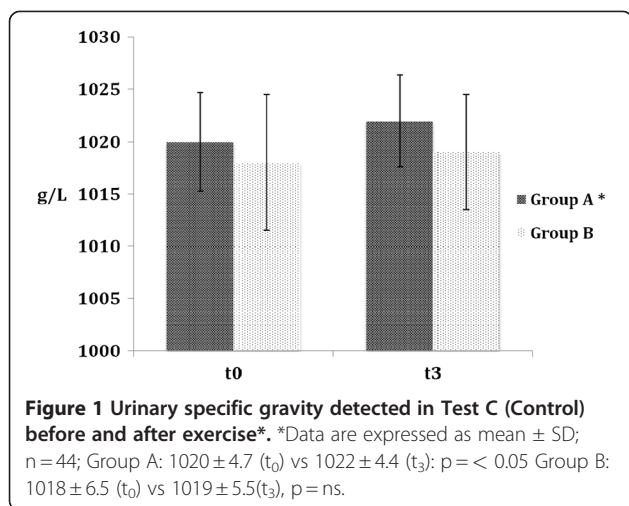
Table 2 Total body water (TBW), Extracellular water (ECW) and Intracellular water (ICW) in Test C (control) and in Test H (hydration) before and after exercise*

Test C	TBW		ECW		ICW	
	t_0	t_3	t_0	t_3	t_0	t_3
Group A	56.69 ± 1.14^a	55.30 ± 1.05^a	40.60 ± 2.48	41.20 ± 2.84	59.40 ± 2.40	58.81 ± 2.84
Group B	57.50 ± 1.80^b	55.87 ± 0.75^b	37.76 ± 4.17	37.46 ± 2.82	62.24 ± 4.17	62.54 ± 2.82
Test H	TBW		ECW		ICW	
	t_0	t_3	t_0	t_3	t_0	t_3
Group A	57.83 ± 3.75	57.43 ± 5.01	40.85 ± 2.87	40.57 ± 2.42	59.15 ± 2.87	59.43 ± 2.42
Group B	57.84 ± 2.26	57.37 ± 3.11	38.47 ± 1.11^c	37.10 ± 1.04^c	61.53 ± 1.14^d	62.94 ± 0.94^d

* values are expressed in percentage (%).

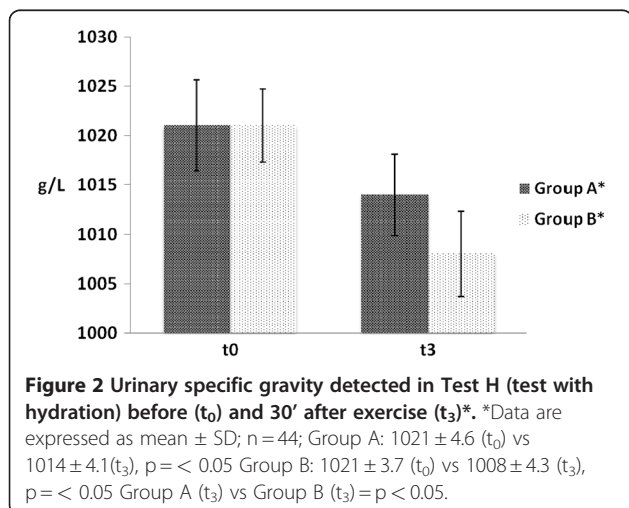
Data are expressed as mean \pm SD: $n = 44$.

Mean values were significantly different from resting values (t_0): ^a and ^b $p < 0.001$; ^c and ^d $p < 0.05$.



Other studies reported increase of temperature after light exercise, as the warm-up, depending on the duration of exercise [18]. The relationship between level of hydration and core temperature has been widely studied and, although it is well documented that dehydration increases body temperature during exercise [19], many studies agree that hyperhydration provides no thermoregulatory advantage over the maintenance of euhydration during exercise [20]. In our study we found a slight but significant difference in body temperature after exercise between Test C and Test H (36.5 ± 0.4 °C vs 36.4 ± 0.4 °C; $p < 0.001$), with lower values after hydration, confirming that the euhydration obtained in the second test ensured a better thermoregulatory homeostasis.

Body composition assessment is useful in a variety of clinical settings to gain information about nutritional condition and the status of body fluid compartments. Bioimpedance analysis (BIA) is an attractive technique for the purpose, because it is safe, non-invasive,



inexpensive and easy to use. Previous studies have characterized the accuracy of bioimpedance analysis [21] and have reported difference in total body water before and after effort, due to a shift from extracellular to intracellular compartment consequent to modification of cellular osmolarity after energy depletion [22,23]. During exercise, the elevated metabolic activity within the cell, leads to increased osmotic pressure, stimulates an influx of fluid into the intracellular compartment to re-establish an osmotic equilibrium [24].

Although changes in TBW are reported in the literature as a consequence of long-term exercise [25], we found significant change of TBW in both groups, when not hydrated. Conversely, after hydration both groups showed a similar total body water, but different distribution of ECW and ICW: Group B, hydrated with a bicarbonate calcic mineral water (Acqua Lete®), showed a significant shift of water through intracellular compartment. This group reached at peak of exercise a higher level of blood lactate (9.8 ± 0.6 mmol/L vs 7.4 ± 0.8 mmol/L; $p < 0.05$), leading to a change of intracellular pH and mediating cellular osmolality, which may be responsible for the increased volume of water in the intracellular space [26].

An ultrasound examination of both groups showed a similar increase of muscle thickness 5 minute after the end of the cycloergometer test, with a mean increase of 2.14 ± 1.06 mm in Group A and 2.55 ± 1.22 in Group B. Changes in size and muscle architecture, reported in a number of studies, were related to the biochemical changes which occurred with muscle fatigue [27]. In a previous study we found a significant increase of muscle thickness after cycloergometer test, bound to a variation of muscle architecture [13] probably as a consequence of muscle oedema. However the increased muscle thickness may be also resulting from a slowing of muscle relaxation due to intracellular accumulation of Ca^{++} and H^+ : in fact the elevation of the Ca^{++} -dependent proteolytic pathway degrades structural and contractile proteins, and depression in pH reduces the rate of cross bridge detachment [28].

After hydration we also found in both groups an interesting correlation between the increase of ICW and the thickness of quadriceps (Group A: $r = 0.957$, $p < 0.001$; Group B: $r = 0.454$, $p < 0.05$): in this case the increased volume of quadriceps seems to be due to a higher content of cellular water. (Group A = mean increase of 2.35 ± 1.27 vs Group B 2.52 ± 0.91). We did not find this relation in Test C: one possible explanation is that in the control test the increase of thickness was mainly due to the lack of relaxation, possibly the consequence of mild dehydration on neuro-muscular control [29].

Urinalysis assesses hydration status, particularly with urine osmolality, specific gravity and colour [30]. In our

study we evaluated specific urine gravity, pH and colour before (t_0) and 30' after the end of the cycloergometer test (t_3) in both sessions (without and with hydration).

When the groups were tested without hydration, we found in both groups a slight but significant increase of urine gravity after exercise. The data had the same course in both groups thus reaching a significant difference in group A. Even if a more complete study which take account all the aspects of fluid balance (urine volume osmolarity and hematocrit) could give more detail, We think that this result might be due to different hydration status (TBW) in the groups as described in Table 2. Conversely, in test H the controlled hydration imposed during the week before the test, lead to an equal TBW at rest. Anyway we supposed decreasing of urinary specific gravity after acute hydration, but we found that group B reached after exercise a significantly lower level than group A (1008.1 ± 4.3 g/L vs 1014.6 ± 4.1 g/L; $p < 0.001$). Both groups were well hydrated, but group B reading less than 1.010 reflected a better hydrated condition than the group A [5].

This result can be attributed to the specific chemical composition of waters used in Test H: the very low mineral content water had low levels of calcium and bicarbonate and a fixed residue of 14.3 mg/L; the Acqua Lete[®] water (fixed residue 878.8 mg/L) with modest contents of sodium (4.9 mg/L), potassium (2.1 mg/L) and sulphate (6.6 mg/L) had significant contents of bicarbonate (range values of 981.1), calcium (313.7 mg/L) and magnesium (15.1 mg/L), belongs to the group of the bicarbonate-calcics.

The specific gravity is dependent on the number and weight of solute particles constituted mainly of urea and electrolytes. In physiological conditions the greater absorption of water induce a lower concentration of solutes, producing urine with a low specific gravity, which indicates better capacity to retain water as we found in Group B. Moreover, consumption of mineral waters rich in magnesium and bicarbonate can increase urinary pH, magnesium, and citrate and decrease calcium oxalate concentration [31].

In the present study, when compared with the consumption of the very low mineral content bottled water, hydration with Acqua Lete[®] mineral water was associated with a significant increase in urine pH. Previous research by König et al. [32] demonstrated that consumption of a mineral-rich supplement significantly increased urinary pH. Similarly, Heil [9] (2010) showed that mineral-rich bottled water with alkalizant supplement improved acid–base balance and hydration status. The observations from these studies are consistent with the changes in urine observed in the present study for Group B. Moreover in a previous study [26] we found that the better hydration status improved the recovery

after exercise in both groups of athletes, with a rate of decrease of lactate higher in test H respect the test C. Besides the specificity of the Acqua Lete water, have affected the increase of lactate at peak of exercise and the restore after exercise, leading to minimal, but significantly lower levels of $[La^-]$ after effort.

Conclusions

To date most of the studies focused on the maintenance of better hydration status during strenuous exercise, whereas little has been written on useful strategies of re-hydration in short term exercise, when water loss is minimal and other aspects of recovery may be taken into account. The results of our study confirm that in short term exercise, a correct hydration is important as well as in long term exercise and confirm our hypothesis that Acqua Lete[®] mineral water intake is correlated with the increase of urinary pH and with a lower urine specific gravity in amateur athletes, therefore it may be a valuable nutritional vector for influencing hydration status in athletes.

Abbreviations

Test C: Control test; Test H: Test with hydration; BMI: Body Mass Index; TBW: Total Body Water; ECW: Extracellular Water; ICW: Intracellular Water; IC: Ion Chromatography; EC: Electrical Conductivity; BIA: Bioimpedance Analysis.

Competing interest

We declare that no conflict of interest. We have no financial or other interest in the product or distributor of the product.

Author's contribution

Paola Brancaccio, participated the design of the study, performed the statistical analysis, the interpretation of data and drafted the manuscript, Francesco Mario Limongelli, have given final approval of the version, Iride Paolillo, participated to the acquisition of data and carried out urinalysis, bioimpedance analysis and muscle ultrasound, Antonio D'Aponte, participated to the acquisition of data and carried out the Wingate test, Vincenzo Donnarumma, carried out all the laboratory analysis, Luca Rastrelli, performed the water analysis, participated the interpretation of data, drafted the manuscript and given final approval of the version. All authors read and approved the final manuscript.

Limitation of the study

We did not afford a complete assessment of hydration status, because the short duration of exercise and the lack of sweating did not allow to appreciate changes in body weight. A more complete study which take account all the aspects of fluid balance (urine volume osmolarity and hematocrit) and a complete diet, could give more detail and better indication on type of water to use in different type of exercise.

Acknowledgment

This work was supported by School of "Idrologia e Medicina Termale e dello Sport" of University of Salerno and by Società Sportiva Calcio Napoli S.p.A. The author states that there are no conflicts of interest.

Author details

¹Servizio di Medicina dello Sport, University of Naples, Via Costantinopoli, Naples 16 80138, Italy. ²Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Biomediche, University of Salerno, Via Ponte Don Melillo, Fisciano, Salerno 84084, Italy. ³Roecker Diagnostics and clinical research Laboratory, Marano di Napoli, Italy. ⁴Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Biomediche, University of Salerno, Via Ponte Don Melillo, Fisciano, Salerno 84084, Italy.

Received: 8 March 2012 Accepted: 26 July 2012
Published: 26 July 2012

References

1. Murray R: Rehydration strategies-balancing substrate, fluid, and electrolyte provision. *Int J Sports Med* 1998, **19**:133–135.
2. Maughan RJ, Noakes TD: Fluid replacement and exercise stress. A brief review of studies on fluid replacement and some guidelines for the athlete. *Sports Med* 1991, **12**:16–31.
3. Sawka MN, Burke LM, Eichner ER, Maughan RJ, Montain SJ, Stachenfeld SN: American College of Sports Medicine: exercise and fluid replacement. *Med Sci Sports Exerc* 2007, **39**:377–390.
4. Casa DJ, Armstrong LE, Hillman SK, Montain SJ, Rich B, Roberts WO, Stone JA: National athletic trainers' association position statement: fluid replacement for athletes. *J Athlet Train* 2000, **35**:212–224.
5. Montain SJ: Hydration recommendations for sport. *Curr Sports Med Rep* 2008, **7**:187–192.
6. Petracchia L, Liberati G, Giuseppe Masciullo S, Grassi M, Fraioli A: Water, mineral waters and health. *Clin Nutr* 2006, **25**:377–385.
7. Vandevijvere S, Horion B, Fondou M, Mozin MJ, Uleus M, Huybrechts I, van Oyen H: Noifalise Fluoride intake through consumption of tap water and bottled water in Belgium. *A Int J Environ Res Public Health*. 2009, **6**:1676–1690.
8. Meyer LG, Horrigan DJ Jr, Lotz WG: Effects of three hydration beverages on exercise performance during 60 hours of heat exposure. *Aviat Space Environ Med* 1995, **66**:1052–1057.
9. Heil DP: Acid-base balance and hydration status following consumption of mineral-based alkaline bottled water. *J Int Soc Sports Nutr* 2010, **7**:29–41.
10. Guillemant J, Accarie C, de la Guéronnière V, Guillemant S: Calcium in mineral water can effectively suppress parathyroid function and bone resorption. *Nutr Res* 2002, **8**:901–910.
11. Burckhardt P: The effect of the alkali load of mineral water on bone metabolism: Interventional studies. *J Nutr* 2008, **138**:435S–437S.
12. Wynn E, Raetz E, Burckhardt P: The composition of mineral waters sourced from Europe and North America in respect to bone health: composition of mineral water optimal for bone. *Br J Nutr* 2009, **101**:1195–1199.
13. Brancaccio P, Limongelli FM, D'Aponte A, Narici M, Maffulli N: Changes in skeletal muscle architecture following a cycloergometer test to exhaustion in athletes. *J Sports Sci Med* 2008, **11**:538–541.
14. Fattorini L, Egidi F, Faiola F, Pittiglio G: Power output and metabolic response in multiple Wingate tests performed with arms. *Medicina dello Sport* 2008, **61**:21–28.
15. Casa DJ, Stearns RL, Lopez RM, Ganio MS, McDermott BP, Walker Yeargin S, Yamamoto LM, Mazerolle SM, Roti MW, Armstrong LE, Maresh CM: Influence of Hydration on Physiological Function and Performance During Trail Running in the Heat. *J Athlet Train* 2010, **45**:147–156.
16. Souissi N, Driss T, Chamari K, Vandewall H, Davenne D, Gam A, Fillard JR, Jousselin E: Diurnal variation in Wingate test performances: influence of active warm-up. *Chronobiol Int* 2010, **27**:640–652.
17. Roelands B, Meeusen B: Alterations in central fatigue by pharmacological manipulations of neurotransmitters in normal and high ambient temperature. *Sports Med* 2010, **40**:229–246.
18. Racinais S, Blonc S, Hue O: Effects of active warm-up and diurnal increase in temperature on muscular power. *Med Sci Sports Exerc* 2005, **37**:2134–2139.
19. Buono MJ, Wall AJ: Effect of hypohydration on core temperature during exercise in temperate and hot environments. *Pflugers Arch* 2000, **440**:476–480.
20. Sawka MN, Montain SJ, Latzka WA: Hydration effects on thermoregulation and performance in the heat. *Comp Biochem Physiol Mol Integr Physiol* 2001, **128**:679–690.
21. De Lorenzo A, Andreoli A, Matthie J, Withers P: Predicting body cell mass with bioimpedance by using theoretical methods: a technological review. *J Appl Physiol* 1997, **82**:1542–1558.
22. Mohan K, Raja GH, Raymer GR, Marsh G, Thompson GG: Changes in tissue water content measured with multiple-frequency bioimpedance and metabolism measured with ³¹P-MRS during progressive forearm exercise. *J Appl Physiol* 2006, **101**:1070–1075.
23. Ploutz-Snyder LL, Convertino VA, Dudley GA: Resistance exercise-induced fluid shifts: change in active muscle size and plasma volume. *Am J Physiol* 1995, **269**:R536–R543.
24. Mohsenin V, Mohsenin V: Tissue pressure and plasma oncotic pressure during exercise. *J Appl Physiol* 1984, **56**:102–108.
25. Baker LB, Lang JA, Kenney WL: Change in body mass accurately and reliably predicts change in body water after endurance exercise. *Eur J App Physiol* 2009, **105**:959–967.
26. Brancaccio P, Limongelli FM, Paolillo I, Grasso C, Donnarumma V, Rastrelli L: Influence of Acqua Lete® (Bicarbonate Calcic Natural Mineral Water) Hydration on Blood Lactate after Exercise. *The Open Sports Med J* 2011, **5**:24–30.
27. Rudroff T, Staudenmann D, Enoka R: Electromyographic measures of muscle activation and changes in muscle architecture of human elbow flexors during fatiguing contractions. *J Appl Physiol* 2008, **104**:1720–1726.
28. Armstrong RB, Warren GL, Warren JA: Mechanism of exercise-induced muscle fibre injury. *Sports Med* 1991, **12**:184–207.
29. Montain SJ, Tharion WJ: Hypohydration and muscular fatigue of the thumb alter median nerve somatosensory evoked potentials. *Appl Physiol Nut Met* 2010, **35**:456–463.
30. Opliger RA, Magnes SA, Popowski LA: Accuracy of urine specific gravity and osmolarity as indicators of hydration status. *Int J Sport Nutr Exerc Met* 2005, **15**:236–251.
31. Kessler T, Hesse A: Cross-over study of the influence of bicarbonate-rich mineral water on urinary composition in comparison with sodium potassium citrate in healthy male subjects. *Br J Nutr* 2000, **84**:865–871.
32. König D, Muser K, Dickhuth HH, Berg A, Deibert P: Effect of a supplement rich in alkaline minerals on acid-base balance in humans. *J Nutr* 2009, **8**:23–31.

doi:10.1186/1550-2783-9-35

Cite this article as: Brancaccio et al.: Supplementation of Acqua Lete® (Bicarbonate Calcic Mineral Water) improves hydration status in athletes after short term anaerobic exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2012 **9**:35.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

