

MARIANA DE MELO CAZAL

**EFEITO DA INGESTÃO DE CHÁ-MATE (*Ilex paraguariensis*) ANTES DO EXERCÍCIO AERÓBICO SOBRE INDICADORES METABÓLICOS, DE DANO MUSCULAR E ESTRESSE OXIDATIVO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C386e  
2019  
Cazal, Mariana de Melo, 1986-  
Efeito da ingestão de chá-mate (*Ilex paraguariensis*) antes do exercício aeróbico sobre indicadores metabólicos, de dano muscular e estresse oxidativo / Mariana de Melo Cazal. – Viçosa, MG, 2019.  
xv, 99 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Inclui apêndices.

Orientador: Paulo César Stringheta.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Erva-mate. 2. Temperatura corporal - Regulação.  
3. Antioxidantes. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.  
II. Título.

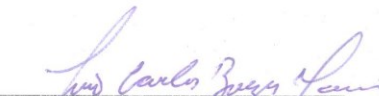
CDD 22. ed. 583


MARIANA DE MELO CAZAL


**EFEITO DA INGESTÃO DE CHÁ-MATE (*Ilex paraguariensis*) ANTES DO EXERCÍCIO AERÓBICO SOBRE INDICADORES METABÓLICOS, DE DANO MUSCULAR E ESTRESSE OXIDATIVO**

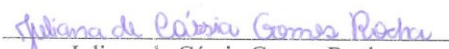
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

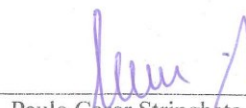
APROVADA: 16 de janeiro de 2019.

  
João Carlos Bouzas Marins  
(Coorientador)

  
Hudsara Aparecida de Almeida Paula

  
Leandro Licursi de Oliveira

  
Juliana de Cássia Gomes Rocha

  
Paulo Cesar Stringheta  
(Orientador)

*A Deus,  
À minha mãe Dalva e ao meu pai Waldir,  
Ao meu afilhado Miguel,  
Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida, por possibilitar a realização desse sonho e me amparar nos momentos mais difíceis!

A minha mãe, exemplo de mãe, mulher, esposa, avó e ser humano, pelas orações, pelo cuidado e amor inigualáveis.

Ao meu pai, por tudo que fez e faz por mim, pela obstinada luta para possibilitar minha formação pessoal e profissional, pelo seu imenso amor e incentivo.

Aos meus irmãos, obrigada pela torcida fiel, pelos ensinamentos de determinação e luta.

À Cris e ao Waguinho, pela prontidão em me ajudar sempre que precisei e por ser exemplo de profissional.

Ao meu orientador professor Paulo Stringheta, muito obrigada por ter me acolhido, por acreditar no meu potencial, por apoiar e confiar na escolha do tema. Além disso, agradeço pela orientação, pelo estímulo, pela liberdade intelectual, carinho e ensinamentos de vida e coragem. Foi um prazer indescritível conviver, trabalhar e aprender com uma pessoa tão querida, inteligente e humana. Muito obrigada por tudo!

Ao meu coorientador professor João Bouzas, obrigada pela convivência prazerosa por todos esses anos! Obrigada pelos conselhos, ensinamentos preciosos, disponibilidade, atenção, apoio incessante, pela força, amizade e por sempre ter acreditado em meu potencial! Seus ensinamentos serão eternos e, sem dúvida, foram imprescindíveis à minha formação profissional. As palavras são limitadas para expressar minha gratidão!

A minha coorientadora professora Ceres Lucia, pela ajuda na revisão dos artigos, pelas sábias sugestões e pela gentileza em todos os contatos.

A professora Hudsara Paula e a Juliana Rocha por terem gentilmente aceitado participar da banca de defesa de tese, enriquecendo ainda mais esse trabalho.

Ao professor Frederico Barros pela colaboração no projeto de pesquisa e na correção do primeiro artigo científico dessa tese.

Aos ciclistas, protagonistas desse estudo, pela participação, disponibilidade, dedicação e confiança na pesquisa. Sem vocês a realização desse trabalho seria impossível!

Ao Duilio, por não ter poupado esforços para me ajudar, por todo o suporte na coleta dos dados enquanto estive no laboratório. Duilio, sou muito grata a você!

À Carla pela imensa ajuda na realização dos protocolos de teste máximo dos voluntários, realizando os testes com muita dedicação e competência.

À Bruna Barnabé pela ajuda na análise de granulometria do chá-mate, pelo carinho e momentos compartilhados durante o doutorado.

As estagiárias Dayse, Patrícia e Izabela, pela dedicação, comprometimento com o trabalho e extremo cuidado com os voluntários.

Ao professor Marcelo Henrique dos Santos por ter disponibilizado o laboratório para as análises de compostos fenólicos e metilxantinas do chá-mate no HPLC.

Ao Zé Luiz (técnico no Departamento de Química) por ter me ajudado intensamente na realização das análises de HPLC, conduzindo-as com zelo e cuidado.

Ao professor Leandro Licursi e aos estudantes Daniel (doutorado) e Paula (graduação), por me receberem tão carinhosamente em seu laboratório, pela imensa ajuda nas análises de estresse oxidativo e por me ensinarem a grandeza da cooperação.

A família LACBIO (Eliana, Juliana, Mariane, Bárbara, Thaís Rigolon, Thaís Lessa, Kéllen, Jeferson, Elder, Rita, Amanda e Rariel) pelo acolhimento no melhor laboratório do DTA, pelas belas amizades que fiz, pelos abraços, carinho, pela ajuda nas análises, pelos inúmeros momentos compartilhados e por ter me feito sentir “em casa” nesse tempo.

A família LAPEH, em especial à Carla, Hamilton, Paula e Matheus, pela convivência, troca de ideias, pela disponibilidade e boa vontade em ajudar sempre.

A equipe do Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde (DSA), em especial ao farmacêutico Marcos Rodrigo de Oliveira, e também a equipe de Raios X da DSA, por terem colaborado com seus conhecimentos, assegurando que esse trabalho apresentasse dados confiáveis e de qualidade.

A amiga Valhé pela convivência prazerosa, pelos momentos de descontração e pela linda amizade.

As amigas Robs e Drielle, pela amizade duradoura, pelos conselhos, pelas palavras de carinho e por fazerem parte da minha vida! Vocês são especiais!

À Arícia pela convivência tão agradável, pelas palavras de apoio e carinho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFV, pela oportunidade de realização do doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa de estudos.

A Universidade Federal de Viçosa, excelência em ensino, pesquisa e extensão, por todas as oportunidades e pela minha formação.

A todos que, de alguma forma, fizeram parte desta longa e cansativa jornada, e contribuíram para mais esta conquista, meus sinceros agradecimentos.

## **BIOGRAFIA**

Mariana de Melo Cazal, filha de Waldir Cazal e Dalva Maria de Melo Cazal, nasceu em 08 de janeiro de 1986, na cidade de Ubá, Minas Gerais.

Em março de 2004, ingressou no Curso de Nutrição na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG, onde foi bolsista de iniciação científica por dois anos, orientada pela professora Rosângela Minardi Mitre Cotta, pesquisando na área de saúde pública e foi também monitora voluntária no laboratório de bioquímica e monitora bolsista das disciplinas de políticas de saúde e bioestatística aplicada à nutrição, entre outros trabalhos. Graduou-se em julho de 2008, quando iniciou o curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição da UFV, defendendo sua dissertação em dezembro de 2010.

Em setembro de 2011 foi admitida como professora pela Faculdade de Ilhéus, Ilhéus-Ba, onde ministrou várias disciplinas no curso de Nutrição e lecionou até julho de 2012. Nesse mesmo ano, foi aprovada em concurso público para docente temporário do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora-MG, onde lecionou até junho de 2013.

Em julho de 2013, iniciou seus estudos no curso de pós-graduação como aluno não vinculado no Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV, onde em julho de 2014 tornou-se estudante regular.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS .....	x
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiv
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	4
CAPÍTULO 1 .....	6
1. Introdução .....	8
2. Material e Métodos .....	9
2.1. Matéria prima e preparo do chá-mate .....	9
2.2. pH, acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais e cor.....	10
2.3. Determinação granulométrica.....	10
2.4. Determinação de minerais .....	11
2.5. Determinação da concentração de fenólicos totais .....	11
2.6. Determinação da concentração de flavonoides totais .....	11
2.7. Análise de compostos fenólicos e metilxantinas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	11
2.8. Determinação da capacidade antioxidante.....	12
2.8.1. Capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril- hidrazil)12	
2.8.2. Teste de estabilização do radical ABTS (2,2'-azinobis-3-etil- benzotiazolina-6-sulfonado).....	13
2.9. Análises estatísticas .....	13
3. Resultados e discussão .....	13
4. Conclusão .....	22
5. Referências Bibliográficas .....	22
CAPÍTULO 2 .....	28
2. Material e Métodos .....	31
2.1. Delineamento experimental do estudo.....	31
2.2. Participantes.....	32
2.2.1. Avaliação antropométrica e da composição corporal.....	34
2.2.2. Avaliação da capacidade aeróbica.....	35
2.2.3. Avaliação da ingestão alimentar e controle dietético .....	35
2.3. Protocolo experimental .....	36
2.4. Preparo do chá-mate e café da manhã .....	37
2.5. Análise de gases e oxidação do substrato .....	38

2.6.	Avaliações bioquímicas .....	39
2.7.	Avaliação da frequência cardíaca .....	39
2.8.	Avaliação dos sintomas gastrointestinais e sistêmicos .....	39
2.9.	Análises estatísticas .....	40
3.	Resultados .....	40
4.	Discussão .....	45
5.	Conclusão .....	50
6.	Referências Bibliográficas .....	50
CAPÍTULO 3 .....		56
1.	Introdução .....	58
2.	Material e Métodos .....	59
2.1.	Delineamento experimental do estudo.....	59
2.2.	Participantes.....	60
2.2.1.	Avaliação antropométrica e da composição corporal.....	61
2.2.2.	Avaliação da capacidade aeróbica.....	61
2.2.3.	Avaliação da ingestão alimentar e controle dietético .....	62
2.3.	Estimativa da capacidade antioxidante total da dieta (CATd).....	63
2.4.	Protocolo experimental.....	63
2.5.	Preparo do chá-mate e café da manhã .....	64
2.6.	Avaliações bioquímicas .....	65
2.6.1.	Análise da capacidade antioxidante total do plasma .....	66
2.6.2.	Malondialdeído.....	66
2.6.3.	Determinação da atividade das enzimas antioxidantes (glutathione-S-transferase e catalase).....	67
2.7.	Avaliação do índice de percepção do esforço (IPE).....	67
3.	Resultados .....	68
4.	Discussão .....	74
5.	Conclusão.....	79
6.	Referências Bibliográficas .....	79
3. CONCLUSÕES GERAIS .....		85
4. APÊNDICES.....		86
APÊNDICE I.....		86
APÊNDICE II .....		88
APÊNDICE III.....		91
5. ANEXOS .....		92
ANEXO I .....		92
ANEXO II.....		93

ANEXO III.....	94
ANEXO IV .....	96
ANEXO V.....	97
ANEXO VI .....	98

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>%SRL</b>	Porcentagem de sequestro de radicais livres
<b>AAC</b>	Área formada abaixo da curva
<b>ABTS</b>	2,2' -azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado
<b>AGL</b>	Ácidos graxos livres
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferase
<b>AU</b>	Ácido úrico
<b>AMDR</b>	<i>Acceptable Macronutrient Distribution Ranges</i>
<b>AMPc</b>	Adenosina monofosfato cíclica
<b>AMPK</b>	Proteína quinase ativada por adenosina monofosfato
<b>AST</b>	Aspartato aminotransferase
<b>CATd</b>	Capacidade antioxidante total da dieta
<b>CDNB</b>	1-cloro-2,4-dinitrobenzeno
<b>CK</b>	Creatina quinase
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>CMC</b>	Café da manhã e chá-mate
<b>CM</b>	Café da manhã
<b>DRI<sub>s</sub></b>	<i>Dietary Reference Intakes</i>
<b>DP</b>	Desvio padrão
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
<b>EAG</b>	Equivalente de Ácido Gálico
<b>ER</b>	Equivalentes de rutina
<b>FC</b>	Frequência cardíaca
<b>FRAP</b>	<i>Ferric reducing antioxidant power</i>
<b>GLP-1</b>	Peptídeo 1 tipo glucagon
<b>GSH</b>	Glutathiona reduzida
<b>GST</b>	Glutathiona-S-transferase
<b>IMC</b>	Índice de massa corporal
<b>IPE</b>	Índice de percepção do esforço
<b>LDH</b>	Lactato desidrogenase
<b>MDA</b>	Malondealdeído
<b>MC</b>	Massa corporal

<b>PAR-Q</b>	<i>Physical Activity Readiness Questionnaire</i>
<b>QR</b>	Quociente respiratório
<b>RPM</b>	Rotações por minuto
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>TBARS</b>	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
<b>TEAC</b>	Capacidade equivalente ao trolox
<b>TMPO</b>	1,1,3,3 tetramethoxypropane
<b>TPTZ</b>	2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina
<b>VCO<sub>2</sub></b>	Volume de gás carbônico
<b>VO<sub>2</sub></b>	Volume de oxigênio
<b>VO<sub>2máx</sub></b>	Volume máximo de oxigênio

## RESUMO

CAZAL, Mariana de Melo, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2019. **Efeito da ingestão de chá-mate (*Ilex paraguariensis*) antes do exercício aeróbico sobre indicadores metabólicos, de dano muscular e estresse oxidativo.** Orientador: Paulo Cesar Stringheta. Coorientadores: João Carlos Bouzas Marins e Ceres Mattos Della Lucia.

O chá-mate é uma bebida obtida pela infusão das folhas e ramos da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) após o processo de torrefação. É derivada da América do Sul e muito consumida no Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai. Devido ao seu alto teor de compostos bioativos, tais como compostos fenólicos e metilxantinas, o chá-mate pode ser uma opção interessante a ser consumida pré-exercício. Nesse contexto, esse estudo comparou as características físico-químicas, a capacidade antioxidante, o conteúdo de compostos fenólicos, metilxantinas e minerais do chá-mate preparado de três formas, bem como avaliou os efeitos da ingestão aguda de chá-mate pré-exercício sobre indicadores metabólicos, de dano muscular e estresse oxidativo em homens expostos ao exercício contínuo em cicloergômetro. Inicialmente, foi realizada a caracterização de três tipos de chá-mate (solúvel, em sachê e a granel) quanto aos parâmetros físico-químicos, a capacidade antioxidante, a composição mineral, ao conteúdo de compostos fenólicos e metilxantinas. Observou-se menor pH, maior acidez e sólidos solúveis totais no chá solúvel comparado ao sachê e ao a granel. A concentração de minerais, fenólicos totais, ácidos clorogênicos, ácido cafeico, flavonoides totais, metilxantinas e capacidade antioxidante foram maiores no chá solúvel em relação aos outros chás. Em seguida, foi realizado um ensaio clínico, no qual treze homens saudáveis e ativos participaram, de maneira randomizada de duas etapas experimentais: ingestão de café da manhã e chá-mate (CMC), e café da manhã (CM). Os participantes consumiam a refeição matinal e permaneciam em repouso por 60 min antes de iniciarem um exercício em cicloergômetro a 65% do volume máximo de oxigênio ( $VO_{2max}$ ) com duração de 60 min. Foram coletados os seguintes parâmetros durante os tratamentos: bioquímicos, frequência cardíaca (FC), sintomas gastrointestinais e sistêmicos, índice de percepção do esforço (IPE), amostras de gases para cálculo da oxidação do substrato e obtenção do quociente respiratório (QR). Observou-se que a área formada abaixo da curva (AAC) insulinêmica, o QR e a oxidação de carboidratos foram maiores no tratamento CM quando comparado ao CMC. De modo contrário, a oxidação de lipídeos foi maior no tratamento CMC comparado ao CM. Não foi verificada

diferença, entre as etapas experimentais, sobre os sintomas gastrointestinais e sistêmicos, FC e concentração plasmática de lactato, glicemia, insulina e ácidos graxos livres. As concentrações de lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase imediatamente após o exercício foram maiores que os valores observados no jejum durante o tratamento CM. Observou-se que a capacidade antioxidante total do plasma obtida logo após o exercício foi maior àquela obtida no jejum no tratamento CMC. O IPE avaliado aos 5 e 45 min do exercício no tratamento CM foi maior quando comparado aos mesmos tempos no tratamento CMC. Não foram observadas diferenças significantes entre as duas etapas experimentais ou entre os momentos em cada etapa para os parâmetros de creatina quinase, alanina aminotransferase, malondialdeído e ácido úrico. Em suma, demonstrou-se que o chá-mate em pó solúvel apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante em relação às outras formas de preparo. Ademais, o consumo desse tipo de chá uma hora antes do exercício aeróbico de moderada intensidade está associado ao aumento da oxidação de lipídeos e diminuição da oxidação de carboidratos durante a atividade, bem como ao aumento da proteção contra o dano muscular e a capacidade antioxidante plasmática.

## ABSTRACT

CAZAL, Mariana de Melo, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2019. **Effects of mate tea ingestion (*Ilex paraguariensis*) before aerobic exercise on metabolic, muscle damage and oxidative stress indicators.** Advisor: Paulo Cesar Stringheta. Co-advisors: João Carlos Bouzas Marins and Ceres Mattos Della Lucia.

Mate tea is a beverage obtained by the infusion of both leaves and branches of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) after the roasting process. This drink is derived from South America and widely consumed in Brazil, Argentina, Uruguay and Paraguay. Due to its high content of bioactive compounds including phenolic compounds and methylxanthines, mate tea is likely an interesting option to be consumed prior physical exercise. Thus, the main goals of this study were (i) to compare the physical-chemical characteristics, antioxidant capacity, the content of phenolic compounds, methylxanthines and minerals of mate tea prepared in three ways, and (ii) to evaluate the effects of the acute pre-exercise intake on metabolic, muscle damage and oxidative stress biomarkers in men exposed to continuous exercise on cycle ergometer. First, three types of mate tea (soluble, in sachets and in bulk) were characterized regarding their physical-chemical parameters, antioxidant capacity, mineral composition, and the content of phenolic compounds and methylxanthines. Lower pH coupled with higher acidity and total soluble solids were found in the soluble tea compared to the sachet and the bulk. The concentration of minerals, total phenolics, chlorogenic acids, caffeic acid, total flavonoids, methylxanthines and antioxidant capacity were higher in soluble tea compared to other preparations. Next, a clinical trial was conducted with thirteen active healthy men in a randomized, two experimental trials: breakfast and mate tea (BT), and breakfast (B). The participants consumed the meal and remained resting for 60 min before starting a cycle ergometer exercise at 65% of the maximum oxygen uptake ( $VO_{2max}$ ) for up to 60 min. The following parameters were collected during the tests: biochemical, heart rate (HR), gastrointestinal and systemic symptoms, ratings of perceived exertion (RPE), gas samples to calculate of substrate oxidation and obtaining the respiratory quotient (RQ). It was verified that the area under the insulinemic curve, the RQ and the carbohydrate oxidation were higher in the B test when compared to the BT test. Conversely, higher fat oxidation was observed in the BT test in comparison to B. Overall, no significant differences between the experimental trials on gastrointestinal and systemic symptoms, HR and plasma concentration of lactate, glycemia, insulin and free fatty acids. The activities of both LDH and AST

immediately after exercise were higher than during fasting in the B test. It was observed that the total antioxidant capacity of plasma obtained following exercise was higher than that obtained in fasting in the BT test. The RPE assessed at either 5 and 45 min of exercise were higher in the B test when compared to the BT test. No significant differences were observed between the two experimental trials or between the time points evaluated in each trial for creatine kinase, alanine aminotransferase, malondialdehyde and uric acid. Collectively, the results obtained here showed that soluble mate tea display higher content of phenolic compounds and antioxidant capacity compared to other forms of preparation. In addition, the consumption of this type of tea just one hour prior to moderate-intensity aerobic exercise increased the fat oxidation while decreased carbohydrate oxidation during activity and increased protection against muscle damage and plasma antioxidant capacity.

# 1. INTRODUÇÃO GERAL

O chá é a segunda bebida mais consumida no mundo, perdendo apenas para a água (JUNGMIN et al., 2013). O alto consumo de chá está relacionado a questões culturais e seus benefícios à saúde (GEROLIS et al., 2017).

O chá-mate é uma bebida popular consumida por mais de um milhão de pessoas no mundo, estima-se que seus consumidores consomem de um a dois litros diariamente (BURRIS et al., 2012). Esse chá é obtido pela infusão das folhas da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) dessecadas, ligeiramente tostadas e esmigalhadas, cujo o consumo é mais frequente na região sul, centro-oeste e sudeste do Brasil (BRACESCO et al., 2011).

Há um crescente interesse científico pelo chá-mate devido a estudos que mostram que a erva-mate apresenta diversas substâncias bioativas que exercem importantes atividades biológicas benéficas à saúde, sendo os compostos fenólicos e a cafeína, os constituintes mais abundantes na planta (FERNANDES et al., 2017; MATEOS et al., 2018).

Estudos com modelo animal têm demonstrado que a erva-mate, na forma de extrato aquoso ou chá, tem efeito sobre o metabolismo energético, reduzindo o peso e/ou a gordura corporal (ARÇARI et al., 2009; BORGES et al., 2013; SILVA et al., 2011).

Outros estudos avaliaram o efeito da ingestão aguda desta erva na oxidação de gordura e observaram aumento em repouso (MARTINET; HOSTETTMANN; SCHUTZ, 1999) e também durante o exercício (ALKHATIB, 2014). Esses estudos foram conduzidos com humanos, os quais consumiram a erva-mate na forma de extrato seco. No estudo de Martinet, Hostettmann e Schutz (1999), o quociente respiratório reduziu após o consumo agudo de 1,5 g de erva-mate em cápsula.

Além do efeito lipolítico, a erva-mate apresenta efeitos antioxidantes importantes, os quais podem ser benéficos para utilização associada ao exercício físico (BOAVENTURA et al., 2012).

O exercício ocasiona um desequilíbrio na homeostase intracelular entre os agentes pró e antioxidantes, levando ao aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) devido ao incremento do consumo de oxigênio para atender à elevação da demanda metabólica. A exacerbada produção de EROs pode dar início ou contribuir

com a progressão do dano na fibra muscular promovidos pela realização do exercício (COSTA; SANTOS; BORGES, 2015).

O uso de antioxidantes para prevenir o estresse oxidativo causado pelo exercício físico tem ganhado destaque (AMMAR et al., 2017; KAWAMURA; MURAOKA, 2018). No entanto, o chá-mate, embora seja uma bebida muito rica em compostos fenólicos e um dos chás com maior capacidade antioxidante consumido pela população brasileira, estudos associando seu consumo com exercício são escassos. Em uma busca realizada no portal pubmed em 02/01/2019, por exemplo, empregando os descritores “*mate tea*” combinado com “*exercise*”, sem a utilização de filtros, foram observados 7 estudos.

De forma geral, há poucos estudos sobre os efeitos da ingestão de erva-mate na forma de chá em humanos e principalmente em associação com exercício. O chá-mate pode ser uma opção interessante a ser consumida pré-exercício, devido aos sugeridos efeitos da erva-mate no controle glicêmico, aumento da oxidação de gordura, atividade antioxidante e redução do dano muscular. Além disso, é uma forma de ingestão da erva-mate que apresenta baixo custo, versatilidade, podendo ser consumido quente ou frio, constituindo-se um veículo de substâncias bioativas que podem fazer parte de uma dieta balanceada e saudável.

Diante do exposto, o objetivo geral desse trabalho foi avaliar os efeitos da ingestão aguda de chá-mate sobre indicadores metabólicos, de dano muscular e estresse oxidativo em homens expostos ao exercício em cicloergômetro.

A fim de contemplar todos os objetivos específicos dessa tese, esse trabalho está apresentado e estruturado em 3 capítulos, da seguinte forma:

Capítulo 1: Fenólicos, metilxantinas, minerais e capacidade antioxidante de chá-mate (*Ilex paraguariensis*) preparado de três formas

- Objetivou-se nesse estudo comparar as características do chá-mate preparado de três formas, seguindo as recomendações do fabricante.

Capítulo 2: Efeitos metabólicos da ingestão de chá-mate (*Ilex paraguariensis*) antes do exercício aeróbico

- O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da ingestão aguda de chá-mate sobre o metabolismo energético em homens expostos ao exercício contínuo em cicloergômetro.

Capítulo 3: Efeitos do consumo de chá-mate (*Ilex paraguariensis*) pré-exercício sobre biomarcadores de dano muscular e estresse oxidativo

- O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos do consumo de chá-mate pré-exercício sobre biomarcadores de dano muscular e estresse oxidativo em homens expostos ao exercício contínuo em cicloergômetro.

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALKHATIB, A. Yerba Maté (*Ilex Paraguariensis*) ingestion augments fat oxidation and energy expenditure during exercise at various submaximal intensities. **Nutrition & Metabolism**, v. 11, n. 42, p. 1–7, 2014.
- AMMAR, A.; TURKI, M.; HAMMOUDA, O.; CHTOUROU, H.; TRABELSI, K.; BOUAZIZ, M.; ABDELKARIM, O.; HOEKELMANN, A.; AYADI, F.; SOUISSI, N.; BAILEY, S. J.; DRISS, T.; YAICH, S. Effects of Pomegranate Juice Supplementation on Oxidative Stress Biomarkers Following Weightlifting Exercise. **Nutrients**, v. 9, n. 819, p. 1–13, 2017.
- ARÇARI, D. P.; BARTCHEWSKY, W.; SANTOS, T. W.; OLIVEIRA, K. A.; FUNCK, A.; PEDRAZZOLI, J.; SOUZA, M. F. F. De; SAAD, M. J.; BASTOS, D. H. M.; GAMBERO, A.; CARVALHO, P. D. O.; RIBEIRO, M. L. Antiobesity Effects of yerba maté Extract (*Ilex paraguariensis*) in High-fat Diet – induced Obese Mice. **Obesity**, v. 17, n. 12, p. 2127–2133, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/oby.2009.158>>.
- BOAVENTURA, B. C. B.; PIETRO, P. F. Di; STEFANUTO, A.; KLEIN, G. A.; MORAIS, E. C.; ANDRADE, F.; WAZLAWIK, E.; SILVA, E. L. Association of mate tea (*Ilex paraguariensis*) intake and dietary intervention and effects on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. **Nutrition**, v. 28, p. 657–664, 2012.
- BORGES, M. C.; VINOLO, M. A. R.; NAKAJIMA, K.; CASTRO, I. A.; BASTOS, D. H. M.; BORELLI, P.; FOCK, R. A.; TIRAPEGUI, J.; CURI, R.; ROGERO, M. M. The effect of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on metabolic and inflammatory parameters in high-fat diet-fed Wistar rats. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 64, n. 5, p. 1–9, 2013.
- BRACESCO, N.; SANCHEZ, A. G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis*: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 378–384, 2011.
- BURRIS, K.; HARTE, F.; DAVIDSON, P.; STEWART, C. J.; ZIVANOVIC, S. Composition and bioactive properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): a review. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 2, p. 268–274, 2012.
- COSTA, T. A.; SANTOS, J. J. A.; BORGES, J. H. Atividade antioxidante da erva-mate e lesão celular em exercício agudo de alta intensidade. **Revista Uningá**, v. 23, n. 1, p. 15–20, 2015.

FERNANDES, C. E. F.; SCAPINELLO, J.; BOHN, A.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; MAGRO, J. D.; PALLIGA, M.; OLIVEIRA, J. V.; TRES, M. V. Phytochemical profile, antioxidant and antimicrobial activity of extracts obtained from erva-mate (*Ilex paraguariensis*) fruit using compressed propane and supercritical CO<sub>2</sub>. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 98–104, 2017.

GEROLIS, L. G. L.; LAMEIRAS, F. S.; KRAMBROCK, K.; NEVES, M. J. Effect of gamma radiation on antioxidant capacity of green tea, yerba mate, and chamomile tea as evaluated by different methods. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 130, p. 177–185, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.08.017>>.

JUNGMIN, O.; HEONJOO, J.; REUM AH, C.; SUNG-JIN, K.; JAEJOON, H. Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. **Food Control**, v. 31, n. 2, p. 403–409, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.10.021>>.

KAWAMURA, T.; MURAOKA, I. Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. **Antioxidants**, v. 7, n. 119, p. 1–19, 2018.

MARTINET, A.; HOSTETTMANN, K.; SCHUTZ, Y. Thermogenic effects of commercially available plant preparations aimed at treating human obesity. **Phytomedicine**, v. 6, n. 4, p. 231–238, 1999. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0944-7113\(99\)80014-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0944-7113(99)80014-2)>.

MATEOS, R.; BAEZA, G.; SARRIÁ, B.; BRAVO, L. Improved LC-MS characterization of hydroxycinnamic acid derivatives and flavonols in different commercial mate (*Ilex paraguariensis*) brands. Quantification of polyphenols, methylxanthines, and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 241, p. 232–241, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.085>>.

SILVA, R. D. A.; BUENO, A. L. S.; GALLON, C. W.; GOMES, L. F.; KAISER, S.; PAVEL, C.; ORTEGA, G. G.; KUCHARSKI, L. C.; JAHN, M. P. The effect of aqueous extract of gross and commercial yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on intra-abdominal and epididymal fat and glucose levels in male Wistar rats. **Fitoterapy**, v. 82, n. 6, p. 818–826, 2011.

# CAPÍTULO 1

## FENÓLICOS, METILXANTINAS, MINERAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE CHÁ-MATE (*Ilex paraguariensis*) PREPARADO DE TRÊS FORMAS

### Resumo

O chá-mate é uma bebida preparada com as folhas e ramos da erva-mate (*Ilex paraguariensis*), derivada e amplamente consumida na América do Sul. Atualmente, no Brasil, há três formas de comercialização do chá-mate para preparo caseiro: pó solúvel, sachê e a granel. O objetivo desse estudo foi comparar as características físico-químicas, capacidade antioxidante, o conteúdo de compostos fenólicos, metilxantinas e minerais do chá-mate preparado de três formas, seguindo as recomendações do fabricante. A amostragem foi composta por três tipos de chá-mate, sendo eles: chá-mate em pó solúvel, em sachê e a granel. As bebidas foram caracterizadas e comparadas quanto aos parâmetros físico-químicos (pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais, cor e granulometria), à composição mineral, ao conteúdo de compostos fenólicos e metilxantinas e à capacidade antioxidante. Observou-se menor pH, maior acidez e sólidos solúveis totais no chá solúvel comparado ao sachê e ao a granel. O conteúdo de fenólicos totais no chá solúvel foi, aproximadamente, 1,8 e 2 vezes maior que nos chás sachê e a granel, respectivamente. A concentração de ácidos clorogênicos no chá solúvel foi, aproximadamente, 1,7 e 2 vezes maior que nos chás sachê e a granel, respectivamente. A concentração de minerais, ácido cafeico, flavonoides totais, cafeína, teobromina e capacidade antioxidante foram maiores no chá solúvel em relação aos outros chás. O chá-mate sachê apresentou maior conteúdo de fenólicos totais, ácidos clorogênicos e poder redutor que o chá a granel. Os resultados demonstraram que o chá-mate solúvel apresentou maior conteúdo de minerais, compostos fenólicos, flavonoides totais, metilxantinas e capacidade antioxidante quando comparado às outras formas usuais de preparo pelo consumidor.

**Palavras-chave:** erva-mate, bebidas, compostos fenólicos, infusão, ácidos clorogênicos, flavonoides.

## **Phenolics, methylxanthines, minerals and antioxidant capacity of mate tea (*Ilex paraguariensis*) preparation of three forms**

### **Abstract**

Mate tea is a beverage made from leaves and stems from yerba mate (*Ilex paraguariensis*), derived and widely consumed in South America. Currently, in Brazil, there are three ways of commercializing the mate tea for home preparation: soluble, sachet and in bulk. The objective of this study was to compare the physical-chemical parameters, antioxidant capacity, the content of phenolic compounds, methylxanthines and minerals of mate tea prepared in three ways, following the manufacturer recommendations. The samples were three types of mate tea: soluble, in sachets and in bulk. The beverages were characterized and compared regarding their physical-chemical parameters (pH, titratable acidity, total soluble solids, color and granulometry), mineral composition, antioxidant capacity, content of phenolic compounds and methylxanthines. Lower pH coupled with higher acidity and total soluble solids were observed in the soluble tea compared to the sachets and in bulk. Total phenolic content in soluble tea was approximately 1.8 and 2-fold higher than in sachets and bulk teas, respectively. The concentration of chlorogenic acids in the soluble tea was approximately 1.7 and 2-fold higher than in the sachets and bulk teas, respectively. The concentration of minerals, caffeic acid, total flavonoids, caffeine, theobromine and antioxidant capacity were higher in soluble tea compared to other teas. The mate tea in sachet presented higher content of total phenolics, chlorogenic acids and reducing power than bulk tea. The results showed that soluble tea had higher content of minerals, phenolic compounds, total flavonoids, methylxanthines and antioxidant capacity when compared to other usual forms of preparation by the consumer.

**Keywords:** yerba mate, beverages, phenolic compounds, infusion, chlorogenic acids, flavonoids.

## 1. Introdução

Na última década, o consumo de chá aumentou em torno de 30%, tornando-se a segunda bebida mais consumida no mundo, perdendo apenas para a água (SILVEIRA et al., 2017). No Brasil, o chá mais consumido é o chá-mate, obtido através do processo de torrefação das folhas e talos da erva-mate, o qual pode ser ingerido quente ou frio, sendo muito apreciado por suas propriedades estimulantes e seu sabor amargo (IBGE, 2010; BRACESCO et al., 2011).

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma planta da família Aquifoliaceae, derivada e amplamente consumida na América do Sul, principalmente no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai (ALKHATIB, 2014). As folhas e talos desta erva, secos e/ou torrados, são utilizados para preparar diferentes bebidas como chimarrão, tererê e chá (SILVEIRA et al., 2016).

De forma geral, para a produção do chá-mate, a erva-mate passa pelas seguintes etapas de processamento: sapeco, secagem, cancheamento, tramisação e torrefação. O sapeco consiste na passagem rápida dos ramos folhosos sobre as chamas do sapecador (temperatura entre 400 a 460 °C). Esta etapa tem por função a retirada da umidade superficial e inativação de enzimas (peroxidase e polifenoloxidase) que causam a oxidação do produto. A etapa de secagem consiste na desidratação da erva, na qual ocorre perda de peso de aproximadamente 70%. Na próxima etapa, o cancheamento, as folhas são separadas dos ramos (depende do produto a ser obtido) e ocorre a trituração da erva para ser peneirada. Por último, a erva cancheada passa pelo processo de torrefação para dar origem ao chá-mate tostado (ESMELINDRO et al., 2002).

O chá-mate apresenta diversos compostos bioativos, os quais estão relacionados à importantes atividades biológicas benéficas à saúde, tais como: atividade hipoglicemiante, anti-inflamatória, termogênica e antioxidante (PIMENTEL et al., 2013; SINGULANI et al., 2014; FAGUNDES et al., 2015; MATEOS et al., 2018). Os compostos fenólicos e a cafeína são os constituintes mais abundantes na planta. Os compostos fenólicos, principalmente os ácidos clorogênicos presentes no produto, têm sido associados com a sua alta capacidade antioxidante, e a cafeína está atrelada a sua propriedade energética (TURNER et al., 2011).

Atualmente, no Brasil, há três formas de comercialização do chá-mate para preparo caseiro: pó solúvel, sachê e a granel. Para o preparo do chá-mate solúvel, o pó solúvel é dissolvido em água quente. O chá-mate sachê é preparado por infusão do sachê em água quente e o chá a granel é preparado por infusão direta da erva-mate em

água quente, seguido por filtragem. Dessa forma, esses três tipos de chá-mate apresentam forma de preparo e também relação massa de soluto e água discrepantes, indicadas pelo fabricante nos rótulos dos produtos, o que pode resultar em diferenças na composição química desses chás no momento do consumo.

Apesar de haver alguns estudos sobre a composição química do chá-mate (SILVA et al., 2012; BOJIC et al., 2013; JUNGMIN et al., 2013; PANZA et al., 2016), não foi encontrado nenhum trabalho que comparou as três formas de preparo do chá-mate, de acordo com as condições usuais de preparo pelo consumidor no Brasil. Tal comparação aumentaria o conhecimento do consumidor acerca dos produtos e o possibilitaria escolher o chá-mate não apenas pelo modo de preparo, mas, também, por seu conteúdo de compostos que estão associados com propriedades benéficas. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi comparar as características físico-químicas, capacidade antioxidante, o conteúdo de compostos fenólicos, metilxantinas e minerais do chá-mate preparado de três formas, seguindo as recomendações do fabricante.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Matéria prima e preparo do chá-mate**

A amostragem foi composta por três tipos diferentes de chá-mate, sendo eles: chá-mate em pó solúvel (folhas e talos de erva-mate tostado), em sachê (folhas de erva-mate tostado) e a granel (folhas e talos de erva-mate tostado). As amostras foram adquiridas no comércio local da cidade de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

As embalagens das amostras após abertas foram acondicionadas sob vácuo, para evitar a oxidação, e armazenadas sob refrigeração (6 - 8 °C).

Os chás foram preparados em triplicata, seguindo as recomendações do fabricante, representando a forma de preparo pelos consumidores: (a) Chá-mate em pó solúvel: dissolução e homogeneização de 1 g de chá-mate em pó solúvel em 200 mL de água filtrada a 96 °C; (b) Chá-mate em sachê: infusão obtida pela adição de 200 mL de água (96 °C) sobre um sachê (1,6 g) por 5 min; (c) Chá-mate a granel: infusão obtida pela adição de 200 mL de água (96 °C) sobre 2,7 g de folhas e talos de *Ilex paraguariensis*. Após 10 min de infusão, a bebida foi filtrada em papel filtro.

## 2.2. pH, acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais e cor

A determinação de pH foi realizada em pHmetro digital (Digimed<sup>®</sup>, modelo DM-20), segundo as normas analíticas propostas pelo Manual do Instituto Adolfo Lutz (2008).

A determinação de acidez foi realizada por titulometria com solução padronizada de NaOH 0,1 mol·L<sup>-1</sup> e os resultados foram expressos em g de ácido cítrico·100 mL<sup>-1</sup> de amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Os sólidos solúveis totais foram determinados por gravimetria, utilizando-se 3 mL de chá-mate, os quais foram mantidos em estufa a 105 °C, até peso constante. O resultado foi expresso em mg·mL<sup>-1</sup> de chá-mate (SOUZA, 2009). A partir destes resultados, foi possível calcular o rendimento de extração dos chás.

A determinação da cor foi realizada por meio de leitura direta de reflectância das coordenadas L\* (luminosidade), a\* (intensidade de vermelho vs verde), b\* (intensidade de amarelo vs azul), empregando a escala Hunter Lab em um colorímetro Colorquest XE (Hunter Lab, Reston, VA), com iluminante D<sub>65</sub> e ângulo de observação de 10°. Para efetuar a leitura empregou-se uma cubeta com capacidade de 50 mL. Os parâmetros de tonalidade (h\*) e saturação (C\*), e as diferenças de cor ( $\Delta E^*$ ) foram calculados a partir dos valores de a\*, b\* e L\*, conforme as equações 1, 2 e 3, respectivamente (SCHANDA, 2007).

$$h^* = \arctan (b^*/a^*) \quad \text{Eq.1}$$

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad \text{Eq.2}$$

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad \text{Eq.3}$$

## 2.3. Determinação granulométrica

A granulometria da erva-mate foi determinada segundo metodologia da *Association of Official Analytical Chemists (AOAC)* (2000) no equipamento Ro-Tap Testing Sieve Shaker (Cleveland, EUA) com 100 g de amostra seca durante 10 min de agitação. Para esse trabalho, foi utilizado um conjunto de peneiras (20,3 cm de diâmetro) com aberturas de malha de 2; 1,41; 0,84; 0,59; 0,297 e 0,149 mm, correspondendo as tamises de n. 10, 14, 20, 30, 50 e 100, respectivamente.

#### **2.4. Determinação de minerais**

A identificação e quantificação de minerais foram realizadas por espectrômetro de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES, Optima 8300, PerkinElmer). Para isso, as amostras foram previamente submetidas à digestão via úmida com ácido nítrico (65% v.v<sup>-1</sup>) e peróxido de hidrogênio (30% v.v<sup>-1</sup>) sob aquecimento até total oxidação da matriz orgânica do alimento, sendo observada quando a solução se apresentava límpida e cristalina (AOAC, 2000). Em seguida foram levadas a volume final de 50 mL para posterior leitura dos teores de potássio, sódio, cálcio, fósforo, ferro, magnésio, manganês, enxofre, zinco, boro e cobre.

#### **2.5. Determinação da concentração de fenólicos totais**

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965), utilizando o reativo de *Folin-Ciocalteu*. A absorbância das amostras foi medida a 760 nm por um espectrofotômetro Shimadzu (UV-VIS 1601 PC, Tokyo, Japão).

O ácido gálico foi utilizado como padrão e os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por mL de amostra (mg AGE·mL<sup>-1</sup>).

#### **2.6. Determinação da concentração de flavonoides totais**

A concentração de flavonoides totais foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Arvouet-Grand et al. (1994), utilizando a reação com cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>). As leituras espectrofotométricas (Shimadzu UV-VIS 1601 PC, Quioto, Japão) foram realizadas a 425 nm. A análise foi feita em triplicata e a rutina, flavonoide em maior concentração presente no chá-mate, foi utilizada como padrão. Os resultados foram expressos como equivalentes de rutina (ER) por mL de amostra (mg ER·mL<sup>-1</sup>).

#### **2.7. Análise de compostos fenólicos e metilxantinas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)**

Compostos fenólicos e metilxantinas foram determinados por CLAE (Shimadzu série LC-10AT) equipado com duas bombas para gerar gradiente, injeção manual, coluna em fase reversa (restek, C18, 5µm, 150mm x 4,6mm), detector UV-visível e sistema processador de dados.

Os chás foram filtrados em membrana de nylon com 0,22 µm de porosidade (Milipore, São Paulo, Brasil) e 20 µL de amostra foram injetados no aparelho. A fase móvel foi composta por 2,5% de ácido acético (solvente A) e acetonitrila (solvente B). As etapas de gradiente aplicadas foram: 3-9 % B (0-5 min), 9-16 % B (5-15 min) e 16-36,4 % B (15-33 min). O fluxo utilizado foi de 1 mL·min<sup>-1</sup> e a corrida foi monitorada a 275 nm (ácido gálico, ácido p-cumárico, cafeína e teobromina,) e 329 nm (ácido cafeico e ácido clorogênico) (ZIELINSKI et al., 2014).

Para determinação de flavonoides (kaempferol, naringenina, quercetina e rutina), foi utilizada como fase móvel metanol:água (35:65, v/v) com 0,5% ácido acético, modo isocrático, em um fluxo de 1 mL·min<sup>-1</sup> e detecção a 370 nm (BERTÉ et al., 2011).

A identificação dos compostos foi realizada por meio da comparação dos tempos de retenção dos picos de interesse das amostras com padrões comerciais, bem como por comparação dos cromatogramas da amostra com e sem o padrão. Para quantificação dos compostos identificados nas amostras, foram construídas curvas de calibração com cinco pontos, utilizando os padrões de compostos fenólicos, flavonoides e metilxantinas em condições cromatográficas idênticas.

## **2.8. Determinação da capacidade antioxidante**

### **2.8.1. Capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)**

A determinação da captura do radical DPPH por antioxidantes foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com pequenas alterações. Em resumo, foram misturados 0,1 mL da amostra diluída com 2,9 mL da solução metanólica de DPPH 0,06 mM. Após 30 min de repouso em ambiente escuro, foi realizada a leitura da absorbância a 517 nm (UV-1601 PC Shimadzu, Tokyo, Japão). O metanol foi utilizado como branco (GORJANOVIC et al., 2012; BASSANI; NUNES; GRANATO, 2014; HUANG et al., 2014).

A porcentagem de sequestro de radicais livres (%SRL) foi calculada correlacionando o decaimento da absorbância das amostras com o decaimento da absorbância do controle (solução de DPPH), de acordo com a fórmula (BASSANI; NUNES; GRANATO, 2014):

$$\% \text{ SRL} = [1 - (\text{Abs amostra}/\text{Abs controle})] \times 100$$

### **2.8.2. Teste de estabilização do radical ABTS (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado)**

A determinação do radical catiônico ABTS foi realizada segundo a metodologia descrita por Re et al. (1999), com algumas modificações. Resumidamente, o radical ABTS<sup>•+</sup> foi preparado a partir da reação entre ABTS (7 mmol.L<sup>-1</sup>) e persulfato de potássio (2,45 mmol.L<sup>-1</sup>) (1:1), armazenado na ausência de luz por 16 horas a temperatura ambiente. No momento da análise, o radical ABTS<sup>•+</sup> foi diluído com etanol (80%) até a solução atingir absorvância de 0,70 ( $\pm$  0,02) a 734 nm.

A solução de ABTS<sup>•+</sup> foi adicionada à amostra, diluída em 5 concentrações crescentes, ou às soluções padrões de Trolox, para a construção da curva analítica. A reação ocorreu em ausência de luz, por 6 min.

Os resultados foram calculados utilizando as curvas analíticas das amostras e do Trolox, sendo expresso em capacidade antioxidante equivalente de Trolox ( $\mu$ mol TEAC.g<sup>-1</sup>).

### **2.9. Análises estatísticas**

Todas as análises foram conduzidas em três repetições e os dados expressos como médias  $\pm$  desvios padrões (DP). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), ao nível de 5% de significância, seguido pelo teste de Tukey para comparação das médias. As análises estatísticas foram conduzidas no *software* SAS (SAS Institute Inc., 2008) versão 9.1.

## **3. Resultados e discussão**

No chá solúvel foi observado menor pH, maior acidez e sólidos solúveis totais quando comparado aos chás sachê e ao a granel (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais e parâmetros colorimétricos ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  e  $h^*$ ) para os três tipos de chá-mate.

<b>Características</b>	<b>Solúvel</b>	<b>Sachê</b>	<b>Granel</b>
pH	$5,52 \pm 0,03^b$	$6,91 \pm 0,09^a$	$6,92 \pm 0,37^a$
Acidez**	$2,75 \pm 0,03^a$	$0,82 \pm 0,07^b$	$0,85 \pm 0,13^b$
Sólidos solúveis totais ( $\text{mg mL}^{-1}$ )	$5,00 \pm 0,05^a$	$2,42 \pm 0,09^b$	$2,34 \pm 0,28^b$
$L^*$ - Luminosidade	$36,26 \pm 0,01^c$	$47,75 \pm 0,02^b$	$49,11 \pm 0,01^a$
$a^*$ - Vermelho vs verde	$15,95 \pm 0,09^a$	$11,02 \pm 0,17^c$	$11,82 \pm 0,37^b$
$b^*$ - Amarelo vs azul	$17,96 \pm 0,24^c$	$32,79 \pm 0,09^b$	$34,89 \pm 0,62^a$
$C^*$ - Saturação da cor	$24,02 \pm 0,02^c$	$34,59 \pm 0,01^b$	$36,84 \pm 0,01^a$
$h^*$ - Ângulo de tonalidade	$0,84 \pm 0,01^b$	$1,25 \pm 0,02^a$	$1,24 \pm 0,02^a$

Média  $\pm$  Desvio padrão ( $n = 3$ ). Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*\* g de ácido cítrico  $\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ .

Os valores colorimétricos das amostras dos chás foram todos positivos, indicando que se encontram no primeiro quadrante do plano colorimétrico. Os chás apresentaram diferença entre todos os parâmetros colorimétricos, apenas para o ângulo de tonalidade ( $h^*$ ) que os chás sachê e granel não apresentaram diferença. A luminosidade ( $L^*$ ) e o  $h^*$  foram baixos, indicando que os chás têm tonalidade escura. A saturação ( $C^*$ ) das amostras também foram baixas, evidenciando que a cor dos chás é pouco saturada, não sendo possível distinguir uma cor primária em nenhuma das amostras e sim uma mistura de cores, tendendo a coloração do cinza ao marrom (Tabela 1).

A diferença global de cor ( $\Delta E^*$ ) foi maior entre o chá-mate solúvel e o a granel ( $21,65 \pm 0,99$ ), seguido por solúvel e sachê ( $19,39 \pm 0,19$ ) e a granel e sachê ( $2,7 \pm 0,75$ ). Esses resultados apontam que a diferença de cor entre os chás a granel e sachê foi pouco perceptível ao olho humano, enquanto que às diferenças entre o solúvel e os outros chás foram facilmente detectáveis. Uma diferença global de cor acima de 5,0 é considerada perceptível ao olho humano, assim observa-se, que apenas o chá granel e sachê apresentaram um valor abaixo desse parâmetro, indicando que tal diferença entre eles não é perceptível pelos consumidores (RAMOS; GOMIDE, 2017).

O rendimento de extração do chá solúvel foi de 100%, o que já era esperado, uma vez que para obtenção desse tipo de chá, a erva-mate passa por um processo de

extração dos compostos solúveis na indústria e somente os compostos extraídos nesse processo são comercializados como chá-mate solúvel.

O chá sachê e o a granel apresentaram rendimento de extração de sólidos totais de 30,25% e 17,33%, respectivamente. A diferença de rendimentos entre estes chás pode ser atribuída a vários fatores como a granulometria da erva, proporção de matéria-prima e solvente (água), temperatura e tempo de extração (BOJIC et al., 2013). Apesar do menor tempo de extração e proporção de matéria-prima e solvente quando comparado ao chá a granel, o chá sachê apresentou menor granulometria (Tabela 2), característica que pode explicar seu maior rendimento de extração. A maior parte (84,92%) do chá sachê apresentou partículas com tamanho inferior a 0,71 mm e foi classificado como pó moderadamente grosso, enquanto 78,84% da amostra do chá a granel apresentaram partículas inferiores a 1,7 mm, sendo classificado como pó grosso, conforme os critérios da Farmacopeia Brasileira (2010) para classificação de produtos em pó. A menor granulometria da erva aumenta a superfície de contato da partícula e, como consequência, há maior interação com a água no momento da preparação do chá para consumo e maior extração de compostos (BERTÉ et al., 2011).

Tabela 2. Granulometria dos três tipos de chá-mate

Abertura da malha (mm)	Porcentagem (%)		
	Solúvel	Sachê	Granel
2	-	-	21,16
1,41	-	0,16	28,48
0,84	-	14,92	37,68
0,59	-	38,56	9,90
0,297	28,95	43,32	2,57
0,149	38,07	2,90	0,09
Coletor	32,98	0,14	0,12

mm = milímetros

Em geral, a concentração de minerais foi maior no chá-mate solúvel comparado aos chás sachê e a granel (Tabela 3). Já o chá sachê e a granel apresentaram composição mineral semelhante. Embora o tempo de contato com a água quente durante o preparo do chá a granel (10 min) tenha sido maior comparado ao sachê (5 min), estudos mostram que é nos primeiros 5 min de preparação do chá que ocorre a maior extração de minerais, o que pode justificar o resultado observado (SZYMCZYCHA-MADEJA; WELNA; POHL, 2012; MILANI et al., 2015).

Tabela 3. Concentrações médias de minerais para os três tipos de chá-mate

Elementos ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	Solúvel	Sachê	Granel
Potássio	798,61 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	467,09 $\pm$ 0,21 <sup>c</sup>	608,07 $\pm$ 0,61 <sup>b</sup>
Magnésio	241,94 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	139,22 $\pm$ 0,54 <sup>b</sup>	129,97 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>
Fósforo	132,44 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup>	64,93 $\pm$ 0,75 <sup>b</sup>	70,17 $\pm$ 0,69 <sup>b</sup>
Sódio	52,44 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	14,79 $\pm$ 1,02 <sup>b</sup>	19,94 $\pm$ 1,72 <sup>b</sup>
Cálcio	38,50 $\pm$ 0,52 <sup>a</sup>	44,18 $\pm$ 0,95 <sup>a</sup>	37,06 $\pm$ 1,04 <sup>a</sup>
Cobre	-	0,04 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,04 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
Enxofre	32,66 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	6,75 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	7,89 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>
Manganês	5,88 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	1,88 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	0,75 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>
Ferro	2,70 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	3,85 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>	0,59 $\pm$ 0,35 <sup>c</sup>
Boro	0,73 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,17 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>	0,37 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>
Zinco	0,94 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	0,60 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,61 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>

Média  $\pm$  Desvio padrão (n = 3). Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração de minerais no vegetal depende de como a planta foi cultivada, o tipo de solo, água e fertilizantes utilizados; do processo de industrialização e condições de estocagem (GIULIAN et al., 2007). O pH do solo exerce grande influência no acúmulo dos elementos químicos na planta, o qual é maior em solos ácidos comparado a solos neutro e alcalino (MILANI et al., 2015).

Os elementos presentes em maiores concentrações nos três tipos de chá-mate foram potássio, magnésio e fósforo (Tabela 3). Heinrichs e Malavolta (2001), avaliando a composição mineral na infusão de erva-mate tipo chimarrão, também observaram que esses minerais eram o que estavam em maiores concentrações na bebida analisada, apresentando média de 683, 188 e 41  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de potássio, magnésio e fósforo, respectivamente.

A Tabela 4 apresenta a quantidade de minerais presente em uma porção (200 mL) de chá-mate e o percentual de adequação em relação à recomendação de ingestão diária de nutrientes (DRIs - *Dietary Reference Intakes*), para homens e mulheres adultos com idade entre 19 e 50 anos (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997, 2001, 2004). Analisando os percentuais de adequação em relação às recomendações, o chá solúvel pode ser considerado uma excelente fonte de manganês e boa fonte de magnésio para ambos os sexos, e fonte de ferro para homens. Por sua vez, o chá sachê é uma boa fonte de manganês e fonte de magnésio para homens e mulheres adultos, e fonte de ferro para homens. Já o chá a granel é fonte de manganês e magnésio (PHILIPPI, 2014).

Tabela 4. Composição de minerais presente em uma xícara (200 mL) de chá-mate e percentual de adequação em relação às DRIs\*

Minerais	DRIs*		% Adequação solúvel		% Adequação sachê		% Adequação granel	
	H	M	H	M	H	M	H	M
Potássio	4,7 g	4,7 g	3,40	3,40	1,99	1,99	2,59	2,59
Fósforo	700 mg	700 mg	3,78	3,78	1,85	1,85	2,00	2,00
Sódio	1,5 g	1,5 g	0,70	0,70	0,20	0,20	0,26	0,26
Cálcio	1 g	1 g	0,008	0,008	0,009	0,009	0,007	0,007
Cobre	900 µg	900 µg	-	-	0,89	0,89	0,89	0,89
Manganês	2,3 mg	1,8 mg	51,13	65,33	16,35	20,89	6,52	8,33
Ferro	8 mg	18 mg	6,75	3	9,62	4,28	1,47	0,65
Zinco	11 mg	8 mg	1,71	2,35	1,10	1,5	1,11	1,52
Magnésio								
19 – 30 anos	400 mg	310 mg	12,10	15,61	6,96	8,98	6,50	8,38
31 – 50 anos	420 mg	320 mg	11,52	15,12	6,63	8,70	6,19	8,12

Fontes: Institute of Medicine (1997, 2001, 2004). H = Homens, M = Mulheres

\**Dietary Reference Intakes* (DRIs) para homens e mulheres adultos (19 a 50 anos)

Portanto, o consumo regular de chá-mate pode contribuir para atingir a recomendação diária desses minerais, a qual é de suma importância para o metabolismo e desenvolvimento humano. Tais minerais são essenciais para o transporte de oxigênio, proteção ao sistema imunológico, saúde óssea, formação de cartilagem, combate aos radicais livres, atividade enzimática e diversas reações metabólicas no organismo (GIULIAN et al., 2007).

É importante ressaltar que a concentração de minerais observada nos chás, preparados seguindo a recomendação do fabricante, está dentro dos limites seguros para o consumo humano, ou seja, o consumo de uma xícara de chá-mate (200 mL), independentemente do tipo, não ultrapassam o limite máximo tolerável de ingestão (UL - *Tolerable Upper Intake Level*) dos minerais analisados, sendo improvável de causar efeitos adversos ao organismo (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997, 2001, 2004). Entretanto, os consumidores de chá-mate ingerem, habitualmente, de um a dois litros diariamente (BURRIS et al., 2012). O consumo superior a 1,8 L de chá-mate solúvel por dia torna-se perigoso, pois acima desse valor, a quantidade de manganês consumida será maior que a UL para indivíduo adulto, podendo causar toxicidade manifestada por sintomas como cefaleias, tontura, irritabilidade, insônia, apatia e disfunção hepática (DIAS et al., 2018).

Em relação aos outros chás, teriam que ser consumidos quantidades não usuais, superior a 5,8 L de chá sachê e 14,6 L de chá a granel, para alcançar a UL, o que torna esses chás mais seguros de serem consumidos em grandes quantidades quando comparados ao chá solúvel.

Os compostos fenólicos são uma classe de moléculas com alto poder antioxidante, encontrados nos vegetais (JUNGMIN et al., 2013). O consumo dessas substâncias tem sido associado à redução do risco de doenças degenerativas, por apresentarem função antioxidante, anti-inflamatória, atividades cardioprotetoras e anticancerígenas (GEROLIS et al., 2017). O conteúdo médio de fenólicos totais foi maior no chá solúvel, seguido pelo sachê e a granel (Tabela 5). O conteúdo de fenólicos no chá solúvel foi, aproximadamente, 1,8 e 2 vezes maior que nos chás sachê e a granel, respectivamente. Não foram identificados ácido gálico, p-cumárico, kaempferol, naringenina e quercetina, em nenhuma das amostras de chá-mate analisadas.

A concentração de ácidos clorogênicos no chá solúvel foi, aproximadamente, 1,7 e 2 vezes maior que nos chás sachê e a granel, respectivamente (Tabela 5). Esses

compostos pertencem à família dos ácidos fenólicos e são formados pela combinação do ácido quínico com um ácido hidrocínâmico (caféico, ferúlico, p-cumárico ou sinápico) (OLIVEIRA; BASTOS, 2011). Os ácidos cafeoilquínicos são os que estão em maior quantidade no chá, principalmente o ácido 5-cafeoilquínico, os quais são gerados pela combinação do ácido quínico com o caféico. Outros isômeros de ácidos clorogênicos também estão presentes na erva-mate tostada, como os ácidos: 4-cafeoilquínico, 3-cafeoilquínico, 3,5 dicafeoilquínico, 4,5 dicafeoilquínico, 3,4 dicafeoilquínico, feruloilquínico e p-cumaroilquínico (SILVEIRA et al., 2016; MATEOS et al., 2018).

Tabela 5. Conteúdo de compostos fenólicos, flavonoides e metilxantinas presentes nos três formas de chá-mate.

<b>Compostos</b>	<b>Solúvel</b>	<b>Sachê</b>	<b>Granel</b>
Fenólicos totais (mg EAG mL <sup>-1</sup> )	2,81 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,54 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,39 ± 0,04 <sup>c</sup>
Flavonoides totais (µg ER mL <sup>-1</sup> )	112,64 ± 0,20 <sup>a</sup>	77,5 ± 5,70 <sup>b</sup>	73,33 ± 1,18 <sup>b</sup>
Ácido cafeico (µg mL <sup>-1</sup> )	2,49 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,29 ± 0,07 <sup>b</sup>	1,19 ± 0,03 <sup>b</sup>
Ácidos clorogênicos (µg mL <sup>-1</sup> )	138,48 ± 0,13 <sup>a</sup>	82,86 ± 8,25 <sup>b</sup>	68,54 ± 1,29 <sup>c</sup>
Cafeína (µg mL <sup>-1</sup> )	82,60 ± 0,85 <sup>a</sup>	70,59 ± 6,78 <sup>b</sup>	64,47 ± 3,29 <sup>b</sup>
Rutina (µg mL <sup>-1</sup> )	4,77 ± 0,11 <sup>b</sup>	9,71 ± 0,57 <sup>a</sup>	8,19 ± 0,22 <sup>a</sup>
Teobromina ((µg mL <sup>-1</sup> )	14,05 ± 0,45 <sup>a</sup>	12,28 ± 0,08 <sup>b</sup>	11,56 ± 0,11 <sup>b</sup>

EAG = Equivalente de ácido gálico, ER = Equivalente de rutina. Média ± Desvio padrão (n = 3). Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Dentre os compostos de maior interesse na composição química da erva-mate destaca-se a cafeína (1,3,7-trimetilxantina), um alcaloide purínico que pertence à classe das metilxantinas. A cafeína enobrece o produto por suas características farmacológicas e terapêuticas, principalmente em relação às propriedades estimulantes do sistema nervoso simpático (PÉREZ-LÓPEZ et al., 2015). A concentração média de cafeína no chá-mate solúvel foi, aproximadamente, 1,2 e 1,3 vezes maior que nos chás sachê e a granel, respectivamente (Tabela 5).

Os flavonoides constituem uma classe especial de compostos fenólicos com uma estrutura contendo 15 carbonos (C6-C3-C6) e múltiplos grupos hidroxila (Del

Rio *et al.*, 2013). A concentração de flavonoides totais foi maior no chá-mate solúvel em comparação aos chás sachê e a granel. O único flavonoide identificado nas amostras de chá-mate foi a rutina (Tabela 5). Esse resultado corrobora o estudo de Bojic *et al.* (2013), no qual também não foi identificada a presença de quercetina e kaempferol na solução aquosa de erva-mate, apenas rutina. No entanto, após a hidrólise ácida, foram identificados os três flavonoides na erva-mate (BOJIC *et al.*, 2013).

O chá solúvel mostrou maior poder redutor quando comparado aos chás sachê e a granel, pelos métodos DPPH e ABTS. Já o chá sachê apresentou maior capacidade antioxidante que o chá a granel, por ambos os métodos (Tabela 6). A avaliação da capacidade de sequestro de radicais é muito importante, pois a presença de radicais livres no organismo gera uma série de efeitos deletérios (JUNGMIN *et al.*, 2013). A alta capacidade antioxidante observada nas amostras de chá-mate pode ser atribuída, principalmente, pela presença marcante de ácidos clorogênicos (PANZA *et al.*, 2016).

Tabela 6. Valores médios da capacidade antioxidante dos três tipos de chá-mate pelos métodos DPPH e ABTS

<b>Tipo de chá</b>	<b>DPPH (% SRL)</b>	<b>ABTS (<math>\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}</math>)</b>
Solúvel	80,36 $\pm$ 2,05 <sup>a</sup>	854,70 $\pm$ 6,27 <sup>a</sup>
Sachê	44,37 $\pm$ 0,55 <sup>b</sup>	287,99 $\pm$ 4,79 <sup>b</sup>
Granel	33,26 $\pm$ 1,23 <sup>c</sup>	171,83 $\pm$ 3,89 <sup>c</sup>

DPPH = 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, ABTS = 2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado, % SRL = Porcentagem de Sequestro de Radicais Livres. Média  $\pm$  Desvio padrão (n = 3). Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Outro composto que pode ter contribuído para a capacidade antioxidante apresentada pelos chás foi a cafeína. Conforme demonstrado no estudo de Zielinski *et al.* (2014), há correlação positiva entre o conteúdo de cafeína e capacidade antioxidante avaliada por DPPH. Paula *et al.* (2015), comparando a capacidade antioxidante da bebida de café solúvel cafeinado e descafeinado pelo método DPPH, observaram maior capacidade sequestrante de radicais livres no café cafeinado, sem diferenças no conteúdo de fenólicos totais entre as duas amostras, demonstrando que a cafeína

contribuiu para o poder redutor da bebida. A capacidade antioxidante da cafeína é exercida pelo mecanismo de captação de radicais hidroxila e oxigênio singlete (TSOI et al., 2015). Estudos mostram que o consumo de cafeína reduz a oxidação e os danos no DNA, inibe a peroxidação lipídica e estimula a síntese de glutathione (GOKCEN; SANLIER, 2017; JUNG et al., 2017; METRO et al., 2017).

Os resultados do estudo demonstraram que a forma de preparo do chá-mate solúvel apresentou maior conteúdo de minerais, compostos fenólicos, flavonoides totais, cafeína, teobromina e capacidade antioxidante quando comparada às outras formas de preparo: sachê e granel. Por sua vez, o chá-mate sachê apresentou maior conteúdo de fenólicos totais, ácidos clorogênicos e poder redutor que o chá a granel.

É importante ressaltar que os chás foram preparados seguindo as proporções de massa de chá e água indicadas pelo fabricante nos rótulos dos produtos. Seguindo essa recomendação, o chá que apresentava menor conteúdo de massa era o chá solúvel (1 g), seguido pelo sachê (1,6 g) e, por último, o a granel (2,7 g), para o mesmo volume de água (200 mL). Portanto, o produto que exibia menor relação massa de soluto/água (chá solúvel) foi o que apresentou maior concentração de compostos bioativos e maior capacidade antioxidante. Esse resultado pode ser justificado pelo método de fabricação do chá-mate solúvel, o qual proporciona a concentração dos constituintes deste tipo de chá. Para a produção do chá-mate solúvel, além das etapas de processamento em comum aos outros chás, o chá-mate tostado é submetido à extração, por água quente e vapor sob pressão, em colunas extratoras, onde são retirados os sólidos solúveis. Posteriormente, o líquido extraído é seco por atomização. Esse processo adicional para produção do chá-mate solúvel permite a extração prévia de compostos solúveis em água, bem como a concentração desses compostos, durante a etapa de secagem, no produto final (chá-mate solúvel). De fato, Berté et al. (2011) ao compararem a erva-mate verde solúvel com a beneficiada para chimarrão, observaram maior conteúdo de cafeína, teobromina, rutina, ácido cafêico, ácido 5-cafeoiquinico e compostos fenólicos totais na erva-mate solúvel que em sua matéria-prima.

Ao comparar o chá-mate sachê e o a granel, foi possível observar que, apesar da menor relação de massa de soluto/água e tempo de infusão do chá-mate sachê, suas concentrações de compostos fenólicos e ácidos clorogênicos foram maiores que o chá a granel. De acordo com a lista de ingredientes descrita nos rótulos desses produtos, o chá-mate sachê era composto por folhas de erva-mate, enquanto que o chá a granel continha folhas e talos de mate. Tal diferença na composição desses chás justifica os

resultados observados e sugere que há maior quantidade de compostos nas folhas que nos talos da erva-mate, incluindo compostos fenólicos, resultando também em maior capacidade antioxidante observada no chá-mate sachê. Conforme demonstrado por Valerga et al. (2012), há relação direta entre conteúdo de fenólicos totais e a capacidade antioxidante. Além disso, de acordo com Vieira et al. (2009), os compostos fenólicos presentes nas folhas apresentam melhor solubilidade em água que os contidos nos talos da *Ilex paraguariensis*. De fato, houve maior rendimento de extração no chá sachê comparado ao chá a granel, com menor tempo de extração.

#### **4. Conclusão**

Os resultados demonstraram que o chá-mate solúvel apresentou maior conteúdo de minerais, compostos fenólicos, flavonoides totais, metilxantinas e capacidade antioxidante quando comparado às outras formas usuais de preparo pelo consumidor.

Portanto, o presente estudo relatou novos dados não publicados sobre a composição química do chá-mate, demonstrando que o método de preparo, recomendado pelo fabricante e utilizado pelos consumidores para preparar essas bebidas apresentam diferenças no teor de compostos fenólicos, cafeína e na capacidade antioxidante.

#### **5. Referências Bibliográficas**

ALKHATIB, A. Yerba Maté (*Illex Paraguariensis*) ingestion augments fat oxidation and energy expenditure during exercise at various submaximal intensities. **Nutrition & Metabolism**, v. 11, n. 42, p. 1–7, 2014.

ARVOUET-GRAND, A.; VENNAT, B.; POURRAT, A.; LEGRET, P. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. **Journal of Pharmacie de Belgique**, v. 49, p. 462–468, 1994.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of aoac international**. 17. ed. Washington (DC): Association of official analytical chemists, 2000.

BASSANI, D. C.; NUNES, D. S.; GRANATO, D. Optimization of Phenolics and Flavonoids Extraction Conditions and Antioxidant Activity of Roasted Yerba-Mate Leaves (*Ilex paraguariensis* A . St . -Hil ., Aquifoliaceae ) using Response Surface Methodology. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 86, n. 2, p. 923–

933, 2014.

BERTÉ, K. A. S.; BEUX, M. R.; SPADA, P. K. W. D. S.; SALVADOR, M.; HOFFMANN-RIBANI, R. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Yerba-Mate (*Ilex paraguariensis* A. St. -Hil., Aquifoliaceae) Extract as Obtained by Spray Drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 10, p. 5523–5527, 2011.

BOJIC, M.; HAAS, V. S.; ŠARIC, D.; MALES, Z. Determination of Flavonoids, Phenolic Acids, and Xanthines in Mate Tea (*Ilex paraguariensis* St. -Hil.). **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2013, p. 1–6, 2013.

BRACESCO, N.; SANCHEZ, A. G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis*: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 378–384, 2011.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free-radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.

BRASIL. **Farmacopeia brasileira**. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. v. 1

BURRIS, K.; HARTE, F.; DAVIDSON, P.; STEWART, C. J.; ZIVANOVIC, S. Composition and bioactive properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): a review. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 2, p. 268–274, 2012.

DELRIO, D.; RODRIGUEZ-MATEOS, A.; SPENCER, J.; TOGNOLINI, M.; BORGES, G.; CROZIER, A. Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 14, p. 1818–1892, 2013.

DIAS, C. A.; SILVIO, A.; GABRIELE, T.; SILVA, M.; FDB, P.; UNIVERSITÉ, P.; JULES, D. P.; DOUTOR, V.; PICARDIE, U. De; UFVJM, V. Impactos do rompimento da barragem de Mariana na qualidade da água do rio Doce. **Revista Espinhaço**, v. 7, n. 1, p. 21–35, 2018.

ESMELINDRO, M. C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. de. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 193–204, 2002.

FAGUNDES, A.; DANGUY, L. B.; SCHMITT, V.; MAZUR, C. E. *Ilex Paraguariensis*: compostos bioativos e propriedades nutricionais na saúde. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 9, n. 53, p. 213–222, 2015.

GEROLIS, L. G. L.; LAMEIRAS, F. S.; KRAMBROCK, K.; NEVES, M. J. Effect of gamma radiation on antioxidant capacity of green tea, yerba mate, and chamomile tea as evaluated by different methods. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 130, p. 177–185, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.08.017>>.

GIULIAN, R.; SANTOS, C. E. I. DOS; SHUBEITA, S. D. M.; SILVA, L. M. DA; DIAS, J. F.; YONEAMA, M. L. Æ. C. Elemental characterization of commercial mate tea leaves ( *Ilex paraguariensis* A . St . -Hil .) before and after hot water infusion using ion beam techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 741–746, 2007.

GOKCEN, B. B.; SANLIER, N. Coffee consumption and disease correlations. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 30, p. 1–13, 2017.

GORJANOVIC, S.; KOMES, D.; PASTOR, F. T.; BELSCAK-CVITANOVIC, A.; PEZO, L.; HECIMOVIC, I.; SUZNJEVIC, D. Antioxidant Capacity of Teas and Herbal Infusions: Polarographic Assessment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 9573–9580, 2012.

HEINRICHS, R.; MALAVOLTA, E. Composição mineral do produto comercial da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 781–785, 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782001000500007&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782001000500007&lng=pt&tlng=pt)>.

HUANG, W.; LEE, P.; HSU, J.; LIN, Y.; CHEN, H.; LIN, Y. Effects of Water Quality on Dissolution of Yerba Mate Extract Powders. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin d, and fluoride**. Washington (DC): National Academy Press, 1997.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin a, vitamin k, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc**. Washington (DC): National Academy Press, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, sulfate**. Washington (DC): National Academy Press, 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos para análise de alimentos - Normas do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, 2008. .

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: avaliação nutricional da disponibilidade**

**domiciliar de alimentos no Brasil.** Rio de Janeiro, 2010. .

JUNG, S.; KIM, M. H.; PARK, J. H.; JEONG, Y.; KO, K. S. Cellular antioxidant and anti-inflammatory effects of coffee extracts with different roasting levels. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, n. 6, p. 626–635, 2017. Disponível em: <<http://online.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2017.3935>>.

JUNGMIN, O.; HEONJOO, J.; REUM AH, C.; SUNG-JIN, K.; JAEJOON, H. Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. **Food Control**, v. 31, n. 2, p. 403–409, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.10.021>>.

MATEOS, R.; BAEZA, G.; SARRIÁ, B.; BRAVO, L. Improved LC-MS characterization of hydroxycinnamic acid derivatives and flavonols in different commercial mate (*Ilex paraguariensis*) brands. Quantification of polyphenols, methylxanthines, and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 241, p. 232–241, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.085>>.

METRO, D.; CERNARO, V.; SANTORO, D.; PAPA, M.; BUEMI, M.; BENVENGA, S.; MANASSERI, L. Endocrinology Beneficial effects of oral pure caffeine on oxidative stress. **Journal of Clinical & Translational Endocrinology**, v. 10, p. 22–27, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jcte.2017.10.001>>.

MILANI, R.; MORGANO, M.; SARON, E.; SILVA, F.; CADORE, S. Evaluation of direct analysis for trace elements in tea and herbal beverages by ICP-MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 6, p. 1211–1217, 2015.

OLIVEIRA, D. M. de; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, v. 34, n. 6, p. 1051–1056, 2011.

PANZA, V. P.; DIEFENTHAELER, F.; TAMBORINDEGUY, A. C.; CAMARGO, C. de Q.; DE MOURA, B. M.; BRUNETTA, H. S.; SAKUGAWA, R. L.; DE OLIVEIRA, M. V.; PUEL, E. de O.; NUNES, E. A.; DA SILVA, E. L. Effects of mate tea consumption on muscle strength and oxidative stress markers after eccentric exercise. **British Journal of Nutrition**, v. 115, n. 08, p. 1370–1378, 2016. Disponível em: <[http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S000711451600043X](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S000711451600043X)>.

PAULA, R. A. O.; SALLES, B. C. C.; PAULA, F. B. A.; RODRIGUES, M. R.; DUARTE, S. M. da S. Avaliação do efeito antioxidante da bebida de café solúvel cafeinado e descafeinado In vitro e In vivo. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 36, n. 3, p. 399–406, 2015.

PÉREZ-LÓPEZ, A.; SALINERO, J.; ABIAN-VICEN, J.; VALADÉS, D.; LARA, B.;

HERNANDEZ, C.; ARECES, F.; GONZÁLEZ, C.; DEL COSO, J. Caffeinated Energy Drinks Improve Volleyball Performance in Elite Female Players. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 47, n. 4, p. 850–856, 2015.

PHILIPPI, S. T. **Pirâmide dos alimentos: fundamentos básicos da nutrição**. 2° ed. Barueri: Manole, 2014.

PIMENTEL, G.; LIRA, F.; ROSA, J.; CARIS, A.; PINHEIRO, F.; RIBEIRO, E.; OYAMA, L.; OLLER DO NASCIMENTO, C. Yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 24, n. 5, p. 809–818, 2013.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologia**. Viçosa: UFV, 2017.

RE, R.; PELLEGRINI N, PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

SCHANDA, J. **Colorimetry: understand the cie system**. Hoboken: Wiley, 2007.

SILVA, C. M. G. da; BRAGA, M. A.; SOBRAL, V. R. V.; MARTINEZ, C. A. R.; CARVALHO, P. de O. Avaliação da atividade antioxidante in vitro dos chás mate e verde antes e após a biotransformação por lipases\*. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 23, n. 4, p. 661–669, 2012.

SILVEIRA, T. F. F. da; MEINHART, A. D.; DE SOUZA, T. C. L.; CUNHA, E. C. E.; MORAES, M. R. de; FILHO, J. T.; GODOY, H. T. Optimization of the Preparation Conditions of Yerba Mate tea Beverage to Maximize Chlorogenic Acids Extraction. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 72, n. 2, p. 219–223, 2017.

SILVEIRA, T. F. F. da; MEINHART, A. D.; SOUZA, T. C. L. de; TEIXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. T. Phenolic compounds from yerba mate based beverages - A multivariate optimisation. **Food Chemistry**, v. 1, n. 190, p. 1159–1167, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.031>>.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.

SINGULANI, M. P.; SANTOS, L. F.; CHAVES NETO, H. A.; MELLO, W. G. De; MORAIS, S. R. L.; DORNELLES, R. de C. M.; NAKAMUNE, A. C. de M. S. Chá mate melhora resistência à natação e reduz o dano oxidativo induzido pelo exercício

em ratos submetidos à única sessão de natação. **Archives of Health Investigation**, v. 3, n. 1, p. 68–76, 2014.

SOUZA, M. F. F. **Chá mate ( *ilex paraguariensis* ): compostos bioativos e relação com atividade biológica**. 2009. Universidade de São Paulo, 2009.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; WELNA, M.; POHL, P. No Title. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p. 165–181, 2012.

TSOI, B.; YI, R. N.; CAO, L. F.; LI, S. B.; TAN, R. R.; CHEN, M.; LI, X. X.; WANG, C.; LI, Y. F.; KURIHARA, H.; HE, R. R. Comparing antioxidant capacity of purine alkaloids: A new, efficient trio for screening and discovering potential antioxidants in vitro and in vivo. **Food Chemistry**, v. 1, n. 176, p. 411–419, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.087>>.

TURNER, S.; COGOI, L.; ISOLABELLA, S.; FILIP, R.; ANESINI, C. Evaluation of the antioxidant activity and polyphenols content of *ilex paraguariensis* ( Mate ) during industrialization. **Advanced Journal of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 23–30, 2011.

VALERGA, J.; RETA, M.; LANARI, M. C. Polyphenol input to the antioxidant activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extracts. **LWT-Food Science and Technology**, v. 45, n. 1, p. 28–35, 2012.

VIEIRA, M.; MARASCHIN, M.; PAGLIOSA, C.; PODESTÁ, R.; AMBONI, R. Análise de compostos fenólicos, metilxantinas, tanino e atividade antioxidante de resíduo do processamento da erva-mate: uma nova fonte potencial de antioxidantes. **International Workshop Advances in Cleaner Production**, p. 11, 2009.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M.; GRANATO, D. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v. 60, p. 246–254, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.010>>.

## CAPÍTULO 2

### EFEITOS METABÓLICOS DA INGESTÃO DE CHÁ-MATE (*Ilex paraguariensis*) ANTES DO EXERCÍCIO AERÓBICO

#### Resumo

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é rica em compostos bioativos, por isso tem crescido o interesse científico pela planta e há indicações de vários efeitos benéficos à saúde, incluindo efeitos metabólicos associados ao exercício. No entanto, o efeito da ingestão da erva-mate nas suas formas habituais de consumo, como o chá-mate, sobre o metabolismo durante o exercício é desconhecido. Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito da ingestão aguda de chá-mate sobre o metabolismo energético em homens expostos ao exercício contínuo em cicloergômetro. Treze homens saudáveis e ativos participaram, de maneira randomizada, de duas etapas experimentais: ingestão de café da manhã e chá-mate (CMC), e café da manhã (CM). Os participantes consumiam a refeição matinal e permaneciam em repouso por 60 min antes de iniciarem um exercício em cicloergômetro a 65% do volume máximo de oxigênio ( $VO_{2max}$ ) com duração de 60 min. Foram coletados os seguintes parâmetros durante os tratamentos: bioquímicos (glicemia, ácidos graxos livres (AGL), insulina e lactato), frequência cardíaca (FC), sintomas gastrointestinais e sistêmicos, amostras de gases para cálculo da oxidação do substrato e obtenção do quociente respiratório (QR). A área formada abaixo da curva (AAC) insulinêmica foi maior no tratamento CM que a obtida no tratamento CMC. Observou-se que o QR e a oxidação de carboidratos no tratamento CM foram maiores quando comparado ao CMC. De modo contrário, a oxidação de lipídeos foi maior no tratamento CMC comparado ao CM. Não foi verificada diferença significativa ( $P > 0,05$ ), entre as etapas experimentais, sobre os sintomas gastrointestinais e sistêmicos, FC e concentração plasmática de lactato, glicemia, insulina e AGL. A ingestão de chá-mate proporcionou maior oxidação de lipídeos durante o exercício prolongado de intensidade moderada. Esse efeito metabólico sugere que o consumo habitual do chá-mate associado ao exercício contínuo pode ser uma estratégia para promoção da perda de peso e gordura corporal.

**Palavras-chave:** metabolismo, erva-mate, lipídeos, glicemia, termogênico

## **Metabolic effects of ingestion of mate tea (*Ilex paraguariensis*) before aerobic exercise**

### **Abstract**

Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) is rich in bioactive compounds and thus a growing scientific interest in the plant has been observed. Compelling evidence has demonstrated several beneficial effects of yerba mate on health, including metabolic effects associated with exercise. However, the effects of the ingestion of yerba mate on its usual forms of consumption (e.g. tea-mate) on the metabolism during exercise remains unknown. Thus, the objective of this study was to investigate the effects of an acute tea-mate ingestion on energy metabolism in men following the exposition to continuous cycle ergometer exercise. To this end, thirteen healthy and active men participated, in a randomized manner, to two experimental trials involving the ingestion of breakfast and tea mate (BFT), and only breakfast (BF). After the meal ingestion, participants rested for 60 min before performing a 60 min cycle ergometer exercise at 65% of maximal oxygen volume ( $VO_{2max}$ ). The following parameters were collected during the tests: biochemical (glycemia, free fatty acids (FFA), insulin and lactate), heart rate (HR), gastrointestinal and systemic symptoms, as well as gas samples to calculate substrate oxidation and respiratory quotient (QR). The area formed under the insulinemic curve (AUC) was higher in the BF test than in the BFT. Higher QR and carbohydrate oxidation was also observed in the BF test than in the BFT. By contrast, lipid oxidation was higher in the BFT test compared to BF. No significant differences ( $P > 0,05$ ) between the experimental tests on gastrointestinal and systemic symptoms, HR and plasma concentration of lactate, glycemia, insulin and FFA were observed. Intake of mate tea culminated with higher lipid oxidation during prolonged exercise of moderate intensity. This metabolic effect suggests that habitual consumption of tea-mate associated with continuous exercise may be a strategy to promote weight loss and body fat reduction.

**Keywords:** metabolism, yerba mate, lipids, glycemia, thermogenic.

## 1. Introdução

Diversas estratégias nutricionais pré-exercício têm sido utilizadas com intuito de aumentar a mobilização e oxidação de gordura durante o exercício (KIM; PARK; LIM, 2016). O aumento da utilização de gorduras como fonte de energia é importante para o atleta, pois ele poderá poupar os escassos estoques de glicogênio muscular para os momentos finais do exercício, podendo aumentar seu desempenho (JEUKENDRUP; RANDELL, 2011). A maior oxidação de gorduras durante o exercício também é de interesse dos indivíduos com excesso de peso (sobrepeso ou obesidade), da mesma forma que para aqueles indivíduos eutróficos, mas que apresentam alto percentual de gordura.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) tem sido apontada como uma dessas estratégias nutricionais pré-exercício (ALKHATIB, 2014; ALKHATIB; ATCHESON, 2017; ARETA et al., 2017). *Ilex paraguariensis* é uma planta derivada e amplamente consumida na América do Sul, principalmente no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai, em bebidas como o chimarrão, tereré e chá-mate (JUNIOR; MORAND, 2016). A composição química da erva-mate inclui diversos compostos bioativos, tais como: ácidos clorogênicos, xantinas (cafeína e teobromina), flavonoides (rutina, kaempferol e quercetina) e saponinas (ácido ursólico e oleanólico) (MATEOS et al., 2018). Devido a essa composição rica em compostos bioativos, têm crescido o interesse científico pela planta e há indicações de vários efeitos benéficos à saúde, incluindo efeitos metabólicos, como o aumento do gasto energético e da oxidação de gordura durante o exercício, perda de peso corporal, melhora da resistência insulínica, redução do percentual de gordura e da relação cintura-quadril (BORGES et al., 2013; BRASILINO et al., 2013; LIMA et al., 2014; RESENDE et al., 2015).

Estudos com ratos têm indicado efeito do consumo de erva-mate também na redução da resposta glicêmica pós-prandial, a qual está relacionada à diminuição da expressão gênica do transportador de glicose intestinal (Kang et al., 2012; Oliveira et al., 2008). A manutenção da homeostase glicêmica é fundamental para evitar elevações acentuadas de insulina e doenças como obesidade, diabetes e síndrome metabólica (Naveed et al., 2018).

O exercício físico com predominância aeróbica é um estímulo para alterações benéficas no organismo, como melhorias no metabolismo lipídico e glicídico, e sua associação com a erva-mate poderia potencializar sua ação, gerando assim um efeito

termogênico para determinados grupos de atletas ou para a saúde e estética dos indivíduos que pretendem emagrecer.

No entanto, estudos sobre os efeitos metabólicos da erva-mate tem sido realizados com modelo animal ou utilizando erva-mate em cápsula para ingestão antes de exercício progressivo de curta duração (MORGAN-MARTINS et al., 2013; ALKHATIB, 2014; SINGULANI et al., 2014; ARETA et al., 2017). Dessa forma, há necessidade de novos estudos para investigar o efeito da ingestão da erva-mate nas suas formas habituais de consumo, como o chá-mate, sobre o metabolismo durante o exercício, bem como avaliar seus efeitos no metabolismo humano durante exercício com maior tempo de duração, em intensidade contínua, reproduzindo outras práticas de exercício físico.

O chá-mate é uma bebida popular consumida por mais de um milhão de pessoas no mundo, seus consumidores ingerem de um a dois litros diariamente. A concentração de fenólicos presente nesse chá é semelhante à do vinho tinto e superior à do chá verde (BURRIS et al., 2012). No entanto, os estudos com chá-mate ainda são limitados quando comparados a outros tipos de chá moduladores do metabolismo, como os chás da *Camellia sinensis* (verde e preto), principalmente em associação com exercício. Em uma busca no pubmed, por exemplo, empregando os descritores “*mate tea*”, “*green tea*” combinados com “*exercise*” utilizando filtro para ensaio clínico, foram observados 3 e 82 estudos, respectivamente.

Tendo em vista que o chá-mate constitui-se uma fonte expressiva de compostos bioativos e a escassez de estudos com a bebida, torna-se necessário ampliar o conhecimento sobre o tema, pois permitirá que profissionais como nutricionistas avaliem a viabilidade de sua utilização, especialmente como estratégia de intervenção pré-exercício. Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito da ingestão aguda de chá-mate sobre o metabolismo energético em homens expostos ao exercício contínuo em cicloergômetro.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Delineamento experimental do estudo**

Trata-se de um estudo *crossover*, no qual os voluntários foram randomizados em duas etapas experimentais: ingestão de café da manhã e chá-mate (CMC), e apenas

café da manhã (CM). Tais etapas foram separadas entre si por um intervalo de no mínimo sete dias.

Todo experimento foi conduzido no Laboratório de Performance Humana (LAPEH) localizado nas dependências do Departamento de Educação Física (DES) da Universidade Federal de Viçosa (UFV, Brasil).

Os avaliados compareceram ao laboratório em quatro ocasiões diferentes, a saber: 1ª visita) Orientações sobre as sessões experimentais, preenchimento de questionários de recrutamento, avaliação antropométrica e teste para determinação do volume máximo de oxigênio ( $VO_{2max}$ ); 2ª visita) Teste de familiarização com o protocolo do estudo, no qual foi testada a adaptação ao cicloergômetro e aos instrumentos de avaliação; 3ª e 4ª visitas) Realização dos protocolos experimentais.

Os voluntários foram orientados a se absterem de atividades físicas extenuantes e do consumo de álcool, chá e café nas 24 h anteriores a cada tratamento. Além disso, para garantir que os voluntários chegassem ao laboratório euhidratados, eles foram orientados a ingerir 600 mL de água durante a última hora antes de dormir no dia anterior a cada etapa experimental (CHEUVRONT; KENEFICK, 2014). Durante o experimento, os avaliados mantiveram a dieta e o nível de atividade física constantes.

## **2.2. Participantes**

O cálculo amostral foi obtido por meio do *software G\*Power*<sup>®</sup> versão 3.1.9.2, realizado a partir de estudo piloto (dados de dois participantes), utilizando valores de oxidação de gordura, por ser componente importante na avaliação do metabolismo energético. Foi admitido um tamanho de efeito de 0,33, margem de erro  $\alpha$  de 5% e poder de 80%, estimando a necessidade de 12 voluntários.

Para realização do recrutamento de voluntários, a pesquisa foi amplamente divulgada no campus universitário da UFV por meio do site institucional, cartazes afixados, redes sociais e e-mail encaminhado aos estudantes, assim como a divulgação em eventos de ciclismo da região.

Inicialmente, os interessados foram esclarecidos quanto ao objetivo geral, abordagem metodológica generalizada e tempo de dedicação ao estudo. Os indivíduos que manifestaram a concordância com as condições apresentadas passaram por uma triagem.

Foram convidados para comparecerem ao laboratório indivíduos do sexo masculino, com idade entre 18 e 35 anos, praticantes regulares de exercício físico (no

mínimo 3 vezes por semana com duração mínima de 1 h/dia) com características eminentemente aeróbias há pelo menos 6 meses, sem evidência de doenças metabólicas como diabetes mellitus, doenças cardíacas, respiratórias ou hipertensão, sem aversão ou intolerância aos alimentos do estudo e não usuário de tabaco, álcool, suplementos ou medicamentos que poderiam afetar o metabolismo energético. Assim, foram recrutados 55 voluntários para avaliação inicial em laboratório (Figura 1).

Na primeira visita ao laboratório, os voluntários responderam ao questionário de recrutamento (Apêndice I), questionário PAR-Q (*Physical Activity Readiness Questionnaire*) (CHISHOLM et al., 1975) (Anexo I) e a tabela de risco coronariano proposta por *Michigan Heart Association* (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2013) (Anexo II), e foi realizada também a avaliação antropométrica. Continuaram o processo de triagem somente os avaliados que apresentaram resposta negativa a todas as perguntas do questionário PAR-Q, risco coronariano abaixo da média, percentual de gordura menor que 25% e Índice de Massa Corporal (IMC) entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup>. Assim, 43 voluntários seguiram para a avaliação da capacidade aeróbica (teste de VO<sub>2max</sub>). Desses, 20 exibiram VO<sub>2max</sub> acima de 45 mL(kg.min)<sup>-1</sup> e foram selecionados para participarem da pesquisa.

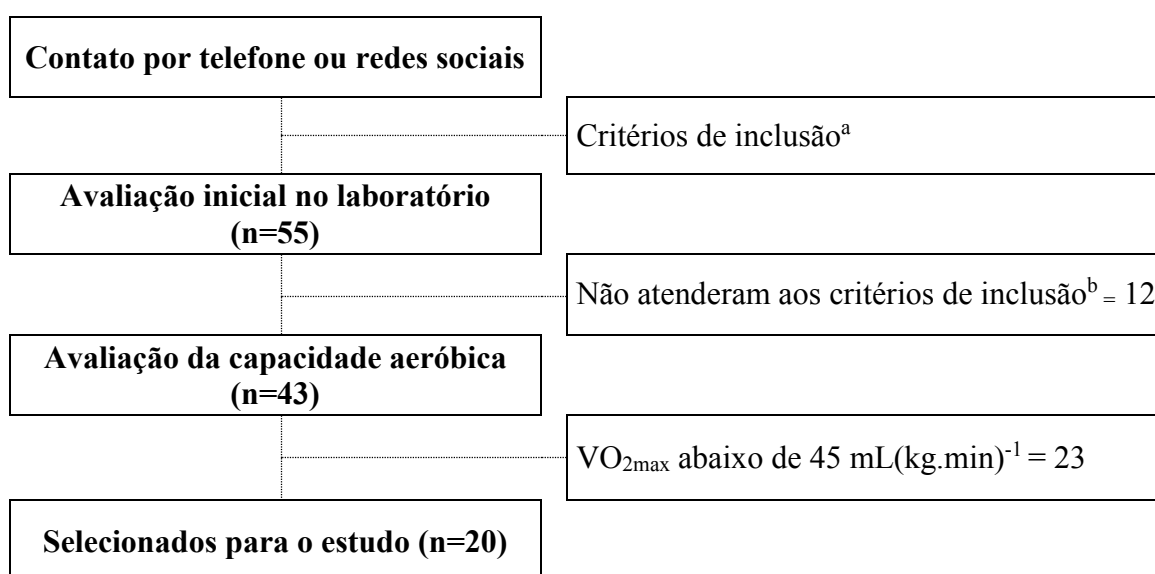


Figura 1. Fluxograma da seleção de voluntários para o estudo.

<sup>a</sup>Sexo masculino; idade entre 18 e 35 anos; praticante regular de exercício aeróbico; ausência de doenças metabólicas; sem aversão ou intolerância aos alimentos do estudo; não usuário de tabaco, álcool, suplementos ou medicamentos.

<sup>b</sup>Resposta negativa a todas as perguntas do questionário PAR-Q, risco coronariano abaixo da média, percentual de gordura menor que 25% e Índice de Massa Corporal entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup>.

A opção pela amostra ser composta somente por indivíduos do sexo masculino se deve às variações hormonais ocorridas na segunda fase do ciclo menstrual, as quais têm ação direta sobre a insulina, provocando hiperinsulinemia (BITTAR, 1997). Além disso, devido à dificuldade das mulheres em definir exatamente todo o período correspondente à segunda fase do ciclo menstrual e aliado à ocorrência de ciclos irregulares, optou-se por excluí-las da atual pesquisa para evitar qualquer interferência nos resultados.

Todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), concordando em participar voluntariamente no estudo (Apêndice II), atendendo, assim, às exigências da legislação Brasileira (Resolução 466/12) sobre experimentos com seres humanos. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa - MG (parecer nº 1.481.640/2016), sob o número de registro 53457715.1.0000.5153 (Anexo III).

### **2.2.1. Avaliação antropométrica e da composição corporal**

Em uma sala reservada no LAPEH, um profissional de Nutrição aferiu a massa corporal (MC) utilizando balança eletrônica digital da marca Filizola<sup>®</sup> (Filizola S.A., São Paulo, Brasil) com capacidade de 150 kg, graduação de 0,05 kg, usando o mínimo de roupa possível. A estatura foi avaliada utilizando estadiômetro vertical milimetrado da marca Sanny<sup>®</sup> (American Medical do Brasil Ltda, São Bernardo do Campo, Brasil) com extensão de 2,2 m e escala de 0,05 cm. Para a determinação da MC e estatura, os indivíduos estavam descalços, de pé, em posição firme, com os braços relaxados e cabeça no plano horizontal. O IMC foi calculado (BRAY; GRAY, 1988) e classificado de acordo com os pontos de corte preconizados pela WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

A composição corporal foi avaliada por meio do método de absorptometria radiológica de dupla energia (*Dual Energy X-ray Absorptiometry* - DEXA) (GE Healthcare<sup>®</sup>, Lunar Prodigy Advance, United Kingdom) e *software* Encore (GE Lunar's *software plataforma*) versão 2010. O exame foi realizado com o indivíduo deitado em decúbito dorsal e imóvel sobre a mesa, trajando roupas leves, sem adereços metálicos, em jejum de 12 h e após esvaziar a bexiga. A fonte e o detector foram passados sobre o corpo do avaliado em velocidade de 1 cm/s. Esta avaliação foi realizada na Divisão de Saúde da UFV, por técnico habilitado e treinado.

Antes da avaliação da composição corporal, os participantes foram orientados a não realizar exercício físico e consumo de álcool nas últimas 12 e 48 h anteriores ao exame, respectivamente (BARBOSA, 2006).

### **2.2.2. Avaliação da capacidade aeróbica**

Os participantes realizaram um teste de intensidade progressiva em cicloergômetro eletromagnético (Scifit<sup>®</sup>, ISO 1000, Berkshire, Reino Unido) para determinação de  $VO_{2max}$ , aplicado por um profissional de educação física treinado. Nesse teste, após 3 min de aquecimento a 35 watts, foram empregados estágios múltiplos, iniciando com carga de 50 watts e aumentando 20  $watts \cdot min^{-1}$ , enquanto o voluntário pedalava continuamente a 65 RPM (Rotações por minuto) (STORER; DAVIS; CAIOZZO, 1990). O ar expirado foi continuamente analisado para oxigênio e gás carbônico usando um analisador de gases metabólicos (MedGraphics<sup>®</sup>, Ultima<sup>™</sup>, Saint Paul, EUA) e o *software Breeze Suite 7.2.0.64*.

O exercício continuou até que o indivíduo fosse incapaz de continuar, mesmo sendo encorajado pelo avaliador. O  $VO_{2max}$  foi estabelecido seguindo os critérios propostos por Howley, Bassett e Welch (1995) que prevê a ocorrência: (1) do platô da curva de consumo de oxigênio com aumento da carga ( $< 2,1 mL \cdot (kg \cdot min)^{-1}$ ); (2) da taxa de troca respiratória maior que 1,10; (3) do acúmulo de ácido láctico acima de 8 mmol/L; (4) do registro igual ou superior a 18 na escala de percepção de esforço proposta por Borg (1982). A informação obtida nesse teste foi usada para determinar a intensidade do exercício desse estudo. Além disso, a altura do selim foi registrada nessa visita e replicada nas visitas subsequentes.

### **2.2.3. Avaliação da ingestão alimentar e controle dietético**

A ingestão alimentar habitual foi avaliada a partir de registro alimentar de 3 dias não consecutivos, sendo dois dias da semana e um dia de final de semana (CINTRA et al., 1997). Para isso, os voluntários foram orientados a realizar um registro fotográfico e descrever os tipos e quantidades dos alimentos consumidos (Apêndice III).

Cada registro alimentar foi revisado na presença do voluntário para garantir sua precisão. As quantidades, em medidas caseiras, dos alimentos ingeridos foram convertidas em gramas e a ingestão calórica, de macronutrientes e de fibras foram analisadas por um Nutricionista utilizando o *software Avanutri<sup>®</sup> versão 4.0* (Três Rios,

Rio de Janeiro, Brasil), priorizando as seguintes tabelas de composição química de alimentos: Philippi (2015) e TACO (2011).

O controle da dieta do dia anterior a cada etapa experimental também foi realizado, objetivando minimizar as possíveis variações do conteúdo de glicogênio hepático e muscular entre as etapas experimentais. Para isso, os voluntários foram orientados a registrar sua alimentação do dia anterior ao primeiro tratamento e a repetir esta mesma dieta no dia anterior ao outro tratamento.

### 2.3. Protocolo experimental

Os voluntários chegavam ao laboratório após 10 h de jejum, sempre no mesmo horário do dia, entre 7 e 8 h da manhã. Esse procedimento foi importante para garantir o estômago vazio, sem resíduos sólidos e minimizar o efeito da refeição anterior na taxa de esvaziamento gástrico das refeições teste (CHEN et al., 2008).

Após 10 min de repouso, foi realizada a coleta sanguínea para as determinações bioquímicas. Na sequência, os participantes foram instruídos a ingerir, dentro de 15 min, o café da manhã com chá-mate ou água, de acordo com a etapa em que estavam. A fim de fornecer o mesmo volume de líquido nas duas etapas experimentais e minimizar a diferença no volume gástrico, nos tratamentos CMC e CM foram fornecidos 400 mL de chá-mate e água, respectivamente. Em seguida, permaneceram em repouso por mais 60 min com o nível de atividade física mínimo. A figura 2 apresenta de forma esquemática as ações experimentais realizadas no estudo.

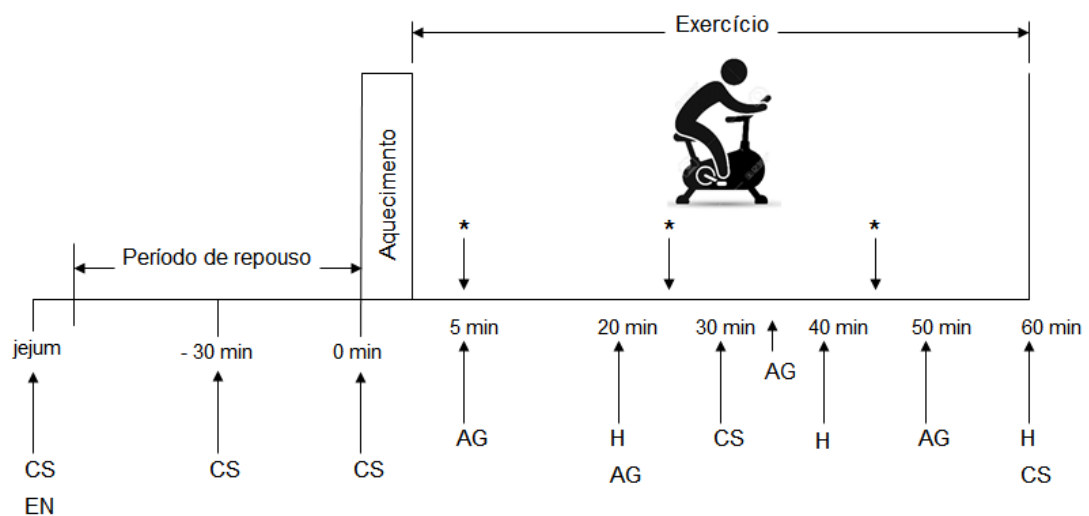


Figura 2. Representação esquemática do protocolo experimental. Nota: CS = Coleta Sanguínea, EN = Estratégia Nutricional, AG = Análise de Gases, H = Hidratação. \*Sintomas gastrointestinais e sistêmicos

Transcorrido o período pós-prandial, os voluntários realizaram 5 min de aquecimento a 55% do  $VO_{2max}$  em cicloergômetro (Scifit®, modelo ISO 1000, Berkshire, Reino Unido). Posteriormente, a intensidade do exercício foi aumentada para 65% do  $VO_{2max}$  e o exercício continuou por mais 60 min, mantendo a cadência constante a 65 RPM durante todos os testes.

Durante o exercício, foram fornecidos três mililitros de água por quilograma de peso corporal a cada 20 min (MARINS, 2011). Todos os testes foram realizados em condições ambientais laboratoriais similares, controlando a temperatura do ar ( $21,31 \pm 2,1$  °C), pressão barométrica ( $707,35 \pm 2,58$  mmHg) e umidade relativa ( $69,42 \pm 3,72$  %UR), proporcionando um ambiente confortável, segundo o diagrama de conforto humano, fornecido pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET, 2018).

#### **2.4. Preparo do chá-mate e café da manhã**

O chá-mate em pó solúvel foi escolhido para ser utilizado nesse estudo, pois conforme os resultados obtidos no capítulo 1, esse chá foi o que apresentou maior teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante comparado aos outros chás analisados, chá-mate em sachê e a granel.

O chá foi preparado no dia de cada etapa experimental, dissolvendo 5 g de chá-mate solúvel da empresa Mate Leão Jr® (Leão Jr Co., Curitiba, PR, Brasil) em 400 mL de água filtrada a 96 °C, temperatura indicada pelo fabricante para o preparo do chá, sem adição de açúcar. O mesmo lote do chá foi utilizado durante todo o experimento para minimizar a influência das condições de crescimento e manufatura da planta.

O café da manhã fornecido aos participantes apresentava 15% da necessidade energética do voluntário, a qual foi avaliada por meio dos registros alimentares descritos anteriormente (INSTITUTE OF MEDICINE, 2005) (Tabela 1). Dessa forma, os alimentos foram pesados individualmente para atender à necessidade energética de cada voluntário e o percentual de macronutrientes foi adequado em relação à *Acceptable Macronutrient Distribution Ranges* (AMDR) (INSTITUTE OF MEDICINE, 2005). O café da manhã foi composto por pão de forma integral, requeijão light, leite semidesnatado, achocolatado e banana (Anexo IV). Todos os alimentos do café da manhã foram adquiridos no mesmo estabelecimento comercial e preparados no LAPEH.

Tabela 1. Composição de macronutrientes, fibras e calorias apresentado pelo café da manhã.

Composição nutricional	Média ± DP
Carboidratos (g)	57,37 ± 15,21
Proteínas (g)	14,83 ± 3,91
Lipídios (g)	8,82 ± 2,38
Fibras (g)	3,54 ± 2,38
Calorias (kcal)	368,42 ± 97,98

DP = desvio padrão

## 2.5. Análise de gases e oxidação do substrato

Amostras de gás expirado (MedGraphics, Ultima™, Saint Paul, EUA) foram coletadas nos primeiros cinco min e posteriormente a cada 15 min, durante um intervalo de 5 min (Figura 2). O ar foi avaliado a cada respiração utilizando o analisador de gases metabólicos (MedGraphics®, Ultima™, Saint Paul, EUA) e o *software Breeze Suite 7.2.0.64*.

O analisador de gases foi ligado 30 min antes do teste para aquecimento e calibrado imediatamente antes de cada teste. A calibração foi realizada com gases comercialmente disponíveis, conhecidos e certificados. Para a coleta dos gases foi utilizada uma máscara de neoprene, acoplada ao pneumotacógrafo, posicionada sobre a boca e o nariz do participante, de modo que não permitisse a entrada e saída de ar por frestas laterais.

Com essa análise, foram determinados o volume de oxigênio (VO<sub>2</sub>) consumido, volume de gás carbônico (VCO<sub>2</sub>) produzido e o quociente respiratório (QR) calculado pela relação VCO<sub>2</sub>/VO<sub>2</sub>. A partir dos valores do VO<sub>2</sub> e VCO<sub>2</sub>, as taxas de oxidação de carboidrato e de gordura (g.min<sup>-1</sup>) foram estimadas utilizando-se as equações estequiométricas (Eq.1 e Eq.2) proposta por Jeukendrup e Wallis (2005), considerando que a oxidação de proteína durante o exercício é insignificante.

$$\text{Taxa de oxidação de carboidrato (g.min}^{-1}\text{)} = 4,210 \times \text{VCO}_2 - 2,962 \times \text{VO}_2 \quad (1)$$

$$\text{Taxa de oxidação de gordura (g.min}^{-1}\text{)} = 1,695 \times \text{VO}_2 - 1,701 \times \text{VCO}_2 \quad (2)$$

## **2.6. Avaliações bioquímicas**

As amostras sanguíneas foram coletadas em jejum e depois em intervalos de 30 min (Figura 2). Foram monitorados os seguintes parâmetros sanguíneos: glicemia (método glicose oxidase), insulinemia (quimioluminescência), ácidos graxos livres (AGL) (método espectrofotométrico) e lactato (tira reagente).

As coletas de sangue foram realizadas em veias do antebraço esquerdo ou direito, utilizando seringa descartável de 20 mL e tubos *vacutainer*. Coletou-se 10 mL de sangue, os quais foram colocados em tubos soro gel. Dessa coleta, foi retirado 20 µl para análise de lactato utilizando analisador portátil (Accutrend, Roche®, Mannheim, Alemanha). Todos os procedimentos foram realizados por técnico de enfermagem habilitado. Aspectos relacionados à biossegurança foram rigorosamente observados durante a obtenção das amostras sanguíneas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010). As amostras sanguíneas foram tratadas e analisadas por técnicos no Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde da UFV.

## **2.7. Avaliação da frequência cardíaca**

Em repouso e durante todo o exercício, a frequência cardíaca (FC) foi monitorada e os registros foram realizados a cada cinco segundos usando frequencímetro cardíaco da marca Polar® modelo RS800cx (Electro Ltd, Kempele, Finlândia). Os dados foram analisados no *software* Polar ProTrainer. Para a análise, os dados foram agrupados em intervalos de 5 min, utilizando o valor médio da FC obtido nesses intervalos.

## **2.8. Avaliação dos sintomas gastrointestinais e sistêmicos**

A avaliação dos sintomas de distúrbios gastrointestinais e sistêmicos foi realizada aos 5 min de exercício e depois em intervalos regulares de 20 min, utilizando a escala proposta por Pfeiffer et al. (2009), a qual é composta por três seções, cada uma incluindo quatro a seis sintomas. A seção 1 é constituída por problemas abdominais superiores (refluxo, azia, inchaço, cólica, vontade de vomitar e náusea); a seção 2, problemas abdominais inferiores (cólicas intestinais, flatulência, vontade de defecar, dor abdominal do lado esquerdo, dor abdominal do lado direito e diarreia); a seção 3, problemas sistêmicos (tonteira, dor de cabeça, câibras musculares e vontade de urinar). Os sintomas foram classificados em uma escala de 10 pontos, que varia de 0 (ausência do sintoma) a 9 (máxima intensidade do sintoma) (Anexo V).

## 2.9. Análises estatísticas

Todas as variáveis apresentadas foram testadas quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Os valores são apresentados como médias e desvios padrão.

A área abaixo da curva (AAC) foi calculada para os dados de glicemia e insulina utilizando o método trapezoidal, e comparada entre os tratamentos usando o teste t pareado para a AAC glicêmica e o teste de Wilcoxon para a AAC insulinêmica.

Os dados de calorias, macronutrientes e fibras de cada etapa experimental foram comparados utilizando o teste t pareado para as variáveis que apresentaram distribuição normal e o teste de Wilcoxon para as variáveis que não apresentaram distribuição normal.

Para comparação dos parâmetros bioquímicos, de oxidação do substrato e FC foi utilizada análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas de duas vias (tratamento e tempo). O teste post hoc de Bonferroni foi aplicado para identificar diferenças em cada ponto de tempo.

Em todas as análises foi adotado um nível de significância estatístico de 5%, sendo conduzidas no *software* SPSS versão 22 (SPSS Inc, Chicago, Estados Unidos).

## 3. Resultados

Dos 20 participantes selecionados para compor a amostra do estudo, seis desistiram de participar e um foi eliminado por não seguir o protocolo pré-teste. Dessa forma, 13 voluntários completaram o estudo. A Tabela 2 apresenta as principais características físicas e fisiológicas desses participantes.

Tabela 2 – Características dos participantes do estudo (n = 13)

Características	Média ± DP
Idade (anos)	25,38 ± 5,53
Massa corporal (kg)	70,35 ± 6,11
Estatura (cm)	177,65 ± 0,05
Índice de Massa Corporal (kg/m <sup>2</sup> )	22,28 ± 1,72
Gordura Corporal (%)	14,84 ± 4,98
Frequência Cardíaca máx (bpm)	182,61 ± 7,38
Volume de Oxigênio máx (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	54,52 ± 4,02

DP = desvio padrão

Não foi observada diferença significativa no consumo calórico total, na composição de macronutrientes e fibras da dieta consumida pelos participantes no dia anterior a cada etapa experimental (Tabela 3).

Tabela 3 – Ingestão calórica, de macronutrientes e fibras pelos participantes no dia anterior a cada etapa experimental.

Consumo	Etapa experimental	
	CMC	CM
Energia (kcal)	2325,06 ± 554,09	2301,46 ± 483,06
Carboidratos (g)	309,85 ± 93,23	297,42 ± 77,08
Carboidratos (%)	52,83 ± 6,29	51,38 ± 4,61
Lipídeos (g)	78,81 ± 25,13	81,38 ± 24,04
Lipídeos (%)	30,55 ± 6,26	31,72 ± 6,19
Proteínas (g)	94,09 ± 26,43	94,85 ± 24,20
Proteínas (%)	16,62 ± 4,59	16,90 ± 4,43
Fibras	24,42 ± 10,25	24,71 ± 9,18

CMC = café da manhã e chá-mate, CM = café da manhã. Os valores representam a média ± desvio padrão. Não houve diferença significativa entre as etapas experimentais, CMC e CM, para nenhum dos parâmetros avaliados pelo teste t pareado.

A resposta glicêmica avaliada em jejum, durante o período pós-prandial e exercício não diferiu entre as duas etapas experimentais (Figura 3). A glicemia tendeu ( $P = 0,062$ ) a ser menor no tratamento CMC aos 30 min pós-prandial em relação ao CM nesse mesmo período de tempo. Quanto à análise temporal, foi observado que a resposta glicêmica 30 min após o consumo do CMC foi maior que aquela obtida antes do exercício (0 min) ( $P = 0,01$ ) (Figura 3).

No tratamento CM, a glicemia determinada aos 30 min pós-prandial foi a maior ( $P < 0,05$ ) e a observada antes do exercício (0 min) foi a menor ( $P < 0,05$ ) comparadas aos outros tempos de avaliação (Figura 3).

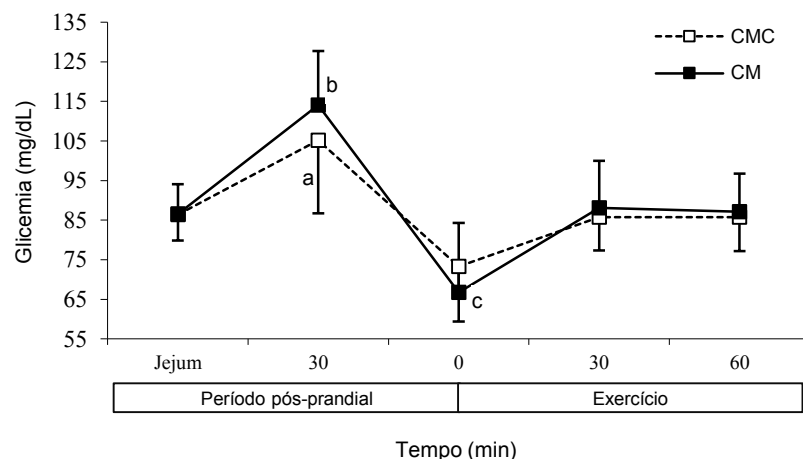


Figura 3 – Respostas glicêmicas obtidas em jejum, no período pós-prandial e durante a realização do exercício nos tratamentos de café da manhã e chá-mate (CMC), e café da manhã (CM). (a) Glicemia aos 30 min pós-prandial maior que ao 0 min no CMC, (b) Glicemia aos 30 min pós-prandial maior que todos os outros tempos de avaliação no CM, (c) Glicemia ao 0 min menor que todos os outros tempos de avaliação no CM; ( $P < 0,05$ ; ANOVA para medidas repetidas e teste post hoc de Bonferroni).

Os valores observados de insulina, AGL e lactato em cada etapa experimental estão apresentados na Tabela 4. Não foi verificada diferença significativa entre as duas etapas experimentais para nenhum desses parâmetros. Antes de iniciar o exercício (0 min), houve uma tendência do nível de insulina ser menor ( $P = 0,081$ ) e AGL maior ( $P = 0,095$ ) no tratamento CMC comparados ao CM.

Na análise temporal, foi identificado que a insulinemia ao 0 min (uma hora após a ingestão das refeições) foi maior que nos outros tempos avaliados nos dois tratamentos (CMC e CM). Quanto ao nível de AGL, observou-se que houve aumento significativo ao final do tratamento CMC e redução significativa no tempo 0 min no tratamento CM ( $P < 0,05$ ). Em relação ao lactato, foi verificado que o nível de lactato aos 30 min do exercício foi superior aos valores antes e após o exercício nos dois tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4 – Insulina, ácidos graxos livres e lactato observados durante os momentos nas duas etapas experimentais.

Parâmetro bioquímico	Etapa	Jejum	Exercício		
			0 min	30 min	60 min
Insulina (µUI/mL)	CMC	4,21 ± 1,90 <sup>a</sup>	10,77 ± 7,86 <sup>b</sup>	--	4,67 ± 2,42 <sup>a</sup>
	CM	4,54 ± 1,36 <sup>a</sup>	12,90 ± 6,89 <sup>b</sup>	--	5,12 ± 3,76 <sup>a</sup>
AGL (mmol/L)	CMC	0,37 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,17 <sup>a</sup>	--	0,68 ± 0,30 <sup>b</sup>
	CM	0,35 ± 0,21 <sup>a</sup>	0,16 ± 0,07 <sup>b</sup>	--	0,55 ± 0,27 <sup>a</sup>
Lactato (mmol/L)	CMC	--	3,83 ± 0,49 <sup>a</sup>	4,85 ± 1,15 <sup>b</sup>	3,61 ± 0,92 <sup>a</sup>
	CM	--	3,62 ± 0,58 <sup>a</sup>	5,56 ± 2,33 <sup>b</sup>	3,51 ± 0,65 <sup>a</sup>

AGL = Ácidos Graxos Livres, CMC = café da manhã e chá-mate, CM = café da manhã. Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si, pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade. Não houve diferença significativa entre as etapas experimentais, CMC e CM, para insulina, AGL e lactato.

A AAC glicêmica calculadas para o período pós-prandial (60 min) e total (pós-prandial e exercício) não diferiram estatisticamente entre as etapas do estudo (CMC e CM) (Figura 4, A). Já a AAC insulinêmica no tratamento CM foi maior àquela obtida no CMC (P = 0,034) (Figura 4, B).

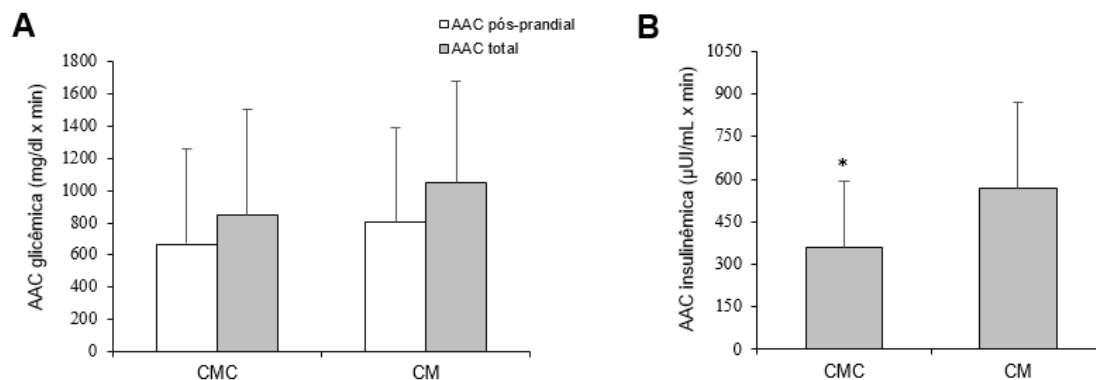


Figura 4 - Áreas abaixo das curvas (AAC) glicêmicas pós-prandial e total (A), e insulinêmica (B) obtidas nos tratamentos de café da manhã e chá-mate (CMC), e café da manhã (CM). \*Diferença significativa do CM; (P < 0,05; teste t pareado para AAC glicêmicas e Wilcoxon para AAC insulinêmica).

O QR obtido no início e final do exercício (5 e 50 min) no tratamento CM foi maior que o obtido no CMC (Figura 5, A). A oxidação de carboidratos no tratamento CM foi maior aos 5, 20 e 50 min do exercício quando comparada àquela obtida no CMC (Figura 5, B). De modo contrário, a oxidação de lipídeos foi maior no tratamento CMC comparado ao CM aos 5, 20 e 50 min com diferença de 0,09, 0,10 e 0,12 g/min,

respectivamente, representando uma média 32,6% maior de oxidação de lipídeos nesses tempos (Figura 5, C).

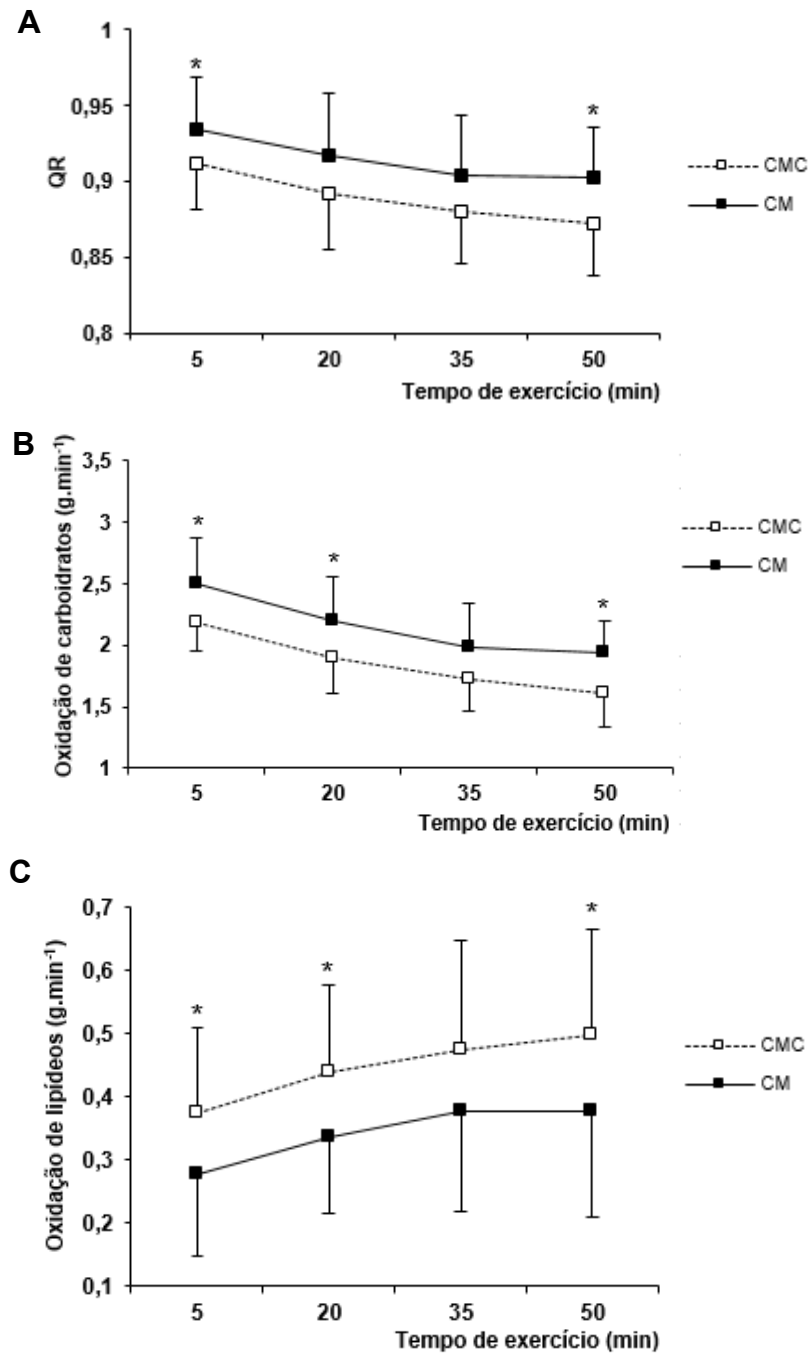


Figura 5 - Quociente respiratório (QR; A), oxidação de carboidratos (B) e de lipídeos (C) obtidas durante a realização do exercício nos tratamentos de café da manhã e chá-mate (CMC) e café da manhã (CM). \*Diferença significativa entre os tratamentos no mesmo tempo; ( $P < 0,05$ ; ANOVA para medidas repetidas e teste post hoc de Bonferroni).

A FC em repouso e durante o exercício não diferiu entre os tratamentos do estudo. A FC em repouso foi menor que a observada durante todos os tempos de exercício nas duas etapas experimentais (Figura 6).

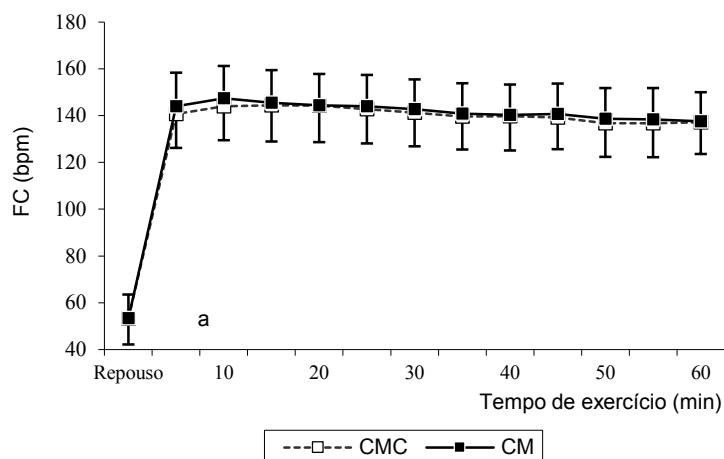


Figura 6 - Frequência cardíaca (FC) obtida em repouso e durante a realização do exercício nos tratamentos de café da manhã e chá-mate (CMC), e café da manhã (CM). (a) Valor em repouso menor que todos os outros tempos de avaliação durante o exercício nos tratamentos CMC e CM; ( $P < 0,05$ ; ANOVA para medidas repetidas e teste post hoc de Bonferroni).

Em relação aos sintomas de distúrbios gastrointestinais e sistêmicos informados pelos avaliados após o consumo das refeições, apenas dois voluntários relataram vontade de urinar na metade do exercício, sendo um indivíduo durante o tratamento CMC e o outro durante o CM. Não houve ocorrência de outros sintomas subjetivos avaliados.

#### 4. Discussão

O objetivo desse estudo foi comparar o efeito da ingestão aguda de chá-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre o metabolismo energético em homens expostos ao exercício contínuo em cicloergômetro, explorando possível efeito na resposta glicêmica. O cumprimento das orientações prévias as etapas experimentais, tais como manter o jejum e repetir a alimentação do dia anterior ao primeiro tratamento foi observado pela ausência de diferença significativa na glicemia de jejum e na ingestão calórica, de macronutrientes e de fibras do dia anterior ao experimento, entre as duas etapas experimentais (Tabela 3, Figura 3). Esses resultados permitem inferir que os

indivíduos iniciaram cada etapa experimental com níveis de glicogênio hepático e muscular semelhantes.

Um café da manhã foi oferecido com o chá-mate para avaliar um possível efeito do chá sobre a resposta glicêmica e, conseqüentemente sobre a resposta insulinêmica. Houve uma tendência da glicemia aos 30 min pós-prandial ser menor em resposta ao consumo do café da manhã com chá-mate (Figura 3). Além disso, antes de iniciar o exercício, a resposta glicêmica no tratamento CMC apresentou uma queda menos acentuada quando comparada ao tratamento CM, o qual atingiu valor hipoglicêmico ( $< 70$  mg/dl) médio (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018). Portanto, o consumo do chá-mate proporcionou resposta glicêmica mais estável, o que permite o fornecimento de energia de forma mais constante para o músculo em exercício e reduz o risco de uma condição hipoglicêmica pré-exercício, conforme demonstrado no nosso estudo.

Acredita-se que a absorção intestinal da glicose pode ter sido alterada em resposta ao consumo do chá-mate, o que refletiu, conseqüentemente, na resposta glicêmica pós-prandial. Conforme demonstrado no estudo de Oliveira et al. (2008) com modelo animal, o consumo de erva-mate reduziu a expressão gênica do cotransportador de glicose intestinal (SGLT-1), proteína responsável pelo transporte de glicose e galactose do lúmen para o interior do enterócito. Essa ação pode ser atribuída aos ácidos clorogênicos presentes na erva-mate, um grupo de ácidos fenólicos formados pela esterificação do ácido quínico com os ácidos hidroxicinâmicos (MATEOS et al., 2018). O chá-mate é rico em ácidos clorogênicos, especialmente os ácidos cafeoilquínicos, como o 5-cafeoilquínico, 4,5-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico e 3,4 dicafeoilquínico (SILVEIRA et al., 2016).

Estudo com ácido clorogênico isolado também demonstrou redução da resposta glicêmica em comparação com o placebo (manitol) após a ingestão aguda de uma carga de glicose por homens saudáveis (Van Dijk *et al.*, 2009), indicando que o composto fenólico foi capaz de alterar os padrões de absorção da glicose.

Os ácidos clorogênicos têm sido indicados como moduladores do metabolismo da glicose, com efeito hipoglicemiante, por diversos mecanismos sugeridos como redução da atividade da alfa-glicosidase, aumento do peptídeo 1 tipo glucagon (*GLP-1*), aumento no transporte de glicose para o músculo esquelético por meio da ativação de proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK) e redução da atividade da enzima glicose-6-fosfatase hepática (MENG et al., 2013; ONG; HSU;

TAN, 2013; PENG et al., 2015; NAVEED et al., 2018b). Porém, apesar do ácido clorogênico ser o composto fenólico predominante no chá-mate, a bebida é uma matriz complexa, que contém diversas outras substâncias em sua constituição (flavonoides, xantinas, saponinas, vitaminas e minerais), por isso, são necessários mais estudos para avaliar se o consumo do chá-mate apresenta os mesmos efeitos do ácido clorogênico isolado no metabolismo glicídico.

Outro mecanismo que pode explicar a resposta glicêmica mais estável observada no tratamento CMC é a redução na velocidade da taxa de esvaziamento gástrico produzido pela erva-mate, conforme demonstrado no estudo de Andersen e Fogh (2001). Nesse estudo, os autores observaram um atraso de 20 min no esvaziamento gástrico dos voluntários que ingeriram cápsulas contendo erva-mate antes das refeições, em comparação aos que ingeriram placebo. O estômago desempenha um papel importante na liberação de nutrientes para o intestino e, conseqüentemente, contribui também para a velocidade de absorção dos mesmos. Com isso, se há redução na velocidade de esvaziamento gástrico, a absorção de glicose será mais lenta e a liberação insulínica menor, resultado observado no nosso estudo. O retardo no esvaziamento gástrico promove maior saciedade e redução da ingestão de alimentos o que, a longo prazo, produz perda de peso corporal, conforme foi demonstrado em estudo anterior (Hussein *et al.*, 2011).

Um dos principais resultados observados no nosso estudo foi que a ingestão de chá-mate (5 g/400 mL) pré-exercício aumentou 32,6% a oxidação de lipídeos durante o exercício contínuo de intensidade moderada comparado ao teste controle (CM) (Figura 5). Areta et al. (2017) observaram menor diferença (23%) na taxa de oxidação de lipídeos após uma hora de ingestão de 5 g de erva-mate (cápsula) em relação ao placebo, durante o ciclismo com intensidade entre 30 a 50%  $VO_{2max}$ , mas não verificaram diferença significativa na oxidação do substrato na mesma intensidade do nosso estudo (65%  $VO_{2max}$ ). Considerando que a faixa de intensidade de exercício de 30 a 50%  $VO_{2max}$  é mais favorável à utilização de lipídeos como fonte de energia para o exercício do que a intensidade de 65%  $VO_{2max}$ , tais resultados sugerem que o chá-mate é mais efetivo para aumentar a oxidação de lipídeos durante o exercício quando comparado à ingestão de erva-mate em cápsula, porém são necessários mais estudos para investigar essa hipótese.

A maior oxidação de lipídeos no CMC pode ser explicada, em partes, pela menor resposta glicêmica, seguida por menor resposta insulinêmica nesse tratamento.

O metabolismo lipídico é muito sensível às variações das concentrações plasmáticas de insulina, de modo que, pequeno aumento na insulinemia produz redução da lipólise e da oxidação de AGL plasmático (BONADONNA et al., 1990).

A concentração de AGL plasmático foi avaliada por ser considerado um marcador confiável para a lipólise de triacilglicerol armazenada no tecido adiposo (ROMIJN et al., 1993). Inesperadamente, os níveis de AGL antes do exercício (tempo 0) reduziram em relação ao período de jejum no tratamento CM. Os voluntários se deslocavam, de casa para o laboratório, caminhando ou pedalando e, embora tenham aguardado 10 min para realização da primeira coleta de sangue (jejum), esse tempo provavelmente não foi suficiente para que o nível plasmático de AGL retornasse ao valor basal.

Essa redução do nível de AGL também ocorreu no tratamento CMC, porém não foi significativa como no CM. Dessa forma, os voluntários iniciaram o exercício, após a ingestão de chá-mate, com maior concentração de AGL disponível para ser utilizado como fonte de energia para o exercício. No estudo de Areta et al. (2017), o consumo de erva-mate por homens saudáveis resultou em aumento do AGL plasmático após uma hora da ingestão, quando comparado ao teste placebo, indicando a ação lipolítica da erva-mate.

O efeito termogênico do chá-mate pode ser atribuído a sua composição rica em compostos bioativos como ácidos clorogênicos, flavonoides (kaempferol e quercetina) e xantinas (cafeína e teobromina), que, juntos, promovem um efeito sinérgico na promoção da oxidação de lipídeos (BOJIC et al., 2013). Dentre esses compostos, a cafeína apresenta a ação lipolítica mais bem esclarecida na literatura. A quantidade de cafeína presente no extrato solúvel é de 15 mg/g de chá (BORGES et al., 2013). O aumento da lipólise induzida pela cafeína envolve a sua atuação como antagonista do receptor de adenosina A1 e a liberação de catecolaminas pela glândula suprarrenal (KIM; PARK; LIM, 2016). Como antagonista dos receptores A1, a cafeína impede sua ligação com adenosina, aumentando a concentração celular de *adenosina monofosfato cíclica (AMPc)*, o que gera uma série de efeitos no organismo como a liberação de catecolaminas e lipólise. Por sua vez, as catecolaminas liberadas se ligam aos receptores  $\beta$ -adrenérgicos, que promovem a ativação da lipase hormônio sensível, resultando na hidrólise do triacilglicerol no tecido adiposo e liberação de AGL na corrente sanguínea (DAVIS et al., 2003).

Além da cafeína, os compostos fenólicos do chá-mate atuam sinergicamente e podem aumentar e prolongar a estimulação da termogênese (FAGUNDES et al., 2015). Os flavonoides, incluindo kaempferol e quercetina, têm demonstrado atividade antagonista dos receptores de adenosina A1, podendo estimular o Sistema Nervoso Central (SNC) com ação semelhante à cafeína (ALEXANDER, 2006). Recentemente, Alkhatib e Atcheson (2017) evidenciaram o efeito estimulante da erva-mate no SNC. Nesse estudo, o consumo de 2 g de erva-mate em cápsula 120 min antes do exercício foi capaz de melhorar o estado de humor, aumentando o foco, energia e a concentração de mulheres fisicamente ativas.

O ácido clorogênico também exibiu atividade lipolítica em um estudo *in vitro*, no qual adipócitos incubados com extrato contendo ácido clorogênico aumentaram a liberação de AGL (FLANAGAN et al., 2014).

Esses resultados demonstram que o chá-mate é capaz de aumentar a oxidação de lipídeos associada ao exercício contínuo de intensidade moderada, o que é importante para projetar futuras intervenções para redução da gordura corporal, prevenção de doenças e melhoria do desempenho.

A FC e a concentração sanguínea de lactato são parâmetros da intensidade do exercício, os quais não foram afetados com o consumo de chá-mate (Figura 6; Tabela 4). Tal resultado demonstra a homogeneidade na intensidade do exercício entre as etapas experimentais.

As refeições de café da manhã, associadas ou não ao chá-mate, não provocaram nenhum tipo de problema gastrointestinal do tipo náusea, azia, cólica, flatulência, refluxo, entre outros. Tais resultados permitem afirmar que os tipos de alimentos e o volume das refeições, bem como o período pós-prandial propostos nesse estudo são seguros para evitar problemas gastrointestinais durante o exercício aeróbico.

Tendo em vista que o principal achado desse estudo foi que o consumo de 5 g de chá-mate uma hora antes do exercício aumentou a oxidação de lipídeos em exercício aeróbico de intensidade moderada, é possível recomendar o consumo dessa bebida tanto para atletas em condição de competição ou treino, por ter indicação ergogênica, quanto para indivíduos que desejam emagrecer, por questão de saúde e/ou estética.

Uma limitação do presente estudo foi a ausência da avaliação da concentração de glicogênio e triacilglicerol muscular antes e após o exercício, realizada por biópsia muscular, o que permitiria uma avaliação direta da utilização do substrato durante o

exercício. Assim, sugere-se o desenvolvimento de novos estudos utilizando metodologia similar ao estudo atual, porém avaliando esse parâmetro, com o intuito de possibilitar a análise mais precisa do metabolismo energético.

## 5. Conclusão

A ingestão aguda de 5 g de chá-mate sobre o metabolismo energético de homens durante uma hora de exercício, em cicloergômetro, com intensidade moderada levou ao aumento da oxidação de lipídeos e diminuição da oxidação de carboidratos durante a atividade, sem causar modificações na frequência cardíaca e sintomas gastrointestinais.

## 6. Referências Bibliográficas

ALEXANDER, S. Flavonoids as antagonists at A1 adenosine receptors. **Phytotherapy Research.**, v. 20, n. 11, p. 1009–1012, 2006.

ALKHATIB, A. Yerba Maté (*Illex Paraguariensis*) ingestion augments fat oxidation and energy expenditure during exercise at various submaximal intensities. **Nutrition & Metabolism**, v. 11, n. 42, p. 1–7, 2014.

ALKHATIB, A.; ATCHESON, R. Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) metabolic, satiety, and mood state effects at rest and during prolonged exercise. **Nutrients**, v. 9, n. 8, 2017.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Glycemic targets: Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care**, v. 41, n. Suppl. 1, p. S55–S64, 2018.

ANDERSEN, T.; FOGH, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. **Journal of Human Nutrition & Dietetics**, v. 14, n. 3, p. 243–250, 2001. Disponível em: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cin20&AN=107063940&site=ehost-live>>.

ARETA, J. L.; AUSTARHEIM, I.; WANGENSTEEN, H.; CAPELLI, C. Metabolic and performance effects of Yerba Mate on well-trained cyclists. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 50, n. 4, p. 817–826, 2017.

BARBOSA, K. B. F. **Métodos para avaliação do consumo alimentar e sua relação com marcadores de risco para a síndrome metabólica em adolescentes do sexo feminino**. 2006. Universidade Federal de Viçosa, 2006.

BITTAR, R. Labirintopatias hormonais: hormônios esteróides, estrógeno e

progesterona. **International archives of Otorhinolaryngology**, v. 1, n. 4, 1997.

BOJIC, M.; HAAS, V. S.; ŠARIC, D.; MALES, Z. Determination of Flavonoids , Phenolic Acids , and Xanthines in Mate Tea (*Ilex paraguariensis* St . -Hil .). **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2013, p. 1–6, 2013.

BONADONNA, R.; GROOP, L.; ZYCH, K.; SHANK, M.; DEFRONZO, R. Dose-dependent effect of insulin on plasma free fatty acid turnover and oxidation in humans. **American Journal of Physiology -Endocrinology and Metabolism**, v. 259, n. 5, p. E736–E750, 1990.

BORG, G. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 14, n. 5, p. 377–387, 1982.

BORGES, M. C.; VINOLO, M. A. R.; NAKAJIMA, K.; CASTRO, I. A.; BASTOS, D. H. M.; BORELLI, P.; FOCK, R. A.; TIRAPEGUI, J.; CURI, R.; ROGERO, M. M. The effect of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on metabolic and inflammatory parameters in high-fat diet-fed Wistar rats. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 64, n. 5, p. 1–9, 2013.

BRASILINO, M. da S.; PEREIRA, A. A. F.; ZEPPONI, K. M. C.; NETO, A. H. C.; CARVALHO, A. A. F. de; NAKAMUNE, A. C. de M. S. Erva Mate minimiza as alterações do perfil lipídico promovidas por elevado consumo de sacarose. **Archives Health Inves Health Inves**, v. 2, n. 5, p. 8–15, 2013.

BRAY, G. A.; GRAY, D. S. Obesity I: pathogenesis. **Journal of Medicine**, v. 149, n. 4, p. 13, 1988.

BURRIS, K.; HARTE, F.; DAVIDSON, P.; STEWART, C. J.; ZIVANOVIC, S. Composition and bioactive properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): a review. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 2, p. 268–274, 2012.

CHEN, Y.; WONG, S. H.; WONG, C.; LAM, C.; HUANG, Y.; SIU, P. M. The effect of a pre-exercise carbohydrate meal on immune responses to an endurance performance run. **British Journal of Nutrition**, v. 100, p. 1260–1268, 2008.

CHEUVRONT, S. N.; KENEFICK, R. W. Dehydration : Physiology , Assessment , and Performance Effects. **Comprehensive Physiology**, v. 4, p. 257–285, 2014.

CHISHOLM, D.; COLLIS, M.; KUKAK, L.; DAVENPORT, W.; GRUBER, N. Physical activity readiness. **British Columbia Medical Journal**, v. 17, n. 11, p. 375–378, 1975.

CINTRA, I. P.; VON DER HEYDE, E. D.; SCHMITZ, B. A. S.; FRANCESCHINI, S. C. C.; TADDEI, J. A. A. C.; SIGULEM, D. M. Métodos de inquéritos dietéticos.

**Cadernos de Nutrição**, v. 13, n. 2, p. 11–23, 1997.

DAVIS, J. M.; ZHAO, G.; STOCK, Z.; MEHL, H.; BUGGY, K.; HAND, J. Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 284, n. 24, p. 3999–404, 2003.

FAGUNDES, A.; DANGUY, L. B.; SCHMITT, V.; MAZUR, C. E. *Ilex Paraguariensis*: compostos bioativos e propriedades nutricionais na saúde. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 9, n. 53, p. 213–222, 2015.

FLANAGAN, J.; BILY, A.; ROLLAND, Y.; ROLLER, M. Lipolytic Activity of Svetol® , a Decaffeinated Green Coffee Bean Extract. **Phytotherapy Research**, v. 28, p. 946–948, 2014.

HOWLEY, E.; BASSETT, D.; WELCH, H. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 27, n. 9, p. 1292–301, 1995.

HUSSEIN, G. M. E.; MATSUDA, H.; NAKAMURA, S.; HAMAOKA, M.; AKIYAMA, T.; TAMURA, K.; YOSHIKAWA, M. Mate Tea (*Ilex paraguariensis*) Promotes Satiety and Body Weight Lowering in Mice: Involvement of Glucagon-Like Peptide-1. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 58, n. 12, p. 1849–1855, 2011.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids**. Washington (DC): National Academic Press, 2005.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET. **Conforto térmico Humano**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/confortotermicoHumano>>.

Acesso em: 23 dez. 2018.

JEUKENDRUP, A. E.; RANDELL, R. Fat burners: nutrition supplements that increase fat metabolism. **Obesity**, v. 19, p. 841–851, 2011.

JEUKENDRUP, A. E.; WALLIS, G. A. Measurement of Substrate Oxidation During Exercise by Means of Gas Exchange Measurements. **International Journal of Sports Medicine**, v. 26, n. Suppl 1, p. 28–37, 2005.

JUNIOR, E.; MORAND, C. Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 12, p. 440–454, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.010>>.

KANG, Y.; LEE, H.; KIM, J.; MOON, D.; SEO, M.; PARK, S.; CHOI, K.; KIM, C.; KIM, S.; OH, J.; CHO, S.; KIM, S.-Y.; KIM, M.-G.; CHAE, S.-W.; KIM, O.; OH, H.-G. Anti-obesity and anti-diabetic effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. **Laboratory Animal Research**, v. 28, n. 1, p. 23–29, 2012.

KIM, J.; PARK, J.; LIM, K. Nutrition Supplements to Stimulate Lipolysis: A Review in Relation to Endurance Exercise Capacity. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 62, n. 3, p. 141–161, 2016. Disponível em: <[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jnsv/62/3/62\\_141/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jnsv/62/3/62_141/_article)>.

LIMA, N. S.; FRANCO, J. G.; SILVA, N. P.; MAIA, L. A.; KAEZER, A.; FELZENSZWALB, I.; OLIVEIRA, E.; MOURA, E. G.; LISBOA, P. C. *Ilex paraguariensis* (yerba mate) improves endocrine and metabolic disorders in obese rats primed by early weaning. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 1, p. 73–82, 2014.

MARINS, J. C. B. **Hidratação na atividade física e no esporte: equilíbrio hidromineral**. 1. ed. Várzea Paulista, SP: Fontoura, 2011.

MATEOS, R.; BAEZA, G.; SARRIÁ, B.; BRAVO, L. Improved LC-MS characterization of hydroxycinnamic acid derivatives and flavonols in different commercial mate (*Ilex paraguariensis*) brands. Quantification of polyphenols, methylxanthines, and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 241, p. 232–241, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.085>>.

MCARDLE, W.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 7° ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2013.

MENG, S.; CAO, J.; FENG, Q.; PENG, J.; HU, Y. Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: A review. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 11, 2013.

MORGAN-MARTINS, M. I.; SILVA, V. S.; LICKS, F.; COLARES, J. R.; SCHEMITT, E. G.; FORGIARINI, L. F.; ROSA, D. P.; MARRONI, N. P. *Ilex paraguariensis* St. Hill (yerba mate) improves the metabolic profile of and protects against oxidative stress in exercised and non-exercised rats. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 4, n. 4, p. 1303–1311, 2013.

NAVEED, M.; HEJAZI, V.; ABBAS, M.; ALI, A.; JILANY, G.; SHUMZAID, M.; AHMAD, F.; BABAZADEH, D. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, p. 67–74,

2018a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.064>>.

NAVEED, M.; HEJAZI, V.; ABBAS, M.; KAMBOH, A. A.; KHAN, G. J.; SHUMZAID, M.; AHMAD, F.; BABAZADEH, D.; FANGFANG, X.; MODARRESI-GHAZANI, F.; WENHUA, L.; XIAOHUI, Z. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 97, p. 67–74, 2018b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.064>>.

OLIVEIRA, D. M.; FREITAS, H. S.; SOUZA, M. F. F.; ARÇARI, D. P.; RIBEIRO, M. L.; CARVALHO, P. O.; BASTOS, D. H. M. Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) aqueous extract decreases intestinal SGLT1 gene expression but does not affect other biochemical parameters in alloxan-diabetic Wistar rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 22, p. 10527–10532, 2008.

ONG, K. W.; HSU, A.; TAN, B. K. H. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by AMPK activation. **Biochemical Pharmacology**, v. 85, n. 9, p. 1341–1351, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2013.02.008>>.

PENG, B. J.; ZHU, Q.; ZHONG, Y. L.; XU, S. H.; WANG, Z. Chlorogenic Acid Maintains Glucose Homeostasis through Modulating the Expression of SGLT-1, GLUT-2, and PLG in Different Intestinal Segments of Sprague-Dawley Rats Fed a High-Fat Diet. **Biomedical and environmental sciences : BES**, v. 28, n. 12, p. 894–903, 2015.

PFEIFFER, B.; COTTERILL, A.; GRATHWOHL, D.; STELLINGWERFF, T.; JEUKENDRUP, A. The effect of carbohydrate gels on gastrointestinal tolerance during a 16-km run. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 19, n. 5, p. 485–503, 2009.

PHILIPPI, S. **Tabela de composição dos alimentos: suporte para decisão nutricional**. 5<sup>o</sup> ed. Barueri: Manole, 2015.

RESENDE, P.; KAISER, S.; PITTOL, V.; HOEFEL, A.; SILVA, R.; MARQUES, C.; KUCHARSKI, L.; ORTEGA, G. Influence of crude extract and bioactive fractions of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (yerba mate) on the Wistar rat lipid metabolism. **Journal of Functional Foods**, v. 15, p. 440–451, 2015.

ROMIJN, J.; COYLE, E.; SIDOSSIS, L.; GASTALDELLI, A.; HOROWITZ, J.; ENDERT, E.; RR, W. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. **American Journal of Physiology**, v. 265,

p. E 380-91, 1993.

SILVEIRA, T. F. F. da; MEINHART, A. D.; SOUZA, T. C. L. de; TEIXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. T. Phenolic compounds from yerba mate based beverages - A multivariate optimisation. **Food Chemistry**, v. 1, n. 190, p. 1159–1167, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.031>>.

SINGULANI, M. P.; SANTOS, L. F.; CHAVES NETO, H. A.; MELLO, W. G. De; MORAIS, S. R. L.; DORNELLES, R. de C. M.; NAKAMUNE, A. C. de M. S. Chá mate melhora resistência à natação e reduz o dano oxidativo induzido pelo exercício em ratos submetidos à única sessão de natação. **Archives of Health Investigation**, v. 3, n. 1, p. 68–76, 2014.

STORER, T. W.; DAVIS, J. A.; CAIOZZO, V. J. Accurate prediction of VO<sub>2</sub>max in cycle ergometry. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 22, n. 5, p. 704–712, 1990.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4º ed. Campinas: NEPA - UNICAMP, 2011.

VAN DIJK, A. E.; OLTHOF, M. R.; MEEUSE, J. C.; SEEBUS, E.; HEINE, R. J.; VAN DAM, R. M. Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance. **Diabetes Care**, v. 32, n. 6, p. 1023–1025, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO Consultation (WHO Technical Report Series, 894). **World Health Organization technical report series**, v. 894, n. i–xii, p. 1–253, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diretrizes da oms para a tiragem de sangue: boas práticas em flebotomia**. Geneva: World Health Organization, 2010.

## CAPÍTULO 3

### EFEITOS DO CONSUMO DE CHÁ-MATE (*Ilex paraguariensis*) PRÉ-EXERCÍCIO SOBRE BIOMARCADORES DE DANO MUSCULAR E ESTRESSE OXIDATIVO

#### Resumo

Compostos fenólicos tem um potencial efeito para reduzir o dano muscular induzido pelo exercício e atenuar o estresse oxidativo, devido a sua alta capacidade antioxidante. Nesse sentido, o chá-mate, bebida produzida a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) torrada, parece ser uma opção interessante, por apresentar vários compostos fenólicos. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do consumo de chá-mate pré-exercício sobre biomarcadores de dano muscular e estresse oxidativo em homens expostos ao exercício contínuo em cicloergômetro. Treze homens saudáveis e ativos participaram, de maneira randomizada, de duas etapas experimentais: ingestão de café da manhã e chá-mate (CMC), e café da manhã (CM). Os participantes consumiam a refeição matinal e permaneciam em repouso por 60 min antes de iniciarem um exercício em cicloergômetro a 65% do volume máximo de oxigênio ( $VO_{2max}$ ) com duração de 60 min. Foram coletados os seguintes parâmetros durante os tratamentos: bioquímicos para análise do dano muscular (creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT)) e para análise do estresse oxidativo (enzimas antioxidantes, capacidade antioxidante total do plasma (FRAP), malondealdeído (MDA) e ácido úrico (AU)) e índice de percepção do esforço (IPE). As concentrações de LDH e AST imediatamente após o exercício foram maiores que os valores observados no jejum durante o tratamento CM. Observou-se que o valor de FRAP obtido logo após o exercício foi maior àquele obtido no jejum no tratamento CMC. O IPE avaliado aos 5 e 45 min do exercício no tratamento CM foi maior quando comparado aos mesmos tempos no tratamento CMC. Não foram observadas diferenças significantes entre as duas etapas experimentais ou entre os momentos em cada etapa para os parâmetros de CK, ALT, MDA e AU. O consumo de chá-mate uma hora antes do exercício contínuo em cicloergômetro exerceu efeito protetor sobre o dano muscular e aumentou a capacidade antioxidante plasmática total.

**Palavras-chave:** espécies reativas de oxigênio, compostos fenólicos, antioxidantes, erva-mate

## **Effects of mate tea consumption (*Ilex paraguariensis*) pre-exercise on muscle damage biomarcators and oxidative stress**

### **Abstract**

Phenolic compounds have a potential effect to reduce exercise-induced muscle damage and attenuate oxidative stress due to its high antioxidant capacity. In this sense, mate tea, a beverage produced from an infusion of roasted yerba mate (*Ilex paraguariensis*), might be an interesting option, because it presents several phenolic compounds. The objective of this study was to evaluate the effects of pre-exercise mate tea consumption on muscle damage and oxidative stress biomarkers in men exposed to continuous exercise on cycle ergometer. Thirteen healthy active men participated in a randomized, two experimental trials: breakfast and mate tea (BT), and breakfast (B). The participants consumed the meal and remained resting for 60 min before starting a cycle ergometer exercise at 65% of the maximum oxygen uptake ( $VO_{2max}$ ) for up to 60 min. The following parameters were collected during the trials: biochemical for to analyse of muscle damage (creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT)) and oxidative stress (antioxidant enzymes, total antioxidant capacity of plasma (FRAP), malondealdehyde (MDA) and uric acid (UA)) and ratings of perceived exertion (RPE). The concentrations of both LDH and AST immediately after exercise were higher than during fasting in the B trial. It was observed that the value of FRAP obtained soon after exercise was higher than that obtained in the fasting in the B trial. The RPE assessed at either 5 and 45 min of exercise were higher in the B test when compared to the BT test. No significant differences were observed between the two experimental trials or between the time points evaluated in each trial for CK, ALT, MDA and UA. The consumption of mate tea one hour prior continuous exercise on cycle ergometer increased protection against muscle damage and total plasma antioxidant capacity.

**Keywords:** reactive oxygen species, phenolic compounds, antioxidants, yerba mate.

## 1. Introdução

O exercício físico causa danos musculares devido, principalmente, aos movimentos excêntricos, o que resulta em extravasamento de proteínas intracelulares para a corrente sanguínea (MALAGUTI; ANGELONI; HRELIA, 2013). A extensão do dano muscular depende de vários fatores, entre eles, idade, nível de condicionamento físico e estado nutricional do indivíduo, refeição que precede a prática esportiva e a carga de exercício realizada.

Ao mesmo tempo, a prática de exercício físico está relacionada à elevação do consumo de oxigênio, podendo aumentar de 10 a 20 vezes o consumo de oxigênio total. Por sua vez, o tecido muscular ativo também aumenta a captação de oxigênio da corrente sanguínea, especialmente no exercício aeróbico, devido ao aumento da sua demanda de energia. Esse aumento do consumo de oxigênio proporciona a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), o que pode ocasionar estresse oxidativo no organismo (YAVARI et al., 2015).

O estresse oxidativo ocorre quando há exacerbada formação de EROs ou insuficiência do sistema antioxidante do organismo, tais como baixos níveis de enzimas de defesa antioxidante (superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase, glutathione reductase e glutathione S-transferase (GST)) e/ou antioxidantes não enzimáticos (glutathione e ácido úrico). As consequências do estresse oxidativo incluem vários danos em lipídeos, proteínas e DNA (PINGITORE et al., 2015). Além disso, o estresse oxidativo pode promover a progressão do dano muscular gerado pelo exercício, produzindo dor, lesão e até disfunção do tecido (MYBURGH, 2014). Essas respostas de forma crônica durante um longo período de treino têm potencial efeito para reduzir o desempenho do atleta.

Há evidências de que a ingestão de antioxidantes exógenos provenientes da alimentação, especialmente os compostos fenólicos, podem reduzir o dano muscular induzido pelo exercício e atenuar o estresse oxidativo, devido a sua alta capacidade antioxidante (AMMAR et al., 2017; SANGUIGNI et al., 2017; NARCISO et al., 2018). Yavari et al. (2015) ressaltam, ainda, que os compostos fenólicos são os antioxidantes adequados a serem utilizados em associação com o exercício, pois, ao contrário das outras fontes antioxidantes, esses compostos auxiliam na melhoria do padrão *redox* mitocondrial induzido pelo exercício. Nesse sentido, o chá-mate, bebida produzida a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) torrada, parece ser uma opção

interessante, por apresentar vários compostos fenólicos, tais como os ácidos fenólicos e flavonoides (PANZA et al., 2016).

A erva-mate é uma planta nativa da América Latina, amplamente utilizada pela medicina popular e muito consumida no Brasil como bebida quente ou fria, devido as suas propriedades terapêuticas e seu sabor característico (MORGAN-MARTINS et al., 2013). Com base em suas propriedades antioxidantes, a erva-mate pode apresentar efeito positivo para os praticantes de exercício, sendo assim uma interessante linha de investigação.

No entanto, até essa data, nenhum ensaio clínico avaliando os efeitos do consumo agudo da erva-mate nas suas formas habituais de consumo, como o chá-mate, sobre biomarcadores de dano muscular e estresse oxidativo, foi divulgado. De forma geral, há deficiência de estudos sobre os efeitos da ingestão de chá-mate em humanos associado ao exercício. Em uma busca no pubmed, por exemplo, empregando os descritores “*mate tea*” combinado com “*exercise*” utilizando filtro para ensaio clínico, foram observados 3 estudos.

Tendo em vista a escassez de estudos com chá-mate e considerando que essa bebida constitui-se uma fonte expressiva de compostos antioxidantes que podem ser benéficos para reduzir o estresse oxidativo e dano muscular provocados pelo exercício, torna-se necessária a realização de estudos para ampliar o conhecimento sobre o tema. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do consumo de chá-mate pré-exercício sobre biomarcadores de dano muscular e estresse oxidativo em homens expostos ao exercício contínuo em cicloergômetro.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Delineamento experimental do estudo**

Trata-se de um estudo *crossover*, no qual os voluntários foram randomizados em duas etapas experimentais: ingestão de café da manhã e chá-mate (CMC), e apenas café da manhã (CM). Tais etapas foram separadas entre si por um intervalo de sete dias.

As duas etapas experimentais foram conduzidas no Laboratório de Performance Humana (LAPEH) localizado nas dependências do Departamento de Educação Física (DES) da Universidade Federal de Viçosa (UFV, Brasil).

Os avaliados compareceram ao laboratório em quatro ocasiões diferentes, a saber: 1ª visita) Orientações sobre as sessões experimentais, preenchimento de questionários de recrutamento, avaliação antropométrica e teste para determinação do volume máximo de oxigênio ( $VO_{2max}$ ); 2ª visita) Teste de familiarização com o protocolo do estudo, no qual foi testada a adaptação ao cicloergômetro e aos instrumentos de avaliação; 3ª e 4ª visitas) Realização dos protocolos experimentais.

Os voluntários foram orientados a se absterem de atividades físicas extenuantes e do consumo de álcool, chá e café nas 24 h anteriores a cada etapa experimental. Além disso, para garantir que os voluntários chegassem ao laboratório euhidratados, eles foram orientados a ingerir 600 mL de água durante a última hora antes de dormir no dia anterior a cada tratamento (CHEUVRONT; KENEFICK, 2014). Durante o experimento, os avaliados mantiveram a dieta e o nível de atividade física constantes.

## 2.2. Participantes

O cálculo amostral foi obtido por meio do *software G\*Power*<sup>®</sup> versão 3.1.9.2, realizado a partir de estudo piloto (dados de dois participantes), utilizando valores de oxidação de gordura, por ser componente importante na avaliação do metabolismo energético. Foi admitido um tamanho de efeito de 0,33, margem de erro  $\alpha$  de 5% e poder de 80%, estimando a necessidade de 12 voluntários.

Para realização do recrutamento de voluntários, a pesquisa foi amplamente divulgada no campus universitário da UFV por meio do site institucional, cartazes afixados no campus e em academias, redes sociais e e-mail encaminhado aos estudantes, assim como a divulgação em eventos de ciclismo da região.

Foram adotados os seguintes critérios de inclusão: indivíduos do sexo masculino, com idade entre 18 e 35 anos, praticantes regulares de exercício físico (no mínimo três vezes por semana com duração mínima de 1 h/dia) com características eminentemente aeróbias há, pelo menos, seis meses, sem evidência de doenças metabólicas, sem aversão ou intolerância aos alimentos do estudo, não usuários de tabaco, álcool, suplementos ou medicamentos que poderiam afetar a capacidade antioxidante do organismo, resposta negativa a todas as perguntas do questionário PAR-Q (*Physical Activity Readiness Questionnaire*) (CHISHOLM et al., 1975) (Anexo I), risco coronariano abaixo da média (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2013) (Anexo II), percentual de gordura menor que 25%, Índice de Massa Corporal (IMC)

entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup> e VO<sub>2max</sub> acima de 45 mL(kg.min)<sup>-1</sup>. Assim, inicialmente, 20 indivíduos foram selecionados para participarem da pesquisa.

Todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), concordando em participar voluntariamente no estudo (Apêndice II). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa - MG (parecer nº 1.481.640/2016), sob o número de registro na plataforma Brasil 53457715.1.0000.5153, atendendo assim a legislação brasileira de pesquisa com seres humanos – Portaria 466/12. (Anexo III).

### **2.2.1. Avaliação antropométrica e da composição corporal**

A massa corporal (MC) foi aferida utilizando balança eletrônica digital da marca Filizola<sup>®</sup> (Filizola S.A., São Paulo, Brasil), usando o mínimo de roupa possível. A estatura foi avaliada utilizando estadiômetro vertical milimetrado da marca Sanny<sup>®</sup> (American Medical do Brasil Ltda, São Bernardo do Campo, Brasil). Para a determinação da MC e estatura, os indivíduos estavam descalços, de pé, em posição firme, com os braços relaxados e cabeça no plano horizontal. O IMC foi calculado (BRAY; GRAY, 1988) e classificado de acordo com os pontos de corte preconizados pela WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

A composição corporal foi avaliada por meio do método de absorptometria radiológica de dupla energia (*Dual Energy X-ray Absorptiometry* - DEXA) (GE Healthcare<sup>®</sup>, Lunar Prodigy Advance, United Kingdom) e *software* Encore (GE Lunar's *software plataforma*) versão 2010. O exame era realizado entre 8 e 11 h da manhã, segundo a disponibilidade do avaliado, por técnico habilitado e treinado com o indivíduo deitado em decúbito dorsal e imóvel sobre a mesa, trajando roupas leves, sem adereços metálicos, em jejum de 12 h e após esvaziar a bexiga.

Antes da avaliação da composição corporal, os participantes foram orientados a não realizar exercício físico e consumo de álcool nas últimas 12 e 48 h anteriores ao exame, respectivamente (BARBOSA, 2006).

### **2.2.2. Avaliação da capacidade aeróbica**

Os participantes realizaram um teste de intensidade progressiva em cicloergômetro eletromagnético (Scifit<sup>®</sup>, ISO 1000, Berkshire, Reino Unido) para determinação de VO<sub>2max</sub>, aplicado por um profissional de educação física treinado. Nesse teste, após 3 min de aquecimento a 35 watts, foram empregados estágios

múltiplos, iniciando com carga de 50 watts e aumentando 20 watts.min<sup>-1</sup>, enquanto o voluntário pedalava continuamente a 65 RPM (Rotações por minuto) (STORER; DAVIS; CAIOZZO, 1990). O ar expirado foi continuamente analisado para oxigênio e gás carbônico usando um analisador de gases metabólicos (MedGraphics®, Ultima™, Saint Paul, EUA) e o *software Breeze Suite 7.2.0.64*.

O exercício continuou até que o indivíduo fosse incapaz de continuar, mesmo sendo encorajado pelo avaliador. O VO<sub>2max</sub> foi estabelecido seguindo os critérios propostos por Howley, Bassett e Welch (1995). O teste era interrompido a qualquer sintoma ou sinal limitante, conforme os critérios de interrupção descritos nas diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para a realização de testes ergométricos (MENEGHELO et al., 2010). A informação obtida nesse teste foi usada para determinar a intensidade do exercício utilizada nas etapas experimentais. Além disso, a altura do selim foi registrada nessa visita e reaplicada nas visitas subsequentes. Os testes foram realizados em condições ambientais laboratoriais similares, controlando a temperatura do ar (21,65 ± 1,9 °C), pressão barométrica (707,85 ± 2,15 mmHg) e umidade relativa (68,36 ± 2,88 %UR), proporcionando um ambiente confortável, segundo o diagrama de conforto humano, fornecido pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET, 2018).

### **2.2.3. Avaliação da ingestão alimentar e controle dietético**

A ingestão alimentar habitual foi avaliada a partir de registro alimentar de 3 dias não consecutivos, sendo dois dias da semana e um dia de final de semana (CINTRA et al., 1997). Para isso, os voluntários foram orientados a realizar um registro fotográfico e descrever os tipos e quantidades dos alimentos consumidos (Apêndice III).

Cada registro alimentar foi revisado na presença do voluntário para garantir sua precisão. As quantidades, em medidas caseiras, dos alimentos ingeridos foram convertidas em gramas e a ingestão calórica, de vitaminas (A, C e E) e de minerais (zinco, cobre, selênio e manganês) foram analisadas por um Nutricionista utilizando o *software Avanutri*® versão 4.0 (Três Rios, Rio de Janeiro, Brasil), priorizando as seguintes tabelas de composição química de alimentos: Philippi (2015) e TACO (2011). As quantidades de micronutrientes consumidas foram analisadas e comparadas aos valores de referência para ingestão diária de nutrientes (DRIs - *Dietary Reference Intakes*) (INSTITUTE OF MEDICINE, 2000, 2001, 2005).

O controle da dieta do dia anterior a cada etapa também foi realizado. Para isso, os voluntários foram orientados a registrar sua alimentação do dia anterior a primeira etapa e a repetir esta mesma dieta no dia anterior a outra etapa.

### **2.3. Estimativa da capacidade antioxidante total da dieta (CATd)**

A CATd resultou da multiplicação da quantidade de alimento, bebida ou suplemento consumido em cada registro alimentar pelo valor da capacidade antioxidante correspondente, sendo posteriormente somados todos os valores das fontes alimentares (OKUBO et al., 2014). A capacidade antioxidante de cada item alimentar consumido, medido pelo método *ferric reducing antioxidant power* (FRAP), foi obtido do banco de dados publicados por Carlsen et al. (2010) e Koehnlein et al. (2014). O ensaio FRAP mede a redução de ferro na presença de antioxidantes, e expressa como mmol de equivalentes de trolox (análogo hidrossolúvel da vitamina E) por 100 gramas de alimento (mmolTE /100g).

A CATd foi calculada para cada registro alimentar obtido na avaliação da ingestão alimentar habitual e o valor médio dos três registros foi atribuído a CATd de cada indivíduo.

### **2.4. Protocolo experimental**

Os voluntários chegavam ao laboratório após 10 h de jejum, sempre no mesmo horário do dia, entre 7 e 8 h da manhã. Após 10 min de repouso, era realizada a coleta sanguínea para as determinações bioquímicas. Na sequência, os participantes eram instruídos a ingerir, dentro de 15 min, o café da manhã com chá-mate ou água, de acordo com a etapa em que estavam. A fim de fornecer o mesmo volume de líquido nas duas etapas experimentais e minimizar a diferença no volume gástrico, nos tratamentos CMC e CM eram fornecidos 400 mL de chá-mate e água, respectivamente. Em seguida, os voluntários permaneciam em repouso por mais 60 min com o nível de atividade física mínimo. A Figura 1 apresenta de forma esquemática as ações experimentais realizadas no estudo.

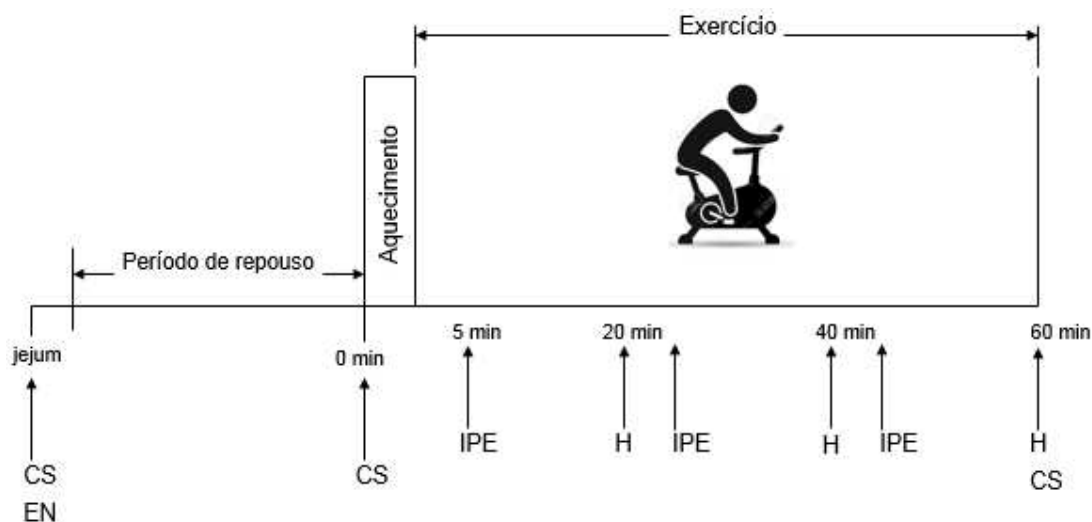


Figura 1. Representação esquemática do protocolo experimental. Nota: CS = Coleta Sanguínea, EN = Estratégia Nutricional, IPE = Índice de percepção de esforço, H = Hidratação.

Transcorrido o período pós-prandial, os voluntários realizaram 5 min de aquecimento a 55% do  $VO_{2max}$  em cicloergômetro (Scifit®, modelo ISO 1000, Berkshire, Reino Unido). Posteriormente, a intensidade do exercício foi aumentada para 65% do  $VO_{2max}$  e o exercício continuou por mais 60 min, mantendo a cadência constante a 65 RPM durante todos os testes.

Durante o exercício, foram fornecidos 3 mL de água por quilograma de peso corporal a cada 20 min (MARINS, 2011). Todos os testes foram realizados em condições ambientais laboratoriais similares, controlando a temperatura do ar ( $21,31 \pm 2,1$  °C), pressão barométrica ( $707,35 \pm 2,58$  mmHg) e umidade relativa ( $69,42 \pm 3,72$  %UR).

## 2.5. Preparo do chá-mate e café da manhã

O chá-mate em pó solúvel foi escolhido para ser utilizado nesse estudo, pois conforme os resultados obtidos no capítulo 1, esse chá foi o que apresentou maior teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante comparado aos outros chás analisados, chá-mate em sachê e a granel.

O chá foi preparado no dia de cada etapa experimental, dissolvendo 5 g de chá-mate solúvel da empresa Mate Leão Jr® (Leão Jr Co., Curitiba, PR, Brasil) em 400 mL de água filtrada a 96 °C, sem adição de açúcar. O mesmo lote do chá foi utilizado durante todo o experimento.

O café da manhã fornecido aos participantes apresentava 15% da necessidade energética do voluntário, a qual foi avaliada por meio dos registros alimentares descritos anteriormente (INSTITUTE OF MEDICINE, 2005) (Tabela 1). Dessa forma, os alimentos foram pesados individualmente para atender à necessidade energética de cada voluntário e o percentual de macronutrientes foi adequado em relação à faixa de distribuição aceitável de macronutrientes (AMDR - *Acceptable Macronutrient Distribution Ranges*) (INSTITUTE OF MEDICINE, 2005). O café da manhã foi composto por pão de forma integral, requeijão light, leite semidesnatado, achocolatado e banana (anexo IV). Todos os alimentos do café da manhã foram adquiridos no mesmo estabelecimento comercial e preparados no LAPEH.

Tabela 1- Composição de macronutrientes, fibras e calorias apresentado pelo café da manhã.

Composição nutricional	Média ± DP
Carboidratos (g)	57,37 ± 15,21
Proteínas (g)	14,83 ± 3,91
Lipídios (g)	8,82 ± 2,38
Fibras (g)	3,54 ± 2,38
Calorias (kcal)	368,42 ± 97,98

DP = desvio padrão

## 2.6. Avaliações bioquímicas

As amostras sanguíneas foram coletadas em jejum, aos 0 min, 60 min e 24 h após o exercício, seguindo as normas de biossegurança estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde, realizada por técnico de enfermagem habilitado (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010). As coletas de sangue foram realizadas em veias do antebraço esquerdo ou direito, utilizando seringa descartável de 20 mL e tubos *vacutainer*. Coletou-se 10 mL de sangue, os quais foram colocados em tubos soro gel. Dessa coleta, 2 mL foram centrifugados a 3000 RPM a 4 °C por 10 min, transferidos para tubos Eppendorf e congelados a -80 °C para análise posterior de enzimas antioxidantes, malondialdeído (MDA) e FRAP.

Análises de lactato desidrogenase (LDH - método cinética UV), ácido úrico (AU - método enzimático colorimétrico), aspartato aminotransferase (AST - método cinética UV) e alanina aminotransferase (ALT - método cinética UV) foram realizadas

no dia da etapa experimental por técnicos no Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde (LACDSA) da UFV. Para realização da análise de creatina quinase (CK - método enzimático colorimétrico) foi realizada outra coleta de sangue no LACDSA 24 h após a realização do exercício. As faixas de normalidade para cada parâmetro sanguíneo foram estabelecidas de acordo com os valores de referência fornecidos pelo LACDSA (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores de referência para os parâmetros bioquímicos

Parâmetro bioquímico	Valores de referência*
Creatina quinase	24 a 195 U/L
Lactato desidrogenase	200 a 480 U/L
Ácido úrico	2,5 a 7,0 mg/dL
Aspartato aminotransferase	Até 38 U/L
Alanina aminotransferase	Até 40 U/L

\*Valores de referência utilizados pelo Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde (Universidade Federal de Viçosa)

### 2.6.1. Análise da capacidade antioxidante total do plasma

A capacidade antioxidante total do plasma foi avaliada por meio da medida do potencial antioxidante redutor férrico (FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Potential*), conforme o método descrito por Benzie e Strain (1996). Nesse ensaio, os antioxidantes presentes no plasma foram avaliados como redutores do  $Fe^{+3}$ , o qual é quelado pela 2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) para formar o complexo  $Fe^{+2}$ -TPTZ, de cor azul intensa e absorção máxima a 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996). Para efetuar a análise, uma alíquota de 10  $\mu$ L da amostra foi incubada no escuro, por 30 min com 220  $\mu$ L de solução FRAP (tampão acetato de sódio 0,3 mol/L, TPTZ 10 mmol/L e  $FeCl_3$  20 mmol/L, na proporção de 10:1:1). A absorbância foi estimada em 593 nm (Thermo Scientific<sup>®</sup>, modelo Multiskan GO, Finlândia). Os resultados foram calculados utilizando Trolox como padrão e expressos em  $\mu$ mol.L<sup>-1</sup>.

### 2.6.2. Malondialdeído

A concentração de MDA foi medida pelo método de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), de acordo com metodologia proposta por Buege e Aust (1978).

O método baseia-se na capacidade do MDA, quando aquecido juntamente com o ácido tiobarbitúrico em condições ácidas, de formar um produto de coloração rosa que pode ser mensurado por espectrofotometria. Resumidamente, ao plasma foi acrescentado a solução que continha ácido tricloroacético e tiobarbitúrico (solução de TBARS). A reação foi mantida em banho-maria a 90 °C por 40 min. Após centrifugação a 3500 RPM por 5 min, o sobrenadante foi utilizado para leitura em espectrofotômetro (Thermo Scientific®, modelo Multiskan GO, Finlândia) a 535 nm.

A concentração de MDA foi obtida por meio de uma curva padrão de TMPO (1,1,3,3 tetramethoxypropane) e os dados foram expressos em  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .

### **2.6.3. Determinação da atividade das enzimas antioxidantes (glutathione-S-transferase e catalase)**

A atividade da GST foi determinada segundo Habig, Pabst e Jakoby (1974) adaptado. Esse método baseia-se na habilidade da GST de metabolizar o 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB), conjugando com a glutathione reduzida (GSH). Assim, ao plasma foi adicionado CDNB (Sigma Aldrich®, EUA) e a GSH (Sigma Aldrich®, EUA) para a leitura em espectrofotômetro (Thermo Scientific®, modelo Genesys 10S UV-Vis, Finlândia) a 340 nm, durante 60 s. O coeficiente de extinção molar de 9,6 mmol/cm foi usado para calcular a concentração da GST, sendo expressa em  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$  de plasma.

A atividade da CAT foi avaliada conforme descrito por Hadwan e Abed (2016), com pequenas modificações. Em resumo, as amostras (5  $\mu\text{L}$ ) foram incubadas com 100  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (20 mmol/L) em solução de tampão fosfato de sódio-potássio a 50 mmol/L, pH 7,4 a 37 °C por 3 min. A reação foi interrompida pela adição de 150  $\mu\text{L}$  molibdato de amônia a 32,4 mmol/L. Os testes controle continha todos os reagentes, com exceção do  $\text{H}_2\text{O}_2$ , o qual foi substituído pelo tampão fosfato. A absorbância do complexo amarelo formado entre o molibdato e o  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi lida a 374 nm usando um leitor de microplacas (Thermo Scientific®, modelo Multiskan GO, Finlândia). A concentração da enzima foi expressa em kU de catalase/mL de amostra.

### **2.7. Avaliação do índice de percepção do esforço (IPE)**

O IPE é uma escala psicométrica de valores que representam a sensação do esforço percebido pelo avaliado para a realização de certo esforço físico. O IPE foi

mensurado aos 5, 25 e 45 min durante o exercício, utilizando a escala de Borg (1982) (Anexo VI).

### **2.8. Análises estatísticas**

Todas as variáveis apresentadas foram testadas quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Os valores são apresentados como médias e desvios padrão.

Os dados de energia, macronutrientes, vitaminas C e E de cada etapa experimental foram comparados utilizando o teste t pareado, e para os dados de vitamina A e minerais foi utilizado o teste de Wilcoxon, pois os dados não apresentaram distribuição normal.

Para comparação dos parâmetros bioquímicos e IPE foi utilizada análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas de duas vias (tratamento e tempo). O teste post hoc de Bonferroni foi aplicado para identificar diferenças em cada ponto de tempo.

Em todas as análises foi adotado um nível de significância estatístico de 5%, sendo conduzidas no *software* SPSS versão 22 (SPSS Inc, Chicago, Estados Unidos).

### **3. Resultados**

Dos 20 participantes selecionados para compor a amostra do estudo, seis desistiram de participar e um foi eliminado por não seguir o protocolo pré-teste. Dessa forma, 13 voluntários completaram o estudo, apresentando as seguintes características:  $25,38 \pm 5,53$  anos, com  $177,65 \pm 0,05$  cm de estatura,  $70,35 \pm 6,11$  kg de MC,  $14,84 \pm 4,84$  % de gordura e  $54,52 \pm 4,02$  mL.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> de VO<sub>2max</sub>.

Com exceção do zinco, o consumo médio diário de vitaminas e minerais antioxidantes pelos voluntários estava adequado as recomendações (Tabela 3).

Tabela 3 - Consumo dietético habitual de vitaminas, minerais e capacidade antioxidante total da dieta (CATd) dos voluntários.

Consumo	Média ± DP	DRIs	Adequação às DRIs
Vitamina A (µg/dia)	970,79 ± 526,34	625	Acima
Vitamina C (mg/dia)	130,59 ± 90,20	75	Acima
Vitamina E (mg/dia)	22,38 ± 14,36	12	Acima
Zinco (mg/dia)	8,01 ± 3,45	9,4	Abaixo
Cobre (mg/dia)	1,22 ± 0,43	0,7	Acima
Selênio (µg/dia)	99,17 ± 47,89	55	Acima
Manganês (mg/dia)	2,44 ± 1,31	2,3	Acima
CATd (mmol/dia)	8,39 ± 4,36	--	--
CATd sem café (mmol/dia)	5,05 ± 1,63	--	--

DP = Desvio padrão, DRIs = *Dietary Reference Intakes*, CATd = Capacidade antioxidante total da dieta

A CATd média foi de 8,39 mmol/dia considerando todos os alimentos e 5,05 mmol/dia sem a contribuição do café. Observou-se que o grupo do café foi o que mais contribuiu para a estimativa da CATd, representando 60,19% da CATd total. É importante ressaltar que os voluntários não utilizavam suplementos antioxidantes, assim, a CATd só corresponde a itens alimentares.

Não foi observada diferença significativa no consumo calórico total, na composição de macronutrientes, minerais e vitaminas E e C da dieta consumida pelos participantes no dia anterior a cada etapa experimental. No entanto, o consumo de vitamina A antes do tratamento CM foi maior comparado ao tratamento CMC (Tabela 4).

Tabela 4 - Ingestão calórica, de macronutrientes, vitaminas e minerais pelos participantes no dia anterior a cada etapa experimental.

Consumo	Etapa experimental	
	CMC	CM
Energia (kcal)	2325,06 ± 554,09	2301,46 ± 483,06
Carboidratos (%)	52,83 ± 6,29	51,38 ± 4,61
Lipídeos (%)	30,55 ± 6,26	31,72 ± 6,19
Proteínas (%)	16,62 ± 4,59	16,90 ± 4,43
Vitamina C (mg/dia)	184,34 ± 159,56	177,93 ± 150,68
Vitamina A (µg/dia)	1439,36 ± 1734,17 <sup>a</sup>	1666,75 ± 1681,81 <sup>b</sup>
Vitamina E (mg/dia)	24,49 ± 17,24	23,76 ± 17,42
Zinco (mg/dia)	6,83 ± 2,20	6,90 ± 1,83
Cobre (mg/dia)	1,11 ± 0,29	1,12 ± 0,30
Selênio (µg/dia)	83,89 ± 26,25	80,51 ± 30,36
Manganês (mg/dia)	2,48 ± 0,82	2,28 ± 0,64

CMC = café da manhã e chá-mate, CM = café da manhã. Os valores representam a média ± desvio padrão. Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si, pelo teste de Wilcoxon ao nível de 5% de probabilidade.

Não foi verificada diferença significativa nos valores de CK, LDH, AU, AST e ALT entre as duas etapas experimentais em repouso e nos outros momentos de controle (Tabela 5).

Na análise temporal, foi identificado que as concentrações de LDH e AST imediatamente após o exercício foram maiores que os valores observados no jejum (valor basal) durante o tratamento CM (Tabela 5). Houve aumento de 7,65% e 8,95% para LDH e AST nesse tratamento, respectivamente.

Tabela 5 - Parâmetros bioquímicos observados durante os momentos nas duas etapas experimentais.

Parâmetro bioquímico	Etapa experimental	Jejum	Exercício		24 horas
			0 min	60 min	
CK (U/L)	CMC	164,91 ± 88,69	--	--	153,36 ± 68,54
	CM	176,79 ± 113,33	--	--	217,01 ± 130,09
LDH (U/L)	CMC	328,69 ± 66,16	--	342,31 ± 63,09	--
	CM	326,24 ± 73,50 <sup>a</sup>	--	351,21 ± 88,68 <sup>b</sup>	--
AU (mg/dL)	CMC	4,35 ± 1,19	4,35 ± 1,16	4,18 ± 1,06	--
	CM	4,37 ± 1,55	4,52 ± 1,86	4,48 ± 1,80	--
AST (U/L)	CMC	28 ± 6,10	--	29,92 ± 4,57	--
	CM	30,49 ± 11,04 <sup>a</sup>	--	33,22 ± 12,20 <sup>b</sup>	--
ALT (U/L)	CMC	20,54 ± 8,56 <sup>a</sup>	--	22,08 ± 7,85 <sup>b</sup>	--
	CM	19,92 ± 5,50 <sup>a</sup>	--	21,65 ± 7,17 <sup>b</sup>	--

CK = creatina quinase, LDH = lactato desidrogenase, AU = ácido úrico, AST = aspartato aminotransferase, ALT = alanina aminotransferase, CMC = café da manhã e chá-mate, CM = café da manhã. Os valores representam a média ± desvio padrão. Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si, pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade. Não houve diferença significativa entre as etapas experimentais, CMC e CM, para os parâmetros avaliados.

Quanto a concentração de ALT, observou-se que houve aumento significativo ao final dos dois tratamentos (CMC e CM) comparado aos valores de jejum. Em relação a CK e AU não foram identificadas diferenças entre os momentos avaliados nos dois tratamentos (Tabela 5).

Não foram observadas diferenças significantes entre as duas etapas experimentais para FRAP e MDA (Figura 2). Na análise temporal, foi identificado que o valor de FRAP obtido logo após o exercício foi maior àquele obtido no jejum no tratamento CMC, perfazendo um aumento de 12,82% (Figura 2, A).

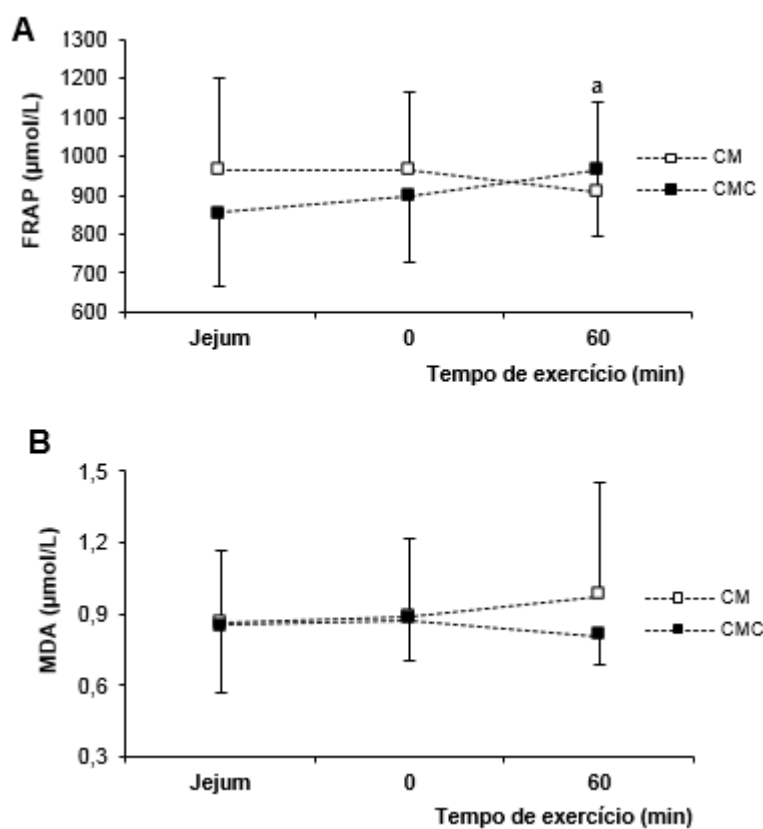


Figura 2 – Potencial antioxidante redutor férrico (FRAP; A), malondialdeído (MDA; B) obtidas em jejum, imediatamente antes e após a realização do exercício nos tratamentos de café da manhã e chá-mate (CMC) e café da manhã (CM). (a) FRAP aos 60 min maior que o valor em jejum no tratamento CMC; ( $P < 0,05$ ; ANOVA para medidas repetidas e teste post hoc de Bonferroni).

A concentração das enzimas antioxidantes, CAT e GST, não diferiram entre as etapas experimentais e entre os momentos jejum, antes e após o exercício nos tratamentos CMC e CM (Tabela 6).

Tabela 6 - Concentração das enzimas antioxidantes observadas durante o jejum, imediatamente antes e após o exercício nas duas etapas experimentais.

Enzimas	Etapa experimental	Jejum	Exercício	
			0 min	60 min
CAT (kU/mL)	CMC	1,72 (0,25; 4,97)	1,14 (0; 1,18)	2,14 (0; 3,43)
	CM	2,50 (0,56; 3,17)	1,50 (0,13; 6,78)	1,92 (0,80; 4,19)
GST ( $\mu$ mol/min/mL)	CMC	85,94 (39,06; 178,82)	80,73 (57,94; 177,73)	57,29 (28,64; 88,54)
	CM	58,59 (14,32; 212,24)	67,71 (44,27; 127,60)	41,67 (18,23; 128,91)

CAT = Catalase, GST = Glutathione S-transferase, CMC = café da manhã e chá-mate, CM = café da manhã. Os valores representam a mediana e intervalo interquartil (IQ25; IQ75). Não houve diferença significativa entre as etapas experimentais, CMC e CM, e os tempos para os parâmetros avaliados pelo teste de ANOVA para medidas repetidas.

O valor de IPE avaliado aos 5 e 45 min do exercício no tratamento CM foi maior quando comparado àquele obtido no tratamento CMC (Figura 3).

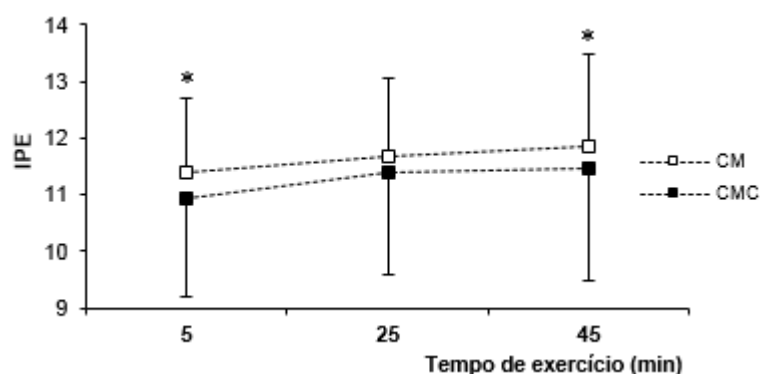


Figura 3 - Índice de percepção de esforço (IPE) obtidos durante a realização do exercício nos tratamentos de café da manhã (CM) e café da manhã e chá-mate (CMC). \*Diferença significativa entre os tratamentos no mesmo tempo; ( $P < 0,05$ ; ANOVA para medidas repetidas e teste post hoc de Bonferroni).

#### 4. Discussão

Um dos objetivos desse estudo foi avaliar o efeito do consumo de chá-mate pré-exercício sobre biomarcadores de dano muscular. Cabe destacar que os valores dos parâmetros bioquímicos observados em repouso (valores em jejum) estavam dentro da faixa de normalidade e não foram diferentes entre as etapas experimentais, apontando que as condições basais de dano muscular dos avaliados eram semelhantes entre os tratamentos e que houve o cumprimento da orientação sobre não realizar atividade física extenuante 24 h antes das etapas experimentais.

O exercício causa alterações bioquímicas e fisiológicas, dentre elas o dano estrutural às células musculares, cuja extensão irá depender da intensidade, duração e frequência da atividade e pode ser evidenciado por aumento da concentração plasmática das enzimas citosólicas, como LDH e CK (MALAGUTI; ANGELONI; HRELIA, 2013). No tratamento com consumo de chá-mate (CMC) foi observado efeito protetor sobre o aumento de LDH, o que pode indicar maior integridade da membrana celular após o exercício nesse tratamento. Resultados semelhantes foram observados no estudo desenvolvido por Costa et al. (2015), no qual o grupo controle apresentou maior LDH 24 h após um exercício intenso em esteira (12 min), quando comparado ao grupo que ingeriu uma cápsula contendo 800 mg de erva-mate 40 min

antes do exercício. A LDH é uma enzima tetramérica, responsável pela conversão reversível de piruvato em lactato, encontra-se no citoplasma da célula e em condições de repouso, sua concentração sérica é baixa (ARAÚJO et al., 2016). No entanto, devido ao dano na fibra muscular imposta pelo exercício físico intenso ocorre o aumento da permeabilidade da membrana, possibilitando a saída de LDH para a corrente sanguínea. Dessa forma, o aumento da concentração dessa enzima no sangue pode ser considerado marcador indireto de lesão nas células musculares (PALACIOS et al., 2015).

Outro biomarcador que aumentou no tratamento CM e não aumentou no tratamento CMC foi o AST, evidenciando também um efeito protetor do chá-mate sobre esse parâmetro. As aminotransferases são enzimas geralmente analisadas no soro para verificar dano e infecções hepáticas, mas também são liberadas pelo músculo ativo e podem estar aumentadas após o exercício, principalmente a AST (MORGAN-MARTINS et al., 2013). Como, normalmente, esta proteína está presente no meio intracelular, citosol ou mitocôndria, a elevação da sua concentração no plasma reflete alteração na permeabilidade na membrana da fibra muscular, indicando indiretamente que houve lesão (HAMMOUDA et al., 2012).

A CK é um outro parâmetro confiável para avaliar aumento no estresse muscular. Sua liberação para corrente sanguínea é lenta, normalmente o pico ocorre em 24 h após o exercício físico e sua concentração apresenta relação direta com a intensidade do exercício (PALACIOS et al., 2015). Considerando esse pressuposto, a intensidade do exercício utilizada nesse estudo, de 65%  $VO_{2max}$ , pode ter sido responsável pela ausência de alteração significativa no valor de CK plasmática observado entre o momento de repouso e 24 h após o exercício, em ambos os tratamentos. Possivelmente, um protocolo de exercício mais intenso promoveria maior número de microlesões musculares, refletido em acentuada elevação da concentração sérica de CK.

Cabe destacar que, a concentração de CK após 24 h do exercício no tratamento CM foi superior à faixa de normalidade (entre 24 e 195 U/L) para indivíduos saudáveis. A manutenção de CK dentro do nível de normalidade com ingestão de chá-mate indica efeito protetor da bebida sobre o dano muscular.

A proteção contra o dano muscular intenso é particularmente importante para aqueles indivíduos que treinam mais de uma vez por dia ou que apresentam atividades

ocupacionais que requer esforço físico, e por isso precisam de uma taxa de recuperação mais rápida da função muscular.

O efeito protetor da ingestão de chá-mate no dano muscular pode ter contribuído para o menor IPE observado no tratamento CMC, uma vez que os efeitos diretos do dano muscular envolvem o aumento da fadiga ao nível de função contrátil (MYBURGH, 2014). De fato, estudo com modelo animal demonstrou que a erva-mate, planta utilizada para produção do chá-mate, apresenta efeito analgésico e estimulante (SANTOS et al., 2015).

Além de um efeito periférico, o menor IPE observado no tratamento CMC também pode ter sido resultado de um efeito sistêmico, considerando a presença de cafeína no chá-mate. O consumo agudo de cafeína antes do exercício aeróbico já foi relacionado à redução do IPE (KAZEMI et al., 2009). A quantidade de cafeína presente no extrato solúvel é de 15 mg/g de chá (BORGES et al., 2013). Trata-se de uma metilxantina que tem ação estimulante no sistema nervoso central, capaz de retardar as dores musculares e aumentar a força contrátil tanto do músculo esquelético quanto do músculo cardíaco, induzindo melhores condições fisiológicas para realização do exercício (PEREIRA et al., 2016).

Durante o exercício físico, especialmente o aeróbico, há uma elevação acentuada do fluxo de oxigênio para os tecidos musculares para atender a demanda energética aumentada. Uma parte desse oxigênio é utilizada para atender a necessidade energética, porém uma outra parte é transformada em EROs. Dessa forma, o músculo ativo é uma fonte geradora de EROs. A eliminação dessas espécies e o combate ao estresse oxidativo depende da defesa antioxidante endógena (enzimática e não enzimática) e exógena (antioxidantes dietéticos) (PINHO; SILVA, 2013; KAWAMURA; MURAOKA, 2018). O presente estudo demonstrou que a ingestão de chá-mate foi capaz de aumentar a capacidade antioxidante total do plasma após 2 horas do seu consumo, o que pode contribuir para reduzir o estresse oxidativo e evitar a progressão do dano na fibra muscular.

Em condições normais, o AU é responsável por aproximadamente 60% da capacidade antioxidante total do plasma no ensaio de FRAP, o qual foi utilizado no presente estudo. No entanto, não houve alteração significativa na concentração sérica de AU após a ingestão do chá-mate, indicando que o aumento na capacidade antioxidante nesse tratamento foi devido aos constituintes do chá (BOAVENTURA et al., 2012).

A capacidade antioxidante do chá-mate pode ser atribuída a sua composição rica em compostos fenólicos, especialmente ácidos clorogênicos e alguns flavonoides. Essas substâncias podem atuar quelando metais ( $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ ) e sequestrando EROs, possui ação especialmente sobre radicais hidroxila e peroxila, ânions superóxidos e peroxinitritos (CAROCHO; FERREIRA, 2013). O potencial antioxidante da erva-mate tem sido reportado em estudos *in vitro* (BOAVENTURA et al., 2012; PERALTA et al., 2013), com modelo animal (MORGAN-MARTINS et al., 2013) e também em humanos (FERNANDES et al., 2012). Dessa forma, o presente estudo reforça esses achados positivos, indicando potencial efeito ergogênico da erva-mate.

Estudos prévios demonstraram que o exercício intenso, mesmo realizado em uma única sessão, pode aumentar as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, como o MDA (SINGULANI et al., 2014; AMMAR et al., 2017). O MDA é um produto da peroxidação lipídica produzida por EROs, cuja a quantificação caracteriza-se por um método indireto de avaliação do estresse oxidativo, uma vez que os EROs são altamente reativos e apresentam uma meia-vida curta, a quantificação desse biomarcador torna possível a identificação do estado redox (KAWAMURA; MURAOKA, 2018). No entanto, nosso estudo não observou aumento significativo desse biomarcador em nenhum dos tratamentos. A intensidade do exercício utilizada no estudo, como discutido anteriormente, assim como o fato do estudo ter sido realizado por indivíduos fisicamente ativos, os quais realizavam treino aeróbico de no mínimo 3 vezes/semana, podem ter contribuído para que não houvesse aumento desse parâmetro. O treinamento regular proporciona uma regulação positiva dos antioxidantes, induzindo um ambiente mais redutor e maior resistência ao estresse (Pingitore et al., 2015). Estudo com modelo animal demonstrou que houve aumento de MDA logo após o exercício em ratos sedentários, mas não houve aumento desse parâmetro em ratos treinados (OZTASAN et al., 2004).

Considerando que os compostos fenólicos podem agir também indiretamente na redução do estresse oxidativo, modulando a atividade de enzimas antioxidantes, uma das hipóteses do estudo foi que após a ingestão de chá-mate ocorreria aumento da atividade das enzimas CAT e GST (MAZANI et al., 2014). No entanto, não houve diferenças significantes entre os tratamentos (CM e CMC) em nenhuma das enzimas plasmáticas analisadas. Esse resultado indica que, embora o chá-mate seja uma bebida com alta capacidade antioxidante, seu consumo de forma aguda não foi suficiente para alterar a atividade das enzimas antioxidantes. Corroborando nosso estudo, Boaventura

et al. (2015) também não observaram aumento da atividade das enzimas antioxidantes após uma hora do consumo de chá-mate (6g de folha/200 mL) por indivíduos de ambos os sexos (2 homens e 29 mulheres). Possivelmente, poderia ocorrer melhora desses parâmetros caso o desenho do estudo fosse com consumo crônico de chá-mate. Panza et al. (2016) observaram aumento de glutathione reduzida após 11 dias de consumo de chá-mate solúvel (1g/200 mL) 3 vezes ao dia, evidenciando que o consumo crônico do chá pode melhorar a defesa antioxidante endógena.

Um ponto importante a ser considerado é o consumo alimentar dos participantes no dia anterior as etapas experimentais. Embora os voluntários tenham sido exaustivamente solicitados a manter a mesma dieta nos dias anteriores as etapas experimentais, o consumo de vitamina A no dia anterior ao tratamento CM foi maior quando comparado ao dia anterior ao CMC. Sabendo que a vitamina A é um composto antioxidante, o maior consumo antes do tratamento CM pode ter contribuído para ausência de diferença nos parâmetros de estresse oxidativo entre este tratamento e o com consumo de chá-mate.

Outra questão que pode ter influenciado nos resultados observados foi a ingestão habitual de vitaminas e minerais antioxidantes, pois os participantes apresentavam uma ingestão adequada desses nutrientes às recomendações, o que pode ter reduzido o impacto da ingestão da bebida na modulação do estresse oxidativo.

Na prática, esse estudo demonstrou que o consumo de chá-mate solúvel (5g/400 mL) uma hora antes do exercício aeróbico de moderada intensidade apresenta um potencial efeito na proteção contra o dano muscular e aumento da capacidade antioxidante plasmática, constituindo-se uma estratégia ergogênica pré-exercício.

Uma limitação do presente estudo foi à ausência da análise do dano muscular e estresse oxidativo no músculo, tecido que é muito utilizado durante o exercício e pode fornecer resultados mais precisos do que os obtidos no plasma. No entanto, a biópsia muscular é um método oneroso e extremamente invasivo para realização em humanos.

Por fim, é possível sugerir o desenvolvimento de novos estudos utilizando outros protocolos de exercício que envolva maior componente excêntrico, como futebol e voleibol, pois esse tipo de atividade física apresenta maior potencial lesional às fibras musculares por haver descolamentos intermitentes em diferentes direções e grande número de colisões. Uma outra linha de investigação poderia considerar também a realização de exercício físico em ambientes mais quentes, o que poderia

gerar desgaste fisiológico adicional ao da atividade física com possibilidade de suscitar maior dano muscular e estresse oxidativo.

## 5. Conclusão

O consumo de chá-mate uma hora antes do exercício contínuo em cicloergômetro exerceu efeito protetor sobre o dano muscular e aumentou a capacidade antioxidante plasmática total, podendo assim ter uma ação benéfica para praticantes de atividade física.

## 6. Referências Bibliográficas

AMMAR, A.; TURKI, M.; HAMMOUDA, O.; CHTOUROU, H.; TRABELSI, K.; BOUAZIZ, M.; ABDELKARIM, O.; HOEKELMANN, A.; AYADI, F.; SOUSSI, N.; BAILEY, S. J.; DRISS, T.; YAICH, S. Effects of Pomegranate Juice Supplementation on Oxidative Stress Biomarkers Following Weightlifting Exercise. **Nutrients**, v. 9, n. 819, p. 1–13, 2017.

ARAÚJO, N. C.; FRANÇA, A. M.; CAMERON, L. C.; MAGALHÃES NETO, A. M. de. Análise de biomarcadores séricos de lesão muscular durante competição de mountain bike. **ConScientiae Saúde**, v. 15, n. 2, p. 266–272, 2016. Disponível em: <<http://www4.uninove.br/ojs/index.php/saude/article/view/6343>>.

BARBOSA, K. B. F. **Métodos para avaliação do consumo alimentar e sua relação com marcadores de risco para a síndrome metabólica em adolescentes do sexo feminino**. 2006. Universidade Federal de Viçosa, 2006.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.

BOAVENTURA, B. C. B.; DA SILVA, E. L.; LIU, R. H.; PRUDÊNCIO SCHWINDEN, E.; PIETRO, P. F. Di; BECKER, A. M.; CASTANHO, R. D. de M. Effect of yerba mate ( *Ilex paraguariensis* A . St . Hil . ) infusion obtained by freeze concentration technology on antioxidant status of healthy individuals. **Food Science and Technology**, v. 62, p. 948–954, 2015.

BOAVENTURA, B. C. B.; PIETRO, P. F. Di; STEFANUTO, A.; KLEIN, G. A.; MORAIS, E. C.; ANDRADE, F.; WAZLAWIK, E.; SILVA, E. L. Association of mate tea ( *Ilex paraguariensis* ) intake and dietary intervention and effects on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. **Nutrition**, v. 28, p. 657–664, 2012.

BORG, G. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 14, n. 5, p. 377–387, 1982.

BORGES, M. C.; VINOLO, M. A. R.; NAKAJIMA, K.; CASTRO, I. A.; BASTOS, D. H. M.; BORELLI, P.; FOCK, R. A.; TIRAPEGUI, J.; CURI, R.; ROGERO, M. M. The effect of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on metabolic and inflammatory parameters in high-fat diet-fed Wistar rats. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 64, n. 5, p. 1–9, 2013.

BRAY, G. A.; GRAY, D. S. Obesity I: pathogenesis. **Journal of Medicine**, v. 149, n. 4, p. 13, 1988.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v. 52, p. 302–310, 1978.

CARLSEN, M. H.; HALVORSEN, B. L.; HOLTE, K.; BØHN, S. K.; DRAGLAND, S.; SAMPSON, L.; WILLEY, C.; SENOO, H.; UMEZONO, Y.; SANADA, C.; BARIKMO, I.; BERHE, N.; WILLETT, W. C.; PHILLIPS, K. M.; JR, D. R. J.; BLOMHOFF, R. The total antioxidant content of more than 3100 foods , beverages , spices , herbs and supplements used worldwide. **Nutrition Journal**, v. 9, n. 3, p. 1–11, 2010.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15–25, 2013.

CHEUVRONT, S. N.; KENEFICK, R. W. Dehydration : Physiology , Assessment , and Performance Effects. **Comprehensive Physiology**, v. 4, p. 257–285, 2014.

CHISHOLM, D.; COLLIS, M.; KUKAK, L.; DAVENPORT, W.; GRUBER, N. Physical activity readiness. **British Columbia Medical Journal**, v. 17, n. 11, p. 375–378, 1975.

CINTRA, I. P.; VON DER HEYDE, E. D.; SCHMITZ, B. A. S.; FRANCESCHINI, S. C. C.; TADDEI, J. A. A. C.; SIGULEM, D. M. Métodos de inquéritos dietéticos. **Cadernos de Nutrição**, v. 13, n. 2, p. 11–23, 1997.

COSTA, T. A.; SANTOS, J. J. A.; BORGES, J. H. Atividade antioxidante da erva-mate e lesão celular em exercício agudo de alta intensidade. **Revista Uningá**, v. 23, n. 1, p. 15–20, 2015.

FERNANDES, E. S.; MACHADO, M. de O.; BECKER, A. M.; ANDRADE, F. de; MARASCHIN, M.; SILVA, E. L. da. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) enhances the

gene modulation and activity of paraoxonase-2: In vitro and in vivo studies. **Nutrition**, v. 28, n. 11–12, p. 1157–1164, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2012.04.011>>.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-Transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130–7139, 1974.

HADWAN, M. H.; ABED, H. N. Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity. **Data in Brief**, v. 6, p. 194–199, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2015.12.012>>.

HAMMOUDA, O.; CHAHED, H.; CHTOUROU, H.; FERCHICHI, S.; MILED, A.; SOUISSI, N. Morning to evening difference of biomarkers of muscle injury and antioxidant status in young trained soccer players. **Biological Rhythm Research**, v. 43, n. 4, p. 431–438, 2012.

HOWLEY, E.; BASSETT, D.; WELCH, H. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 27, n. 9, p. 1292–301, 1995.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin c, vitamin e, selenium, and carotenoids**. Washington (DC): National Academy Press, 2000.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin a, vitamin k, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc**. Washington (DC): National Academy Press, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids**. Washington (DC): National Academic Press, 2005.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET. **Conforto térmico Humano**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/confortotermicoHumano>>.

Acesso em: 23 dez. 2018.

KAWAMURA, T.; MURAOKA, I. Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. **Antioxidants**, v. 7, n. 119, p. 1–19, 2018.

KAZEMI, F.; GAEINI, A.; KORDI, M.; RAHNAMA, N. The acute effects of two energy drinks on endurance performance in female athlete students. **Sports Sciences for Health**, v. 5, p. 55–60, 2009.

KOEHNLEIN, E. A.; BRACHT, A.; NISHIDA, V. S.; PERALTA, R. M. Total antioxidant capacity and phenolic content of the Brazilian diet: a real scenario. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 65, n. 3, p. 293–298, 2014.

MALAGUTI, M.; ANGELONI, C.; HRELIA, S. Polyphenols in exercise performance and prevention of exercise-induced muscle damage. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, 2013.

MARINS, J. C. B. **Hidratação na atividade física e no esporte: equilíbrio hidromineral**. 1. ed. Várzea Paulista, SP: Fontoura, 2011.

MAZANI, M.; FARD, A. S.; BAGHI, A. N.; NEMATI, A.; MOGADAM, R. . Effect of pomegranate juice supplementation on matrix metalloproteinases 2 and 9 following exhaustive exercise in young healthy males. **Journal of Pakistan Medical Association**, v. 64, p. 785–790, 2014.

MCARDLE, W.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 7º ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2013.

MENEGHELO, R.; ARAÚJO, C.; STEIN, R.; MASTROCOLLA, L.; ALBUQUERQUE, P.; SERRA, S. III Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre teste ergométrico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, n. 5, p. 1–26, 2010.

MORGAN-MARTINS, M. I.; SILVA, V. S.; LICKS, F.; COLARES, J. R.; SCHEMITT, E. G.; FORGIARINI, L. F.; ROSA, D. P.; MARRONI, N. P. *Ilex paraguariensis* St. Hill (yerba mate) improves the metabolic profile of and protects against oxidative stress in exercised and non-exercised rats. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 4, n. 4, p. 1303–1311, 2013.

MYBURGH, K. H. Polyphenol supplementation: Benefits for exercise performance or oxidative stress? **Sports Medicine**, v. 44, n. Suppl.1, p. S57–S70, 2014.

NARCISO, L. G.; ALMEIDA, B. F. M.; BOSCO, A. M.; PEREIRA, P. P.; VENDRAME, K. E.; LOUZADA, M. J. Q.; CIARLINI, P. C. Resveratrol atenua o estresse oxidativo e a lesão muscular de ratos sedentários submetidos ao exercício físico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 3, p. 850–856, 2018.

OKUBO, H.; SYDDALL, H.; PHILLIPS, D.; SAYER, A.; DENNISON, E.; COOPER, C. Dietary total antioxidant capacity is related to glucose tolerance in older people: the Hertfordshire Cohort Study. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular**

**Diseases**, v. 24, n. 3, p. 301–8, 2014.

OZTASAN, N.; TAYSI, S.; GUMUSTEKIN, K.; ALTINKAYNAK, K.; AKTAS, O.; TIMUR, H.; SIKTAR, E.; KELES, S.; AKAR, S.; AKCAY, F.; DANE, S.; GUL, M. Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat.

**European Journal of Applied Physiology**, v. 91, p. 622–627, 2004.

PALACIOS, G.; PEDRERO-CHAMIZO, R.; PALACIOS, N.; MAROTO-SANCHEZ, B.; AZNAR, S.; GONZALEZ-GROSS, M. Biomarkers of physical activity and exercise. **Nutricion hospitalaria**, v. 31, n. Supl. 3, p. 237–244, 2015.

PANZA, V. P.; DIEFENTHAELER, F.; TAMBORINDEGUY, A. C.; CAMARGO, C. de Q.; DE MOURA, B. M.; BRUNETTA, H. S.; SAKUGAWA, R. L.; DE OLIVEIRA, M. V.; PUEL, E. de O.; NUNES, E. A.; DA SILVA, E. L. Effects of mate tea consumption on muscle strength and oxidative stress markers after eccentric exercise. **British Journal of Nutrition**, v. 115, n. 08, p. 1370–1378, 2016. Disponível em: <[http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S000711451600043X](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S000711451600043X)>.

PERALTA, I. N.; COGOI, L.; FILIP, R.; ANESINI, C. Prevention of hydrogen peroxide-induced red blood cells lysis by *ilex paraguariensis* aqueous extract: Participation of phenolic and xanthine compounds. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 2, p. 192–198, 2013.

PEREIRA, P. E.; MOTOYAMA, Y.; ESTEVES, G. J.; OLIVEIRA, J. C.; PEREIRA, R.; DOMINGOS, P.; AZEVEDO, P. Caffeine supplementation delays the fatigue through central nervous system modulation. **Sports sciences for health**, v. 12, n. 2, p. 239–245, 2016.

PHILIPPI, S. **Tabela de composição dos alimentos: suporte para decisão nutricional**. 5° ed. Barueri: Manole, 2015.

PINGITORE, A.; LIMA, G. P. P.; MASTORCI, F.; QUINONES, A.; IERVASI, G.; VASSALLE, C. Exercise and oxidative stress : Potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. **Nutrition**, v. 31, n. 7–8, p. 916–922, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2015.02.005>>.

PINHO, W. L.; SILVA, A. P. R. da. Efeitos do exercício físico sobre a formação de espécies reativas de oxigênio e os compostos antioxidantes da dieta. **Revista Brasileira de Nutrição e Esportiva**, v. 7, n. 37, p. 77–87, 2013. Disponível em: <<http://0-search.ebscohost.com.library.ucc.ie/login.aspx?direct=true&db=s3h&AN=94445774&site=ehost-live>>.

SANGUIGNI, V.; MANCO, M.; SORGE, R.; GNESSI, L.; FRANCOMANO, D. Natural antioxidant ice cream acutely reduces oxidative stress and improves vascular function and physical performance in healthy individuals. **Nutrition**, v. 33, p. 225–233, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2016.07.008>>.

SANTOS, E. C. S.; BICCA, M. A.; COSTA, A. P. R.; SANTOS, A. A.; SCHENKEL, E. P.; FARINA, M.; REGINATTO, F. H.; LIMA, T. C. M. De. Anxiolytic-like , stimulant and neuroprotective effects of *ilex paraguariensis* extracts in mice. **Neuroscience**, v. 292, p. 13–21, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.02.004>>.

SINGULANI, M. P.; SANTOS, L. F.; CHAVES NETO, H. A.; MELLO, W. G. De; MORAIS, S. R. L.; DORNELLES, R. de C. M.; NAKAMUNE, A. C. de M. S. Chá mate melhora resistência à natação e reduz o dano oxidativo induzido pelo exercício em ratos submetidos à única sessão de natação. **Archives of Health Investigation**, v. 3, n. 1, p. 68–76, 2014.

STORER, T. W.; DAVIS, J. A.; CAIOZZO, V. J. Accurate prediction of VO<sub>2</sub>max in cycle ergometry. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 22, n. 5, p. 704–712, 1990.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4º ed. Campinas: NEPA - UNICAMP, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO Consultation (WHO Technical Report Series, 894). **World Health Organization technical report series**, v. 894, n. i–xii, p. 1–253, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diretrizes da oms para a tiragem de sangue: boas práticas em flebotomia**. Geneva: World Health Organization, 2010.

YAVARI, A.; JAVADI, M.; MIRMIRAN, P.; BAHADORAN, Z. Exercise-Induced Oxidative Stress and Dietary Antioxidants. **Asian Journal of Sports Medicine**, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2015.

### 3. CONCLUSÕES GERAIS

O chá-mate em pó solúvel é rico em compostos fenólicos totais, ácidos clorogênicos e cafeína, além de ser uma excelente fonte de manganês e boa fonte de magnésio. Tal bebida apresentou alta capacidade antioxidante, avaliada pelos métodos DPPH e ABTS. Quando comparado as outras formas de preparo (sachê e a granel), o chá-mate solúvel exibiu, aproximadamente, o dobro de compostos fenólicos e ácidos clorogênicos, mesmo sendo preparado com a menor relação de massa de erva-mate/água indicada pelo fabricante no rótulo do produto.

O ensaio clínico demonstrou que o chá-mate em pó solúvel, com concentração de 5g/400 mL, é uma opção a ser utilizada no momento pré-exercício, pois foi capaz de promover resposta glicêmica mais estável, seguida por menor resposta insulinêmica, produzindo assim um meio favorável a utilização de lipídeos como fonte de energia durante o exercício. Além do efeito termogênico, o chá-mate mostrou-se seguro em relação à ausência de alterações na frequência cardíaca e de sintomas gastrointestinais. Dessa forma, é possível recomendar o consumo dessa bebida tanto para atletas em condição de treino ou competição, por ter indicação ergogênica, quanto para indivíduos que desejam emagrecer, por questão de saúde e/ou estética.

Por fim, comprovou-se, pela primeira vez, que a ingestão aguda de erva-mate em uma das suas formas habituais de consumo, o chá-mate, antes do exercício contínuo realizado em cicloergômetro, apresenta um potencial efeito na proteção contra o dano muscular e aumenta a capacidade antioxidante plasmática 2 h pós-prandial, o que pode contribuir para reduzir o estresse oxidativo e evitar a progressão do dano na fibra muscular gerados pela atividade, constituindo-se uma estratégia ergogênica pré-exercício.

## 4. APÊNDICES

### APÊNDICE I

#### QUESTIONÁRIO PARA RECRUTAMENTO DE VOLUNTÁRIOS

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

##### 1) Identificação do participante:

Nome: \_\_\_\_\_

Telefones de contato: \_\_\_\_\_ Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

##### 2) História Clínica:

2.1. Já teve ou tem alguma das doenças listadas abaixo? E os familiares?

Doenças	Voluntário			Parentes
	Não	Sim	Idade de instalação	
Hipertensão arterial				
Diabetes, hipo ou hiperglicemia				
Cardiopatias				
Neuropatias				
Alergias				
Hepatopatias				
Nefropatias				
Dislipidemias				
Obesidade				
Câncer (qual tipo)				
Hipo ou Hipertireoidismo				
Outras				

2.2. Você faz uso de alguma medicação? ( ) Não ( ) Sim.

Se SIM, quais: \_\_\_\_\_

2.3. Você faz uso de algum suplemento alimentar? ( ) Não ( ) Sim.

Se SIM, quais: \_\_\_\_\_

2.4. Você tem alguma aversão alimentar? ( ) Não ( ) Sim.

Se SIM, quais: \_\_\_\_\_

2.5. Você tem alguma intolerância alimentar? ( ) Não ( ) Sim.

Se SIM, cite os alimentos e sintomas: \_\_\_\_\_

2.6. Você tem o hábito de consumir chá? ( ) Não ( ) Sim.

2.7. Faz ingestão de bebidas alcoólicas? ( ) Não ( ) Sim. Se SIM, frequência: \_\_\_\_

### 3) **Atividade física:**

3.1. Você pratica atividades físicas regulares? ( ) Não ( ) Sim

Se SIM, há quanto tempo? \_\_\_\_\_. Liste abaixo as atividades e frequência:

Tipo de atividade	Frequência semanal	Duração da atividade

3.2. Você planeja começar um exercício num futuro próximo? ( ) Não ( ) Sim.

Se SIM, quando? ( ) Próxima semana ( ) Próximo mês Qual? \_\_\_\_\_

3.3. Você perdeu ou ganhou mais do que 3 kg nos últimos 6 meses? ( ) Não ( ) Sim.

( ) Perdeu \_\_\_\_ kg ( ) Ganhou \_\_\_\_ kg

3.4. Você possui o hábito de realizar exercício físico em jejum? ( ) Não ( ) Sim

### 4) **Dados antropométricos:**

Variáveis	Valores
Massa corporal (kg)	
Estatura (m)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	

5) Que horas você costuma dormir? \_\_\_\_\_

6) Qual horário da sua última refeição antes de dormir? \_\_\_\_\_

7) Qual seu meio de locomoção para Universidade? \_\_\_\_\_

## APÊNDICE II

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa “Efeito da ingestão de chá-mate (*Ilex paraguariensis*) antes do exercício aeróbico sobre indicadores metabólicos, de dano muscular e estresse oxidativo”. Nesta pesquisa pretendemos avaliar os efeitos da ingestão de chá-mate sobre o metabolismo energético, lesão muscular e sistema antioxidante em homens durante o exercício em cicloergômetro. O motivo que nos leva a estudar esta estratégia de intervenção pré-exercício, é devido ao fato de ser uma bebida típica de nossa região que se comprovada sua eficácia, pode trazer benefícios para a saúde e desempenho do praticante de atividade física e atleta. Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: avaliação nutricional (avaliação da ingestão alimentar habitual), antropométrica (peso, estatura e circunferência da cintura), composição corporal (percentual de gordura corporal por meio da aferição de dobras cutâneas), realização de exercício em cicloergômetro por 65 minutos, extração de amostra de sangue antes e durante o exercício por meio da inserção de um cateter jelco na veia do antebraço.

Quanto aos riscos envolvidos na pesquisa, o exercício pode gerar desconforto muscular durante sua execução e/ou após 24 horas de sua realização. Para minimizar isto a dinâmica compreenderá a realização de um aquecimento físico orgânico e muscular local, bem como a supervisão da prescrição do exercício por um profissional treinado de Educação Física que irá acompanhar constantemente durante o exercício, além de ensinar a técnica de execução. Durante as etapas de exercício é provável que surja a produção de suor e a sensação de elevação da frequência cardíaca que em alguns casos geram um desconforto. Contudo, caso o Sr sinta qualquer tipo de desconforto o Sr terá toda liberdade de pedir para interromper, reduzir a carga, ou mesmo abandonar o estudo. O planejamento da carga física de exercício que o Sr será submetido será totalmente individual, de forma que são mínimas as possibilidades que o Sr tenha algum tipo de desconforto ósteomio-articular pós-exercício ou que não consiga realizar carga proposta, já que estará elaborada dentro de suas possibilidades de realização. A fim de minimizar os riscos, os parâmetros cardiovasculares e glicêmicos serão controlados durante o tempo de repouso e exercício. A retirada de amostra de sangue pode gerar o aparecimento de pequenas manchas na pele decorrente da

introdução do cateter. A equipe envolvida utilizará sempre material descartável, com total controle de higiene. A manipulação do sangue será feita por um enfermeiro treinado o que contribuirá para minimizar os riscos de desconforto na retirada do sangue. É importante ter claro que, caso estas ações provoquem desconforto ou mal estar, o Sr tem toda liberdade de abandonar o estudo.

A pesquisa contribuirá para o Sr. conhecer a qualidade da sua dieta habitual, composição corporal, níveis de glicose e insulina sanguíneos, pressão arterial, frequência cardíaca e marcadores metabólicos e de estresse oxidativo. Estes dados permitirão saber em que condições de saúde o Sr. se encontra. Além disso, se ocorrida a hipótese alternativa, o chá-mate poderá ser considerado uma estratégia de intervenção pré-exercício, trazendo benefícios para o metabolismo energético, sistema antioxidante ou lesão muscular do praticante de atividade física.

Para participar deste estudo o Sr. não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o Sr. tem assegurado o direito à indenização. O Sr. tem garantida plena liberdade de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem necessidade de comunicado prévio. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o Sr. é atendido pelo pesquisador. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. O Sr. não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar. Seu nome ou o material que indique sua participação não serão liberados sem a sua permissão. Ressalta-se ainda que as amostras de sangue e urina coletadas serão utilizadas somente para esse estudo, não serão armazenadas em banco de dados para serem usadas em estudos posteriores.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no Laboratório de Performance Humana (LAPEH) e a outra será fornecida ao Sr.

Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos após o término da pesquisa, e depois desse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões

profissionais de sigilo e confidencialidade, atendendo à legislação brasileira, em especial, à Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, e utilizarão as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Eu, \_\_\_\_\_, contato \_\_\_\_\_, fui informado dos objetivos da pesquisa “Efeitos da ingestão aguda de chá-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre indicadores metabólicos, de dano muscular e estresse oxidativo em homens expostos ao exercício em cicloergômetro” de maneira clara e detalhada, e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer minhas dúvidas.

Viçosa, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador

Paulo César Stringheta.  
Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas,  
Departamento de Tecnologia de Alimentos.  
Av. P.H. HOLFS s/n; Campus Universitário; 36570000 - Viçosa, MG - Brasil  
Telefone: (31) 38993808/ Fax: (31) 38992208  
pstringheta@gmail.com

Em caso de discordância ou irregularidades sob o aspecto ético desta pesquisa, você poderá consultar:

CEP/UFV – Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos  
Universidade Federal de Viçosa  
Edifício Arthur Bernardes, piso inferior  
Av. PH Rolfs, s/n – Campus Universitário, Cep: 36570-900 Viçosa/MG  
Telefone: (31)3899-2492  
Email: cep@ufv.br  
www.cep.ufv.br

## APÊNDICE III

### REGISTRO ALIMENTAR – 24 HORAS

Nome do avaliado:

Data:

<b>Refeição/Horário</b>	<b>Alimento</b>	<b>Quantidade</b>
<b>Café da manhã</b> Hora: Local:		
<b>Colação</b> Hora: Local:		
<b>Almoço</b> Hora: Local:		
<b>Lanche</b> Hora: Local:		
<b>Jantar</b> Hora: Local:		
<b>Ceia</b> Hora: Local:		

## 5. ANEXOS

### ANEXO I

#### QUESTIONÁRIO PAR-Q

**AVALIADO:** \_\_\_\_\_

<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>	<b>PERGUNTA</b>
		1. O seu médico já lhe disse alguma vez que você apresenta um problema cardíaco?
		2. Você apresenta dores no peito com frequência?
		3. Você apresenta episódios frequentes de tonteira ou sensação de desmaio?
		4. Seu médico alguma vez já lhe disse que sua pressão sanguínea era muito alta?
		5. Seu médico alguma vez já lhe disse que você apresenta um problema ósseo ou articular, como uma artrite, que tenha sido agravado pela prática de exercícios, ou que possa ser por eles agravado?
		6. Existe alguma boa razão física, não mencionada aqui, para que você não siga um programa de atividade física, se desejar fazê-lo?
		Você tem mais de 65 anos e não está acostumado a se exercitar vigorosamente?

Se você respondeu:

<b>SIM A UMA OU MAIS PERGUNTAS</b>	<b>NÃO A TODAS AS PERGUNTAS</b>
Se você não consultou seu médico recentemente, consulte-o por telefone ou pessoalmente, ANTES de intensificar suas atividades físicas ou de ser avaliado para um programa de condicionamento físico. Diga a seu médico que perguntas você respondeu com um SIM a este questionário conhecido como PAR-Q ou mostre a cópia deste questionário.	Se você respondeu este questionário corretamente, você pode ter uma razoável garantia de apresentar as condições adequadas para: Um programa de exercícios gradativos com aumento gradual na intensidade dos exercícios adequados promove um bom desenvolvimento do condicionamento físico, ao mesmo tempo em que minimiza ou elimina o desconforto associado.
<b>Programas</b> Após a avaliação médica, procure se aconselhar com seu médico acerca de suas condições para: <ul style="list-style-type: none"><li>❖ Atividades físicas irrestrita, começando a partir de baixos níveis de intensidade e aumentando progressivamente.</li><li>❖ Atividade física limitada ou supervisionada que satisfaça suas necessidades específicas, pelo menos numa base inicial. Verifique em sua continuidade os programas ou serviços especiais.</li></ul>	<b>Adiar o início do programa de exercícios</b> Na vigência de uma enfermidade temporária de menor gravidade, tal como um resfriado comum.

SEXO [M] [F] – IDADE [ ]

## ANEXO II

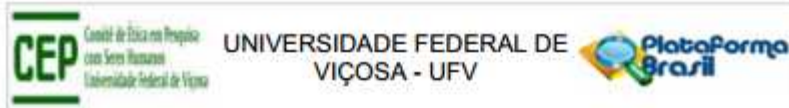
### TABELA DE RISCO CORONARIANO

<b>IDADE</b>	10 a 20 1	21 a 30 2	31 a 40 3	41 a 50 4	51 a 60 6	Acima de 60 8
<b>HERANÇA GENÉTICA</b>	Nenhuma história conhecida de cardiopatia 1	1 parente com doença cardiovascular e mais de 60 anos 2	2 parentes com doença cardiovascular e > 60 anos 3	1 parente com doença cardiovascular e < 60 anos 4	2 parentes com doença cardiovascular e < 60 anos 6	3 parentes com doença cardiovascular e < 60 anos 8
<b>PESO</b>	Mais de 2,3kg abaixo do peso padronizado 1	- 2,3kg a +2,3kg do peso padronizado 2	2,7 a 9kg acima do peso 3	9,5 a 15,9kg acima do peso 4	16,4 a 22,7kg acima do peso 6	23,3 a 29,5kg acima do peso 7
<b>TABAGISMO</b>	Não usuário 0	Charuto ou cachimbo 1	10 cigarros ou menos/dia 2	20 cigarros por dia 4	30 cigarros por dia 6	40 cigarros por dia 10
<b>EXERCÍCIO</b>	Esforço profissional e recreacional intenso 1	Esforço profissional e recreacional moderado 2	Trabalho sedentário e esforço recreacional intenso 3	Trabalho sedentário e esforço recreacional moderado 5	Trabalho sedentário e esforço recreacional ligeiro 6	Ausência completa de qualquer exercício 8
<b>% DE COLESTEROL OU GORDURA NA DIETA</b>	Colesterol < 180mg/dl. Dieta não contém gorduras animais, nem sólidas 1	Colesterol 181 a 205mg/dl. Dieta contém 10% de gorduras animais ou sólidas 2	Colesterol 206 a 230mg/dl. Dieta com 20% de gorduras animais ou sólidas 3	Colesterol 231 a 250mg/dl. Dieta com 30% de gorduras animais ou sólidas 4	Colesterol 251 a 280mg/dl. Dieta com 40% de gorduras animais ou sólidas 5	Colesterol 281 a 300mg/dl. Dieta com 50% de gorduras animais ou sólidas 7
<b>PRESSÃO ARTERIAL</b>	Leitura superior a 100 1	Leitura superior a 120 2	Leitura superior a 140 3	Leitura superior a 160 4	Leitura > a 180 6	Leitura > 200 8
<b>SEXO</b>	Mulher com menos de 40 1	Mulher com 40 a 50 2	Mulher com mais de 50 3	Homem 4	Homem atarracado 6	Homem calvo e atarracado 7

### CLASSIFICAÇÃO

Escore	Categoria de Risco Relativo
0 – 11	Risco bem abaixo da média
12 – 17	Risco abaixo da média
18 – 24	Risco médio
25 – 31	Risco moderado
35 – 40	Alto risco
41 – 62	Risco muito alto, consultar seu médico

## ANEXO III



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Efeito da ingestão de chá-mate (*Ilex paraguariensis*) antes do exercício sobre o metabolismo energético e indicadores metabólicos

**Pesquisador:** Paulo Cesar Stringheta

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 53457715.1.0000.5153

**Instituição Proponente:** Departamento de Tecnologia de Alimentos

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.481.640

#### Apresentação do Projeto:

Projeto enquadrado nas áreas de Ciências da Saúde e Ciências Agrárias. Trata-se de um estudo de intervenção pós-prandial.

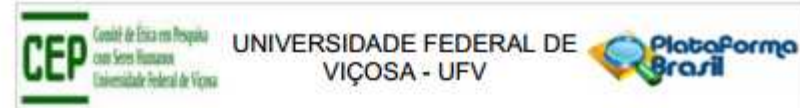
#### Objetivo da Pesquisa:

De acordo com formulário online: Objetivo Primário: Avaliar o efeito da ingestão aguda de chá-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre o metabolismo energético, lesão muscular e sistema antioxidante em homens expostos ao exercício em cicloergômetro.\*

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo formulário online: "Riscos: Quanto aos riscos envolvidos na pesquisa, o exercício pode gerar desconforto muscular durante sua execução e/ou após 24 horas de sua realização. Para minimizar isto a dinâmica compreenderá a realização de um aquecimento físico orgânico e muscular local, bem como a supervisão da prescrição do exercício por um profissional treinado de Educação Física que irá acompanhar constantemente durante o exercício, além de ensinar a técnica de execução. Durante as etapas de exercício é provável que surja a produção de suor e a sensação de elevação da frequência cardíaca que em alguns casos geram um desconforto. Contudo, caso o Sr sinta qualquer tipo de desconforto o Sr terá toda liberdade de pedir para interromper, reduzir a carga, ou mesmo

Endereço: Universidade Federal de Viçosa, Avenida PH Rolfs s/n, Edifício Arthur Bernardes  
Bairro: Campus Universitário CEP: 36.570-900  
UF: MG Município: VICOSA  
Telefone: (31)3899-2492 E-mail: cep@ufv.br



Continuação do Parecer: 1.481.640

abandonar o estudo. O planejamento da carga física de exercício que o Sr será submetido será totalmente individual, de forma que são mínimas as possibilidades que o Sr tenha algum tipo de desconforto ósteomio-articular pós-exercício ou que não consiga realizar carga proposta, já que estará elaborada dentro de suas possibilidades de realização. A fim de minimizar os riscos, os parâmetros cardiovasculares e glicêmicos serão controlados durante o tempo de repouso e exercício. A retirada de amostra de sangue pode gerar o aparecimento de pequenas manchas na pele decorrente da introdução do cateter. A equipe envolvida utilizará sempre material descartável, com total controle de higiene minimizando qualquer tipo de contaminação. A manipulação do sangue será feita por um enfermeiro treinado o que contribuirá para minimizar os riscos de desconforto na retirada do sangue. É importante ter claro que, caso estas ações provoquem desconforto ou

mal estar, o Sr tem toda liberdade de abandonar o estudo.

**Benefícios:** Benefícios diretos para o avaliado poderão ser apontados como conhecimento da qualidade da sua dieta habitual, composição corporal, comportamento de vários parâmetros sanguíneos, pressão arterial, frequência cardíaca e marcadores metabólicos e de estresse oxidativo. Estes dados permitirão saber suas condições de saúde. Além disso, se ocorrida a hipótese alternativa, o chá-mate poderá ser considerado uma estratégia de intervenção pré-exercício, trazendo benefícios para o metabolismo energético, sistema antioxidante ou lesão muscular do praticante de atividade física.

**Avaliação:** Adequadamente descritos.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Segundo formulário online: "Trata-se de um estudo com desenho crossover, onde será utilizado uma sequência de avaliação rotatória para cada 4 sujeitos avaliados. Dessa

forma, todos os voluntários selecionados participarão das quatro etapas experimentais, separadas entre si por um intervalo de no mínimo uma semana: ingestão de café da manhã e chá-mate, café da manhã e água (controle), chá-mate ou água (placebo). ... Na chegada ao laboratório para cada sessão experimental, o participante será convidado a esvaziar sua bexiga e fornecer uma amostra de urina, que será utilizada para determinar o

estado de hidratação antes do exercício de acordo com a densidade da urina. Em seguida, um enfermeiro irá inserir um cateter Jelco intravenoso n°22 em uma veia do antebraço, sendo afixada uma torneira de 3 vias para a coleta de sangue antes e durante o exercício contínuo. Após 10 minutos de repouso, será realizada a coleta sanguínea para as determinações bioquímicas. Após esta avaliação, os participantes serão instruídos a

Endereço: Universidade Federal de Viçosa, Avenida PH Rolfs s/n, Edifício Arthur Bernardes  
Bairro: Campus Universitário CEP: 36.570-900  
UF: MG Município: VICOSA  
Telefone: (31)3899-2492 E-mail: cep@ufv.br

Continuação do Parecer: 1.481.640

ingerir, dentro de 15 minutos, o café da manhã, chá-mate e/ou água, de acordo com a etapa em que estarão. Transcorrido o período pós-prandial (60 minutos), os voluntários realizarão cinco minutos de aquecimento a 55% do VO2máx em cicloergômetro (Scifit®, modelo ISO 1000). Em seguida, a intensidade do exercício será aumentada para 65% do VO2máx e o exercício continuará por mais 60 minutos, mantendo a cadência constante a 60 RPM durante todos os testes.\*

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Foram apresentados os seguintes termos:

- 1-Folha de rosto
- 2- Formulário online
- 3-TCLEmodificado
- 4-Carta-resposta
- 5- Projeto
- 6-Autorização

Considerações sobre termos: Adequadamente descritos.

**Recomendações:**

Quando da coleta de dados, o TCLE deve ser elaborado em duas vias, rubricado em todas as suas páginas e assinado, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa ou responsável legal, bem como pelo pesquisador responsável, ou pessoa(s) por ele delegada(s), devendo todas as assinaturas constar na mesma folha.

Não é necessário apresentar os TCLEs assinados ao CEP/UFV. Uma via deve ser mantida em arquivo pelo pesquisador e a outra é do participante da pesquisa.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Ao término da pesquisa é necessário apresentar, via notificação, o Relatório Final (modelo disponível no site [www.cep.ufv.br](http://www.cep.ufv.br)). Após ser emitido o Parecer Consubstanciado de aprovação do Relatório Final, deve ser encaminhado, via notificação, o Comunicado de Término dos Estudos.

Projeto analisado durante a 1ª reunião de 2016, realizada no dia 08 de março de 2016.

Continuação do Parecer: 1.481.640

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_644104.pdf	29/03/2016 12:11:08		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEmodificado.docx	29/03/2016 12:09:25	Mariana de Melo Cazal	Aceito
Outros	Cartaresposta.doc	29/03/2016 12:06:35	Mariana de Melo Cazal	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE2.pdf	19/02/2016 21:28:23	Mariana de Melo Cazal	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	19/02/2016 20:07:17	Mariana de Melo Cazal	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AUTORIZACAO.pdf	19/02/2016 19:50:21	Mariana de Melo Cazal	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostopreenchida.pdf	18/12/2015 13:56:04	Mariana de Melo Cazal	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

VICOSA, 07 de Abril de 2016

Assinado por:  
**HELEN HERMANA MIRANDA HERMSDORFF**  
 (Coordenador)

## ANEXO IV

Alimentos que foram utilizados para a elaboração do café da manhã, seguido por suas respectivas marcas, variedade e/ou locais de fabricação.

<b>Alimentos</b>	<b>Marca/ Variedade</b>	<b>Local de fabricação</b>
Pão de forma Passas com Canela	Milani	Caratinga-MG/Brasil
Requeijão Light	Cotochés	Abre Campo-MG/Brasil
Leite Semidesnatado	Camponesa	Lagoa da Prata-MG/Brasil
Chocolate em Pó Solúvel	Nestlé	São Paulo-SP/Brasil
Banana	Prata	

## ANEXO V

<b>ESCALA DE SINTOMAS GASTROINTESTINAIS E SISTÊMICOS</b>
--

<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

<b>Abdômen superior</b>	<b>Abdômen inferior</b>	<b>Sistêmico</b>
<b>Refluxo</b>	<b>Cólicas intestinais</b>	<b>Tonteira</b>
<b>Azia</b>	<b>Flatulência</b>	<b>Dor de cabeça</b>
<b>Inchaço</b>	<b>Vontade de defecar</b>	<b>Caibras musculares</b>
<b>Cólica</b>	<b>Dor abdominal do lado esquerdo</b>	<b>Vontade de urinar</b>
<b>Vontade de vomitar</b>	<b>Dor abdominal do lado direito</b>	
<b>Náusea</b>	<b>Diarreia</b>	

Pleiffer et al. (2009)

## ANEXO VI

### ÍNDICE DE PERCEPÇÃO DE ESFORÇO

<b>6</b>	<b>SEM NENHUM ESFORÇO</b>
<b>7</b>	<b>EXTREMAMENTE LEVE</b>
<b>8</b>	
<b>9</b>	<b>MUITO LEVE</b>
<b>10</b>	
<b>11</b>	<b>LEVE</b>
<b>12</b>	
<b>13</b>	<b>UM POUCO INTENSO</b>
<b>14</b>	
<b>15</b>	<b>INTENSO (PESADO)</b>
<b>16</b>	
<b>17</b>	<b>MUITO INTENSO</b>
<b>18</b>	
<b>19</b>	<b>EXTREMAMENTE INTENSO</b>
<b>20</b>	<b>MÁXIMO ESFORÇO</b>

Borg (1982)