

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Relação Entre a Ingestão Alimentar de Nitrato Inorgânico
e a Resposta de Desempenho à sua Suplementação em um
Contrarrelógio de Ciclismo de 4-KM**

Heloísa Gomes Ramos

**Trabalho apresentado à disciplina Trabalho de
Conclusão Curso II – 0060029, como requisito
parcial para a graduação no Curso de Nutrição
da FSP/USP.**

Orientador: Dr. Bryan Saunders, Ph.D.

São Paulo

2024

Relação Entre a Ingestão Alimentar de Nitrato Inorgânico e a Resposta de Desempenho à sua Suplementação em um Contrarrelógio de Ciclismo de 4-KM

Heloísa Gomes Ramos

Trabalho apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão Curso II – 0060029, como requisito parcial para a graduação no Curso de Nutrição da FSP/USP.

Orientador: Dr. Bryan Saunders, Ph.D.



Heloísa Gomes Ramos



Bryan Saunders

São Paulo

2024

O conteúdo deste trabalho é publicado sob a Licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional – CC BY-NC-ND 4.0.



AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos são direcionados a todas as pessoas que, de forma significativa, contribuíram para a conclusão deste trabalho e da minha graduação.

Primeiramente, agradeço ao meu orientador, Dr. Bryan Saunders, pelo acolhimento, apoio contínuo, paciência e empatia ao transmitir todo o conhecimento necessário para a realização deste projeto. Sou especialmente grata pela oportunidade de fazer parte de um grupo de pesquisa tão relevante como o Grupo de Pesquisa em Fisiologia Aplicada e Nutrição da Universidade de São Paulo.

Expresso também minha gratidão aos meus colegas do grupo de pesquisa, Arthur Carvalho, Breno Duarte, Tamires Nunes e Pablo Henrique, cujo suporte foi essencial desde a formulação do projeto até sua conclusão, bem como aos participantes do estudo que disponibilizaram seu tempo e realizaram esforços em nome da ciência. Meu carinho especial às minhas colegas de profissão, Gabriela Bonisio, Laura Nunes, Rebeca Terassi, Pamella Latorre, Lais de Britto, Hevellyn Moura, Natascha Lucci, Giovanna Pereira, Maria Fernanda, e em especial, Derian Barbosa, que esteve ao meu lado, compartilhando as dificuldades e alegrias de uma profissão tão desafiadora, sendo meu porto seguro em todas as etapas da graduação. Agradeço profundamente à minha amiga Emilly Cordeiro, por me fazer acreditar que meu sonho era possível.

Meus mais sinceros agradecimentos vão também aos meus pais, por todo o apoio emocional e financeiro ao longo dessa jornada, sem os quais eu não teria chegado até aqui; ao meu irmão, meu braço direito e confidente; e ao meu namorado, por seu constante apoio e companheirismo.

Dedico este trabalho também à memória da minha avó, que já não está entre nós, mas que sonhou este sonho antes mesmo de mim, e me deu forças para concluir essa etapa tão importante da minha vida. Agradeço, ainda, a todos os meus familiares e amigos, que direta ou indiretamente, sempre torceram por mim.

Não poderia deixar de reconhecer os professores e profissionais que cruzaram meu caminho, contribuindo não apenas para a minha formação acadêmica e profissional, mas também para o meu crescimento pessoal, compartilhando seus saberes e experiências.

Por fim, agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento deste projeto de pesquisa (2023/14515-4), cujo apoio foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho, para minha família e para o progresso das pesquisas às quais contribuí ao longo deste período.

Ramos HG. Relação Entre a Ingestão Alimentar de Nitrato Inorgânico e a Resposta de Desempenho à sua Suplementação em um Contrarrelógio de Ciclismo de 4-KM [Trabalho de Conclusão de Curso - Curso de Graduação em Nutrição]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2024.

RESUMO

Existem boas evidências de que o nitrato pode melhorar o desempenho e a capacidade física. Entretanto, não foi investigado até o momento a possível influência da ingestão habitual de nitrato na resposta de desempenho à sua suplementação, visto que a ingestão de nitrato pode aumentar a sua concentração no músculo esquelético e esta parece estar correlacionada com o desempenho físico. Portanto, o presente estudo se propôs a investigar se o consumo dietético de nitrato, pode influenciar na resposta de desempenho à sua suplementação. Para isso, 10 ciclistas treinados (7 homens e 3 mulheres usuárias de contraceptivos orais combinados monofásicos) realizaram testes de contrarrelógio de ciclismo de 4-km, num modelo crossover, contrabalanceado e randomizado, duas horas e meia após receberem de forma duplo-cega: 70 ml de suco de beterraba concentrado contendo 6.2 mmol de nitrato (NIT), 70 ml de suco de beterraba concentrado livre de nitrato (PLA) ou um controle não-placebo (CON). Ademais, foi analisado lactato sanguíneo pré e pós exercício e foi realizado monitoramento da frequência cardíaca durante os testes. Também foi analisado o consumo habitual de nitrato dietético - em 3 dias não consecutivos - e 24h antes dos testes principais. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa no tempo para completar o contrarrelógio ($p=0,33$), bem como na potência média ($p=0,23$) entre as sessões de suplementação de NIT, PLA ou CON. Também não houve diferença significativa na frequência cardíaca média ($p=0,63$), bem como na frequência cardíaca máxima ($p=0,53$) entre as sessões. Houve um aumento na concentração de lactato sanguíneo do pré- para o pós-exercício ($p<0,001$), mas não houve diferenças entre as sessões ($p=0,72$). Também não houve correlação entre ingestão de nitrato dietético e delta tempo para completar o contrarrelógio entre NIT e PLA ($p=0,15$; $r=0,50$, $r^2=0,25$), assim como entre NIT e CON ($p=0,20$; $r=0,45$, $r^2=0,20$). Os resultados obtidos até o momento indicam que não há relação entre o consumo habitual de nitrato e resposta de desempenho à sua suplementação. Contudo, é importante ressaltar que o estudo ainda está em andamento, com dados sendo coletados e que serão analisados posteriormente para conclusões mais precisas. De qualquer forma, os achados desse estudo serão de grande relevância para atletas que buscam estratégias para melhorar o desempenho esportivo e para o avanço do conhecimento sobre o nitrato como recurso ergogênico.

Palavras chaves: suplementação de nitrato; consumo de nitrato; efeito ergogênico.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	5
2. OBJETIVOS	7
2.1 OBJETIVO GERAL	7
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
3. HIPÓTESE	7
4. NOVIDADES	7
5. MÉTODOS	8
5.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA	8
5.2 DESENHO EXPERIMENTAL	9
5.3 PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO	11
5.3.1 Teste Incremental	12
5.3.2 Contrarrelógio de 4-KM	12
5.4 ANÁLISE DE LACTATO SANGUÍNEO	13
5.5 AVALIAÇÃO DIETÉTICA	13
5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	14
6. RESULTADOS	14
6.1 DESFECHOS DE DESEMPENHO	14
6.2 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR	15
6.3 CORRELAÇÕES ENTRE A MUDANÇA NO DESEMPENHO FÍSICO E O CONSUMO HABITUAL DE NITRATO (EM MG/DIA)	17
6.4 ASPECTOS FISIOLÓGICOS	18
7. DISCUSSÃO	19
8. CONCLUSÃO	22
9. CONFLITO DE INTERESSE	23
10. IMPLICAÇÕES PARA A PRÁTICA NO CAMPO DE ATUAÇÃO	23
11. REFERÊNCIAS	25
APÊNDICE 1. Questionário pós exercício	30

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O óxido nítrico (NO) é um radical livre gasoso que está envolvido em uma ampla variedade de funções sinalizadoras e regulatórias no corpo humano (JONES et al., 2018). Na musculatura esquelética, o NO desempenha um papel importante em processos fisiológicos como a eficiência do exercício, respiração mitocondrial, manipulação do cálcio no retículo sarcoplasmático, vasodilatação, captação de glicose e fadiga muscular (BAILEY et al., 2012). Logo, é possível que o aumento da biodisponibilidade de NO possa influenciar positivamente no desempenho físico (JONES, 2014). Em concordância com isso, recentes revisões sistemáticas e meta-análises têm sugerido que a suplementação de nitrato inorgânico (mais comumente realizada na forma de suco de beterraba), estratégia sabidamente capaz de aumentar a biodisponibilidade de NO, pode melhorar o desempenho e a capacidade física (SENEFELD et al., 2020; SILVA et al., 2022). Neste sentido, o estudo de Lansley et al (2011) demonstrou que a ingestão aguda de nitrato pode melhorar a performance em contrarrelógios de ciclismo de 4 e 16.1 km, uma vez que, em comparação ao placebo, a suplementação de nitrato reduziu o tempo para completar os testes contrarrelógio em todos os voluntários em aproximadamente 3%. Além disso, há evidências de que a suplementação aguda ou crônica de nitrato pode beneficiar o desempenho em contrarrelógio de ciclismo de 10 km (CERMAK et al., 2012), corridas de 1500 (SHANNON et al., 2017) e 3000 metros (PORCELLI et al., 2015), 2000 metros de remo (HOON et al., 2014), 500 metros de caiaque (PEELING et al., 2015) e esportes coletivos (THOMPSON et al., 2016). Desta forma, o nitrato foi recentemente reconhecido, pelo Comitê Olímpico Internacional, como um dos apenas cinco suplementos alimentares que possuem boas evidências de que possam melhorar o desempenho esportivo (MAUGHAN et al., 2018).

Interessantemente, como a dose ergogênica de nitrato de pelo menos 5 mmol (310 mg) (SENEFELD et al., 2020; SILVA et al., 2022) pode ser alcançada via dieta, os benefícios de desempenho observados com a suplementação deste composto também parecem ser vistos por meio da ingestão de alimentos ricos em nitrato (PORCELLI et al., 2016; SILVA et al., 2022). As principais fontes alimentares de nitrato inorgânico são vegetais folhosos verdes (ex.: rúcula, alface, espinafre, aipo e agrião) e beterraba que normalmente contêm mais de 250 mg (>4 mmol) de nitrato por 100 g de peso fresco (BRYAN, 2006; HORD et al., 2009). No entanto, vale destacar que o teor de nitrato nos vegetais pode variar consideravelmente de acordo com

as condições de cultivo (geografia e época), o tempo decorrido desde a colheita e o preparo dos alimentos (KYRIACOU et al., 2019). Dados publicados por Jonvik et al. (2016b) indicaram que atletas consomem, em média, mais de 400 mg de nitrato por dia através de sua dieta habitual, desta forma, alcançando a dose recomendada para a melhora do desempenho físico através da alimentação.

Embora existam boas evidências a respeito da eficácia do nitrato como um recurso ergogênico nutricional (MAUGHAN et al., 2018), uma proporção expressiva da literatura não mostra efeito positivo da sua suplementação sobre o desempenho e a capacidade física (SENEFELD *et al.*, 2020), o que sugere a existência de uma variabilidade substancial na resposta à sua ingestão. Um dos fatores que pode possivelmente influenciar o efeito ergogênico do nitrato é o seu consumo habitual, já que a ingestão regular de vegetais ricos em nitrato parece limitar a resposta de desempenho à sua suplementação (JONVIK et al., 2016a). Em contrapartida, Vanhantalo et al (2010) sugeriram que os benefícios do nitrato sobre as respostas fisiológicas induzidas pelo exercício são mantidos em até 15 dias de ingestão crônica. Portanto, se há alguma influência da ingestão habitual de nitrato na resposta de desempenho à sua suplementação, isso ocorre devido ao fato de a ingestão deste composto aumentar a sua concentração no músculo esquelético e esta parece estar correlacionada com o desempenho físico (KADACH et al., 2023), de modo que a suplementação aguda de nitrato não traria um benefício adicional.

Ademais, é válido ressaltar que evidências meta-analíticas recentes indicam que, enquanto o nitrato exerce um efeito positivo em indivíduos do sexo masculino, a sua suplementação parece não beneficiar a performance de mulheres na mesma magnitude (SENEFELD *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2022). Assim, seria interessante determinar a relação entre o consumo habitual de nitrato e o desempenho no exercício tanto em homens como em mulheres.

Contudo, até o presente momento, são escassos os estudos investigando a existência de uma relação entre a ingestão habitual de nitrato e a resposta de desempenho à sua suplementação. Desta forma, o presente estudo se propõe a investigar se o consumo dietético de nitrato, através da ingestão de vegetais ricos neste composto, pode influenciar na resposta de desempenho à sua suplementação em homens e mulheres.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar se o consumo dietético de nitrato pode influenciar na resposta de desempenho à sua suplementação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Avaliar a resposta de desempenho em homens e mulheres, em um teste contrarrelógio de ciclismo de 4-km, duas horas e meia após a ingestão aguda de 6.2 mmol de nitrato.
- 2) Analisar se há uma relação entre o consumo habitual de nitrato e a resposta de desempenho à sua suplementação em homens e mulheres, em um teste contrarrelógio de ciclismo de 4-km.

3. HIPÓTESE

A hipótese do presente projeto de pesquisa é de que indivíduos que consomem mais alimentos ricos em nitrato apresentarão menor influência da suplementação de nitrato via suco de beterraba no desempenho de um teste contrarrelógio de ciclismo de 4-km.

4. NOVIDADES

Sabe-se que a suplementação de nitrato inorgânico é uma estratégia capaz de aumentar a biodisponibilidade de NO e, a partir disto, melhorar o desempenho e a capacidade física. Todavia, até o presente momento não se sabe a influência do consumo dietético de nitrato sobre o desempenho, visto que sua dose ergogênica pode ser alcançada via alimentação e assim aumentar sua biodisponibilidade e melhorar o desempenho e a capacidade física igualmente à suplementação. Porém, estudos que investigam o consumo habitual de nitrato entre atletas especulam que sua ingestão regular possa limitar a resposta de desempenho à sua suplementação, uma vez que a ingestão deste composto já aumenta sua concentração no

músculo esquelético e a suplementação não parece elevar o efeito. Desta forma, a novidade é que este é o primeiro estudo a investigar diretamente a existência de uma relação entre a ingestão habitual de nitrato e a resposta de desempenho à sua suplementação, controlando para práticas que alteram a diversidade da microbiota oral e utilizando protocolos de suplementação e de exercício propícios para a observação de um efeito positivo. Os resultados deste estudo serão de grande relevância para atletas que estão em busca de estratégias para melhorar o desempenho esportivo e para avançar o conhecimento no estudo do nitrato como recurso ergogênico.

Este projeto foi realizado em colaboração com o estudo de mestrado de Arthur Carvalho que atualmente é apoiado pela FAPESP (2021/13799-3). A aluna recebe bolsa de iniciação científica apoiada pela FAPESP (2023/14515-4) o que a permite colaborar no projeto com alta dedicação e aumentar o conhecimento científico do estudo.

5. MÉTODOS

5.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA

A amostra foi composta por 10 ciclistas treinados (Tabela 1), sendo 7 homens e 3 mulheres recrutados por meio de redes sociais (Instagram, Facebook, Whatsapp) para comparecer ao laboratório em 5 ocasiões separadas. Como critérios de inclusão, os participantes tiveram que: 1) ter experiência prévia de pelo menos 1 ano de treinamento pedalando ≥ 60 km/semana, 2) ter $\text{VO}_{2\text{máx}}$ de, no mínimo, 45 mL/kg/min para homens e 37 mL/kg/min para mulheres, 3) não ter suplementado, nos últimos 6 meses, creatina e beta-alanina, 4) estar em uso de contraceptivos orais combinados monofásicos há pelo menos 3 meses (ELLIOTT-SALE *et al.*, 2021) para a manutenção de um perfil hormonal baixo e estável e para controlar as flutuações hormonais que ocorrem ao longo do ciclo menstrual.

Não foram incluídos no estudo participantes: 1) tabagistas, 2) praticantes de dietas caracterizadas pela restrição do consumo de algum macronutriente (ex.: dieta cetogênica) (MURTAZA *et al.*, 2019), 3) portadores de alguma doença crônica, 4) com uso atual ou pregresso de esteroides anabolizantes.

Antes da participação no estudo, todos os voluntários preencheram um questionário para determinar que não tinham qualquer problema de saúde que poderia prejudicar a realização dos testes físicos (PAR-Q) e assinaram ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo sob o número de processo: CAAE: 53323621.1.0000.0068. Todos os procedimentos do presente projeto de pesquisa estão de acordo com a Declaração de Helsinki.

TABELA 1. Características dos participantes do sexo masculino (n = 7) e sexo feminino (n = 3).

Caracterização	Mulheres	Homens
	Média ± DP	
Idade (anos)	30 ± 5	36 ± 8
Altura (m)	1,64 ± 0,05	1,81 ± 0,11
Peso (Kg)	65,03 ± 6,96	80,29 ± 12,35
Índice de Massa Corporal (Kg/m ²)	24,02 ± 1,07	24,41 ± 1,18
VO _{2máx} (mL/min/Kg)	42,77 ± 5,29	57,34 ± 4,98

5.2 DESENHO EXPERIMENTAL

O desenho experimental do estudo está ilustrado na Figura 1. Os voluntários compareceram ao laboratório em 5 ocasiões, no mesmo horário (ATKINSON; REILLY, 1996), tendo realizado a sua última refeição há pelo menos 1 hora. Os participantes foram instruídos a abster-se do consumo de álcool e da realização de exercícios extenuantes nas 24 horas que precedem os testes, assim como do consumo de cafeína nos dias dos testes. Para evitar alterações na diversidade da microbiota oral e, consequentemente, no metabolismo do nitrato, os voluntários foram orientados a: a) não utilizar enxaguante bucal antibacteriano ao longo do período do estudo, b) não utilizar pasta de dente antibacteriana nas 12 horas precedentes aos testes principais, c) não escovar e raspar a língua nas 48 horas precedentes aos testes principais e d) não consumir gomas de mascar durante o estudo. Tais medidas são importantes diante da relevância de bactérias anaeróbias presentes na cavidade oral para o metabolismo do nitrato, assim como de evidências de que práticas de higiene oral (ex.: uso de enxaguante bucal antibacteriano) podem prejudicar a elevação da concentração plasmática de nitrito (GOVONI *et al.*, 2008) e a observação de um efeito ergogênico após a ingestão de nitrato (SILVA *et al.*, 2022). Adicionalmente, os participantes foram solicitados a realizar a mesma refeição pré-teste

para todas as sessões principais. Os indivíduos foram questionados a respeito do cumprimento destes quesitos verbalmente antes de todas as sessões.

Na primeira visita, um recordatório alimentar das últimas 24 horas foi realizado e foi solicitado aos participantes que repetissem este padrão alimentar no dia anterior a todos os testes. A realização deste recordatório ajudou a educar os indivíduos sobre o quão detalhado eles devem manter os seus registros alimentares antes das sessões principais. Os voluntários foram instruídos a manter um registro alimentar nas 24 horas anteriores à primeira sessão principal e a realizar refeições que podem ser facilmente replicadas antes das outras sessões principais. Solicitamos que os indivíduos realizassem um diário alimentar de 24 horas antes de todas as sessões principais, para garantir que não foram feitos grandes desvios. Também solicitamos que os indivíduos realizassem um diário alimentar em 2 dias não consecutivos para que, juntamente ao recordatório de 24 horas realizado nesta visita, fossem utilizados para a avaliação do consumo alimentar usual. Ademais, foi realizado um teste incremental para obtenção do $VO_{2máx}$ e uma familiarização com o teste contrarrelógio de ciclismo de 4-km. Foram excluídos do estudo indivíduos do sexo masculino com $VO_{2máx}$ menor que 45 mL/kg/min (DE PAUW *et al.*, 2013) e do sexo feminino com $VO_{2máx}$ menor que 37 mL/kg/min (DECROIX *et al.*, 2016).

Na segunda visita, mais uma familiarização com o teste contrarrelógio de 4-km foi realizada.

Nas visitas 3, 4 e 5 os participantes realizaram os testes contrarrelógio de 4-km, num modelo crossover, contrabalanceado e randomizado, sendo as sessões separadas da seguinte maneira: a) placebo (PLA), b) nitrato 6.2 mmol (NIT) e c) controle não-placebo (CON). Foi mantido um intervalo mínimo de 48 horas e máximo de uma semana entre as sessões 3, 4 e 5. Para as mulheres, os testes principais foram realizados entre o 7º e 21º dia do período de ingestão do contraceptivo oral para garantir que os níveis dos hormônios ovarianos (endógenos e exógenos) estariam estáveis. No caso dos homens, todos os testes principais deveriam ser completados dentro de um período de 2 semanas.

O estudo foi conduzido de maneira duplo-cega para a suplementação e os participantes foram atribuídos aleatoriamente a cada condição experimental utilizando um modelo do Quadrado Latino (MASON; GUNST; HESS, 2003). Chegando ao laboratório, todos os indivíduos receberam um shot de 70 ml contendo suco de beterraba concentrado livre de nitrato (PLA) (James White Drinks, Ipswich, UK), um shot de 70 ml de suco de beterraba concentrado Beet it Sport Nitrate 400 Shot (NIT) (James White Drinks, Ipswich, UK) ou nenhuma

intervenção (CON). Uma canulação foi realizada por um indivíduo treinado em punção venosa e amostras de sangue para a determinação de lactato sanguíneo foram obtidas imediatamente antes e imediatamente após o exercício. Duas horas e meia após a suplementação ocorreram os testes contrarrelógio de 4-km. Todos os testes físicos foram realizados no Laboratório do Grupo de Pesquisa em Fisiologia Aplicada e Nutrição na Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo. Todos os testes foram realizados sob a supervisão de um fisiologista treinado, enquanto um médico (Dr. Luiz Riani) permaneceu de prontidão nas instalações da unidade, em caso de alguma emergência médica.

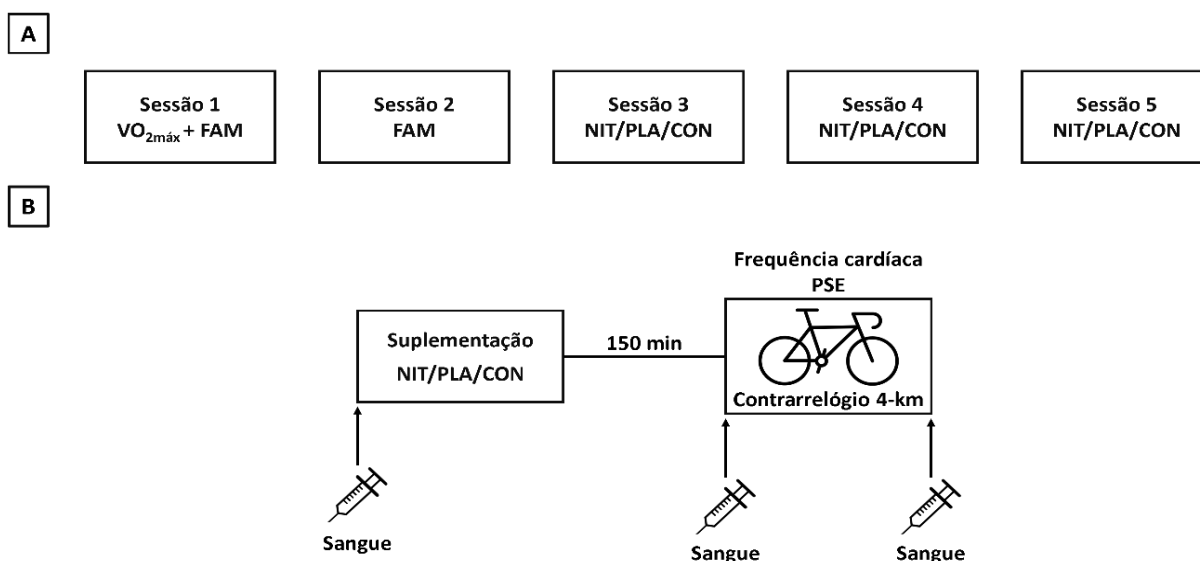


Figura 1: Desenho experimental do estudo. Figura 1B: Desenho das sessões 3, 4 e 5. FAM = familiarização; PSE = percepção subjetiva de esforço.

5.3 PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO

Antes dos testes, os participantes preencheram um protocolo de prontidão de atividade física (PAR-Q), especificamente elaborado para que indivíduos doentes não realizem exercício físico, a fim de assegurar a segurança dos candidatos ao estudo. Todas as perguntas realizadas são voltadas para a descoberta de qualquer potencial risco à saúde associado ao exercício. Caso o indivíduo respondesse “SIM” em uma ou mais questões, isso nos sugere que há uma condição limitante e, portanto, o indivíduo seria excluído do estudo para sua segurança. Ademais, foram recrutados apenas indivíduos já treinados, sendo assim, pouco provável que eles tivessem tais condições. Não obstante, o PAR-Q representa um método validado que assegura que potenciais riscos não sejam negligenciados. Ressalto que houve a confirmação verbal com cada um dos participantes de que eles estavam aptos a participar sem qualquer risco à integridade destes.

Também houve a confirmação verbal com cada um dos participantes que não havia qualquer potencial risco à saúde.

5.3.1 Teste Incremental

O teste incremental foi realizado em um ciclo ergômetro (Lode Excalibur, Lode, The Netherlands). A carga de trabalho inicial foi definida a 100 W para homens e a 75 W para mulheres e aumentou 25 W em estágios de 3 minutos até que ocorresse a exaustão voluntária do indivíduo, ou até que a cadência ficasse abaixo de 60 rpm. A frequência cardíaca foi aferida continuamente (Polar H7, Polar, USA), e a ventilação por minuto, consumo de oxigênio e quociente respiratório foram mensurados durante o exercício utilizando um analisador de gases portátil *breath-by-breath* (K5, Cosmed, Itália) e foram utilizados para determinar o consumo máximo de oxigênio. Um grande encorajamento verbal foi direcionado a cada indivíduo até que o teste terminasse. O maior valor médio calculado ao longo de um período de 30 segundos durante o teste foi definido como $VO_{2\text{máx}}$ (SAUNDERS et al., 2017).

5.3.2 Contrarrelógio de 4-KM

O teste contrarrelógio de 4-km foi realizado em uma bicicleta conectada a um rolo de treino (Cyclus 2, Avantronic, Leipzig, Germany). Este protocolo foi selecionado pois evidências meta-analíticas sugerem que o nitrato exerce maior efeito ergogênico em exercícios com duração entre 120 e 600 segundos (SILVA *et al.*, 2022) e estudos experimentais demonstraram a eficácia da sua suplementação em melhorar a performance de ciclistas treinados em um contrarrelógio de ciclismo de 4-km (LANSLEY et al., 2011). Os participantes realizaram um aquecimento de 10 minutos a uma carga de 125 W para homens e 100 W para mulheres, seguidos imediatamente do teste contrarrelógio individual de 4-km. Os participantes foram instruídos a completar o exercício no menor tempo possível. Nenhuma motivação ou informação específica foi dada, apenas a cada 400 m foi avisado quantos metros faltavam para completar o teste. A potência média e o tempo total do teste foram registrados como medidas-fim e a frequência cardíaca (Polar H7, Polar, USA) foi monitorada continuamente durante o exercício. Após os testes, os participantes foram solicitados a preencher um questionário sobre o que eles acham que ingeriram em cada dia (Apêndice 1).

5.4 ANÁLISE DE LACTATO SANGUÍNEO

A coleta sanguínea foi realizada por um indivíduo treinado em punção venosa e canulação. Nas sessões 3, 4 e 5, amostras de sangue foram extraídas da veia antecubital imediatamente antes do teste para averiguar o estado basal do indivíduo e imediatamente após o teste, a fim de verificar a intensidade do exercício.

As amostras sanguíneas foram imediatamente avaliadas utilizando a gasometria Stat Profile Prime Plus®, instrumento analisador de gases sanguíneos, (Nova Biomedical, EUA), para a determinação do lactato sanguíneo.

5.5 AVALIAÇÃO DIETÉTICA

A avaliação do consumo alimentar foi realizada através de recordatórios alimentares de 24 horas que consiste em listar os alimentos e bebidas consumidos durante 24 horas com o auxílio de um álbum de imagens de alimentos e porções em tamanho real. Suplementos alimentares também foram registrados.

Tal recordatório foi aplicado na primeira visita dos voluntários ao laboratório. Ademais, foi solicitado que os indivíduos realizem um diário alimentar de 24 horas antes de todas as sessões principais e em 2 dias não consecutivos, sendo um dia do fim de semana, para que a variação da ingestão que normalmente ocorre neste período constasse na avaliação e, assim, fosse possível obter dados do consumo alimentar usual.

Dessa forma, os diários alimentares das 24h precedentes aos testes principais foram utilizados para observar a ingestão total de energia, carboidratos, proteínas, gorduras e de nitrato antes dos testes, e os demais serviram para avaliar o consumo de nitrato habitual (em mg/dia) que foi estimado a partir de um banco de dados abrangente de nitrato para hortaliças (BLEKKENHORST et al, 2017) e as fontes não vegetais foram estimadas a partir do banco de dados de Griesenbeck e colaboradores (2009).

A ingesta de energia total e macronutrientes foi analisada pelo software Dietbox (Dietbox, Porto Alegre, Brasil).

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o programa SAS 9.3 para a realização das análises estatísticas. Para análise do desfecho principal (Tempo para Completar o Teste e Potência Média) e dos dados dos recordatórios alimentares de 24h, foi realizado um modelo misto utilizando condição experimental (CON, PLA ou NIT) como fator fixo e os indivíduos como fator aleatório. Para os desfechos secundários, nas análises da concentração sanguínea de lactato, foram utilizados modelos mistos utilizando condição experimental (CON, PLA ou NIT) e timing (pré e pós exercício) como fatores fixos, e os indivíduos como fator aleatório. O nível de significância assumido foi $p < 0,05$.

Quaisquer associações entre os benefícios ergogênicos da suplementação de nitrato e o consumo habitual de nitrato foram determinadas utilizando as correlações de Pearson entre a mudança delta (Δ tempo para conclusão) no desempenho do exercício e placebo (PLA) ou controle (CON), suplementação de nitrato (NIT) e o consumo habitual de nitrato (em mg/dia).

6. RESULTADOS

6.1 DESFECHOS DE DESEMPENHO

As variáveis de tempo para completar o contrarrelógio de 4-km e potência média se encontram na Tabela 2. As análises estatísticas mostram que não houve diferença significativa no tempo para completar o contrarrelógio ($p=0,33$), bem como na potência média ($p=0,23$) entre as sessões de suplementação de NIT, PLA ou CON.

TABELA 2. Tempo para completar o contrarrelógio de 4km (s) e potência média (w) ao longo das sessões experimentais.

Voluntários	Tempo para completar (s)			Potência Média (w)		
	CON	PLA	NIT	CON	PLA	NIT
1	411,9	413,8	419,1	202	198	191
2	440,6	474,4	478,3	173	143	140
3	466,9	462,1	464,8	146	149	146
4	393,4	392,9	385,3	234	233	248
5	343,4	346,0	345,3	357	350	349
6	369,6	366,8	364,7	284	290	295
7	365,8	369,6	375,1	291	284	270
8	385,8	388,3	381,8	250	242	263
9	336,2	349,1	343,1	368	331	349
10	334,0	332,9	328,8	369	372	385
Média ±	384,8	389,6	388,6	267,4	259,2	263,6
DP	44,6	48,0	50,7	80,8	80,3	85,1

6.2 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR

A média e desvio padrão do consumo dietético habitual dos voluntários se encontram na tabela 3.

TABELA 3. Distribuição do consumo dietético habitual médio e desvio padrão de energia (kcal), macronutrientes (g/kg) e nitrato (mg).

Consumo Dietético Médio \pm Desvio Padrão					
Voluntários	Energia (Kcal)	PRO (g/Kg)	CHO (g/Kg)	LIP (g/Kg)	NIT (mg)
1	1762 \pm 127	1,3 \pm 0,2	3,6 \pm 0,2	1,1 \pm 0,4	107 \pm 89
2	1880 \pm 478	1,5 \pm 0,4	3,1 \pm 0,9	0,9 \pm 0,3	50 \pm 5
3	1613 \pm 142	1,2 \pm 0,2	3,8 \pm 0,2	0,6 \pm 0,3	74 \pm 68
4	1845 \pm 329	1,6 \pm 0,5	3,3 \pm 0,3	0,7 \pm 0,3	106 \pm 2
5	2290 \pm 241	1,5 \pm 0,0	3,0 \pm 0,5	0,5 \pm 0,1	104 \pm 4
6	2871 \pm 239	1,9 \pm 0,3	3,9 \pm 0,8	0,9 \pm 0,0	198 \pm 73
7	3144 \pm 968	1,4 \pm 0,7	5,5 \pm 0,9	1,3 \pm 0,6	79 \pm 31
8	2581 \pm 248	2,0 \pm 0,6	5,2 \pm 0,4	1,0 \pm 0,3	218 \pm 138
9	2671 \pm 459	1,8 \pm 0,6	4,1 \pm 0,5	1,2 \pm 0,2	134 \pm 158
10	3209 \pm 550	1,7 \pm 0,4	5,3 \pm 1,1	1,4 \pm 0,3	57 \pm 15
Média \pm	2387	1,6	4,1	1,0	113
DP	592	0,3	0,9	0,3	56

A tabela 4 demonstra a média e desvio padrão do consumo dietético das 24h precedentes aos testes principais dos voluntários. As análises estatísticas mostraram que não houve diferença entre as sessões no consumo médio de energia ($p=0,15$), proteínas ($p=0,31$), carboidratos ($p=0,76$) e nitrato ($p=0,59$), porém, houve diferença no consumo médio de lipídeos ($p=0,02$) entre as sessões CON e NIT demonstrado pelo teste de pós-hoc ($p=0,02$).

TABELA 4. Distribuição do consumo dietético médio e desvio padrão de energia (kcal), macronutrientes (g/kg) e nitrato (mg) das 24h anteriores aos testes.

Consumo Dietético Médio \pm Desvio Padrão das 24h Precedentes aos Testes			
	Média \pm DP		
	CON	PLA	NIT
Energia (Kcal)	2328 \pm 859	2201 \pm 753	1833 \pm 810
PRO (g/Kg)	1,5 \pm 0,4	1,5 \pm 0,3	1,3 \pm 0,4
CHO (g/Kg)	3,5 \pm 1,3	3,6 \pm 1,2	3,3 \pm 1,9
LIP (g/Kg)	1,2 \pm 0,5*	0,9 \pm 0,3	0,7 \pm 0,4*
NIT (mg)	68 \pm 38	88 \pm 66	94 \pm 73

* diferença significativa ($p=0,02$) entre as sessões CON e NIT demonstrado pelo teste de pós-hoc ($p=0,02$).

6.3 CORRELAÇÕES ENTRE A MUDANÇA NO DESEMPENHO FÍSICO E O CONSUMO HABITUAL DE NITRATO (EM MG/DIA)

Não houve correlação entre ingestão de nitrato dietético e Δ tempo para completar o contrarrelógio entre NIT e PLA ($p=0,15$; $r=0,50$, $r^2=0,25$; Figura 2), assim como entre NIT e CON ($p=0,20$; $r=0,45$, $r^2=0,20$; Figura 3).

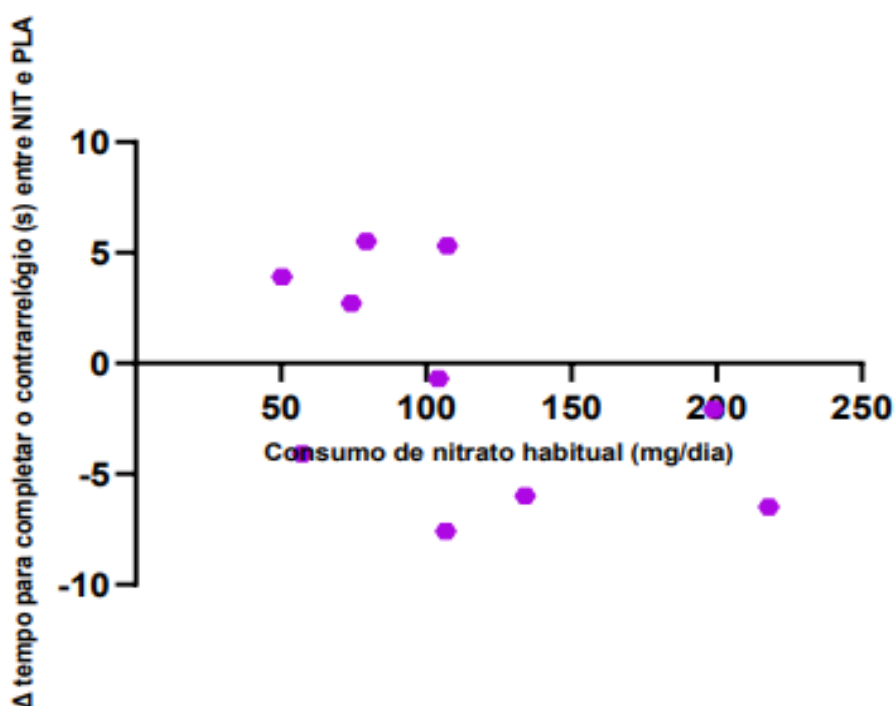


FIGURA 2. Correlação entre a mudança no desempenho no exercício (Δ) entre NIT e PLA e o conteúdo de nitrato dietético.

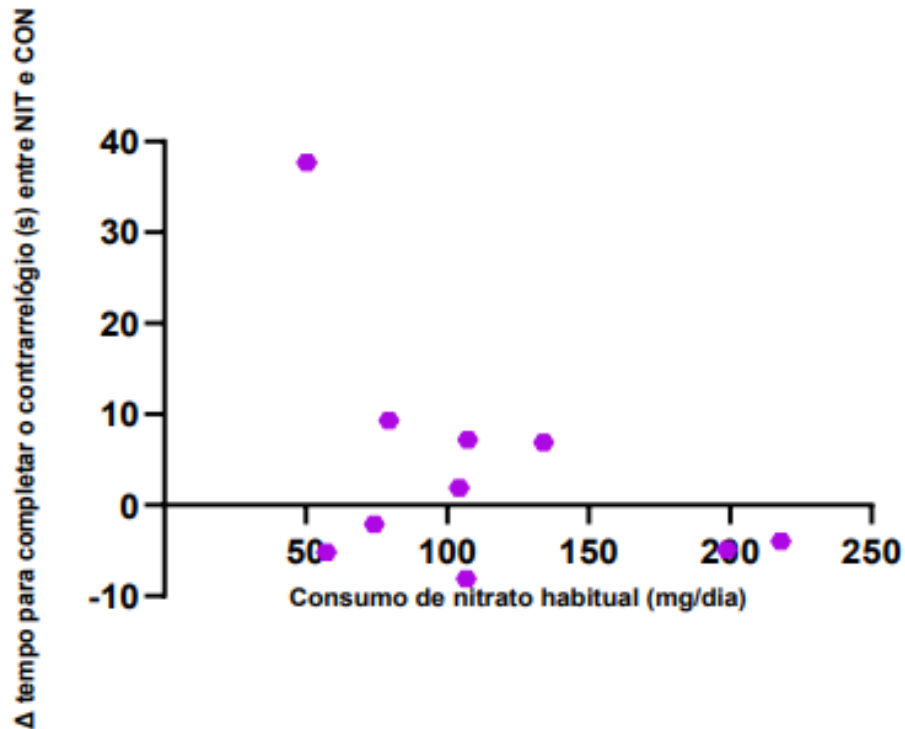


FIGURA 3. Correlação entre a mudança no desempenho no exercício (Δ) entre NIT e CON e o conteúdo de nitrato dietético.

6.4 ASPECTOS FISIOLÓGICOS

Já no que diz respeito às análises sanguíneas, não houve diferenças no lactato sanguíneo entre as sessões ($p=0,72$), embora tenha havido um aumento da sua concentração do pré para o pós-exercício ($p<0,001$). As análises estatísticas também sugerem que não houve diferença significativa na frequência cardíaca média ($p=0,63$), bem como na frequência cardíaca máxima ($p=0,53$) entre as sessões, como demonstrado a seguir.

TABELA 5. Média e desvio padrão de Lactato sanguíneo (mmol/L) e Frequência Cardíaca média e máxima (bpm) ao longo das sessões experimentais.

Aspectos Fisiológicos Mensurados			
	Média ± DP		
	CON	PLA	NIT
Lactato pré Teste (mmol/L)*	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,1 ± 0,4
Lactato pós Teste (mmol/L)*	13,3 ± 3,1	12,3 ± 3,5	13,1 ± 4,2
Frequência Cardíaca Média (bpm)	166 ± 11,4	162 ± 16,4	161 ± 13,2
Frequência Cardíaca Máxima (bpm)	177 ± 10,4	173 ± 15,6	175 ± 10,6

*diferença significativa entre o Lactato pré-teste e Lactato pós-teste (p<0,001).

7. DISCUSSÃO

O principal achado deste estudo foi que não houve diferença significativa no tempo para completar o contrarrelógio entre as sessões de suplementação de NIT, PLA ou CON e não houve correlação entre ingestão de nitrato dietético e delta (Δ) tempo para completar o contrarrelógio entre as sessões de suplementação de NIT e PLA, bem como entre as sessões de suplementação de NIT e CON. Os resultados também demonstram que não houve diferença significativa na frequência cardíaca média, bem como na frequência cardíaca máxima entre as sessões, e que houve um aumento na concentração de lactato sanguíneo do pré- para o pós-exercício, mas não houve diferenças entre as sessões. Desse modo, esses dados indicam que não há relação entre o consumo habitual de nitrato e a resposta de desempenho à sua suplementação nas condições testadas.

A suplementação de 6.2 mmol de nitrato não melhorou a performance no contrarrelógio de ciclismo de 4-km em comparação a suplementação de placebo ou controle. Esse achado é contrário a diversas evidências experimentais e meta-analíticas que sugerem que a suplementação de nitrato, intervenção capaz de aumentar a síntese de NO, pode reduzir o custo de oxigênio do exercício submáximo (LARSEN *et al.*, 2007; BAILEY *et al.*, 2009; PAWLAK-CHAOUCH *et al.*, 2016) e melhorar a performance e a capacidade física (BAILEY *et al.*, 2009; LANSLEY *et al.*, 2011; HOON *et al.*, 2013; SENEFELD *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2022), inclusive de contrarrelógios de ciclismo de 4-km (LANSLEY *et al.*, 2011). Isso pode ser

explicado pelo fato de a amostra do presente estudo ser pequena; pela inclusão de mulheres na amostra, uma vez que alguns estudos (LANE et al., 2014; BUCK et al., 2015; GLAISTER et al., 2015; RIENKS et al., 2015; JONVIK et al., 2018; WICKHAM et al., 2019; HOGWOOD et al., 2023; ZEVALLOS et al., 2023) sugerem que a suplementação de nitrato não funciona em mulheres e pode até atrapalhar o desempenho (HOGWOOD et al., 2023); ou simplesmente pela suplementação de nitrato não funcionar, como evidenciam alguns estudos (HOON et al., 2013; MCMAHON et al., 2017; VAN DE WALLE et al., 2018) que não conseguiram encontrar um efeito significativo de melhoria de desempenho com a suplementação de nitrato sob algumas condições.

No que diz respeito ao consumo de nitrato habitual, neste estudo, a média de consumo entre os voluntários foi de 113 ± 56 mg/d, ou seja, uma grande variação interindividual, uma vez que não controlamos o consumo habitual. Tais resultados estão alinhados com o que diz o estudo de Jonvik e colaboradores (2016a), que demonstra uma ingestão mediana habitual de nitrato de 106 mg/d com intervalo interquartil de [75-170] mg/d entre atletas altamente treinados. Dessa maneira, mesmo que Porcelli et al., (2016) relatem que a dose mínima para se obter um efeito ergogênico do nitrato, de 310mg (SENEFELD et al., 2020; SILVA et al., 2022) pode ser alcançada via dieta, a partir de alimentos ricos nesse composto e isso pode ser uma estratégia viável e eficaz para melhorar o desempenho do exercício, isso parece não acontecer com facilidade, já que menos da metade (45,5%) da população brasileira consome verduras e legumes cinco vezes ou mais na semana (COVITEL, 2023), o que impacta diretamente na ingestão de nitrato. Além disso, é difícil mensurar o conteúdo de nitrato nos alimentos pois o teor de nitrato nos vegetais pode variar consideravelmente de acordo com as condições de cultivo (geografia e época), o tempo decorrido desde a colheita e o preparo dos alimentos (KYRIACOU et al., 2019), além de não existirem muitos estudos que demonstrem a quantidade de nitrato nos alimentos.

Dessa forma, como esperado, não houve uma correlação entre o consumo habitual de nitrato e o tempo para completar o contrarrelógio de ciclismo de 4-km – resultado este que vai ao contrário do que sugere Jonvik e colaboradores (2016b), de que a ingestão regular de vegetais ricos em nitrato pode limitar a resposta de desempenho à sua suplementação, uma vez que esperaríamos tal efeito com um consumo maior de nitrato combinado com um efeito positivo da sua suplementação, o que não ocorreu.

Vale ressaltar também o consumo de macronutrientes nas 24h antes dos testes, uma vez que o consumo adequado antes da prática esportiva é essencial para o desempenho, sendo

especialmente importante a ingestão de carboidratos, que é reconhecidamente o macronutriente que mais influencia na performance atlética (BURKE et al., 2011; THOMAS et al., 2016). Estudos indicam que uma ingestão de carboidratos na faixa de 5-8 g/kg de peso corporal pode otimizar o desempenho (THOMAS et al., 2016; SBME 2003). No entanto, os resultados mostraram que o consumo médio de carboidratos dos participantes foi abaixo do recomendado, porém, como não foi significativamente diferente entre as sessões, não afeta nossos achados.

Quanto aos outros macronutrientes, o consumo médio de proteínas também não foi diferente entre as sessões e se encontra dentro das recomendações para atletas, entre 1,2-2,0 g/kg, dependendo da intensidade do treinamento (JAGER et al., 2017). Já o consumo médio de lipídeos foi diferente entre as sessões CON e NIT, mas evidências (CORREIA et al., 2014) sugerem que esse macronutriente não é o mais eficiente para o fornecimento de energia em exercícios de alta intensidade e curta duração, como o contrarrelógio de ciclismo de 4-km, assim, tal dado não compromete nossos achados, todavia, ainda se encontra dentro das recomendações que indica valores entre 20-35% das calorias diárias provenientes de lipídeos (JAGER et al., 2017). Já o consumo de nitrato não apresentou diferença entre as sessões e se mostrou ainda mais baixo que o consumo habitual com uma grande variação interindividual nas 24h antes dos testes. No entanto, a quantidade de nitrato consumida (habitualmente e nas 24 horas anteriores aos testes) é substancialmente menor do que a dose aguda que administramos (~25% ou menos) e provavelmente teve pouca ou nenhuma influência (considerando que a meta-análise de SILVA e colaboradores (2022) sugere que >5 mmol ou 310 mg de nitrato são necessários para se obter um efeito ergogênico).

Além disso, como esperado, já que a suplementação de nitrato não mostrou diferença no desempenho, esse estudo não demonstrou diferenças entre as sessões de suplementação de nitrato, placebo ou controle nos aspectos fisiológicos mensurados – frequência cardíaca média e máxima e lactato sanguíneo -, resultados estes que corroboram com estudos já existentes. No estudo de Lansley e colaboradores (2010), nove indivíduos saudáveis foram submetidos a testes de esteira e de extensão de joelho após suplementação crônica (seis dias) de suco de beterraba ou placebo, e não apresentaram diferença na frequência cardíaca bem como no lactato sanguíneo após a suplementação com suco de beterraba quando comparado ao placebo. O mesmo ocorre no estudo de Muggeridge e colaboradores (2013), em que estudaram canoístas treinados, avaliando o desempenho após 3 horas da ingestão e 70 ml de suco de beterraba concentrado em nitrato ou placebo. Foi verificada uma pequena redução na frequência cardíaca com a suplementação de nitrato em relação ao placebo, porém não foi estatisticamente

significativa, assim como os valores de lactato sanguíneo. Em outro estudo, Cermak e colaboradores (2012), avaliaram o efeito após suplementação crônica (seis dias) de suco de beterraba (140 ml) concentrado em nitrato ($\sim 8,7\text{mmol NO}_3^-$) ou placebo na frequência cardíaca e no lactato sanguíneo –entre outros parâmetros- durante um teste de contrarrelógio de ciclismo de 10-km, e não foram encontradas diferenças significativas na frequência cardíaca, bem como no lactato sanguíneo com suplementação de nitrato ou placebo.

Por fim, no que diz respeito às limitações do estudo, o tamanho amostral é pequeno, o que aumenta as chances de não serem encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os resultados. Isso ocorre porque, em uma amostra pequena todas as interferências externas como alimentação, exercício físico, bem como fatores emocionais e condições de saúde, impactam de maneira mais significativa nos resultados. Além disso, neste trabalho, solicitamos aos participantes que mantivessem o consumo alimentar similar nos dias anteriores aos testes, mas, ainda assim, uma grande amplitude foi encontrada. Dessa maneira, pode-se afirmar que este tipo de controle não é suficiente para reduzir a variação no consumo alimentar. Outro fator limitante é a dificuldade para mensurar o conteúdo de nitrato nos alimentos, já que o teor desse composto nos vegetais pode variar consideravelmente conforme as condições de crescimento (geografia e época), o tempo decorrido desde a colheita e o preparo. Além disso, há poucos estudos, ou banco de dados que demonstrem a quantidade de nitrato nos alimentos. Vale ressaltar também a dificuldade em recrutar voluntárias do sexo feminino elegíveis para o estudo considerando os critérios de inclusão e exclusão e, principalmente que possuam boa disponibilidade para tantas visitas ao laboratório, o que não permitiu a análise de comparação entre os sexos.

8. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos até o momento indicam que não há relação entre o consumo habitual de nitrato e resposta de desempenho à sua suplementação. Contudo, é importante ressaltar que o estudo ainda está em andamento, com dados sendo coletados e que serão analisados posteriormente para conclusões mais precisas. De qualquer forma, os achados desse estudo serão de grande relevância para atletas que buscam estratégias para melhorar o desempenho esportivo e para o avanço do conhecimento sobre o nitrato como recurso ergogênico.

9. CONFLITO DE INTERESSE

Apesar das bebidas utilizadas neste estudo pertencerem a uma marca que é comercializada pela James White Drinks Ltd., Ipswich, Reino Unido, declaramos que não há nenhum conflito de interesse com esta empresa. Ademais, é válido ressaltar que tais bebidas estão sendo compradas pelo nosso grupo de pesquisa e não foram doadas.

10.IMPLICAÇÕES PARA A PRÁTICA NO CAMPO DE ATUAÇÃO

Entre as várias áreas de atuação do nutricionista, conforme a Resolução nº 600 do Conselho Federal de Nutricionistas, de 25 de fevereiro de 2018, destaca-se a Nutrição em Esportes e Exercício Físico. Nesse contexto, o nutricionista desempenha um papel fundamental ao realizar uma avaliação detalhada do perfil antropométrico, bioquímico e da composição corporal do atleta ou desportista, além de elaborar um plano alimentar personalizado de acordo com a modalidade esportiva e as diferentes fases de treinamento, com o objetivo de otimizar o desempenho e manter o bem-estar.

O nutricionista especializado em esportes e exercício físico também é responsável por estabelecer estratégias nutricionais específicas, como as relacionadas à reposição hídrica e energética, e, quando necessário, à prescrição de suplementos alimentares. Para isso, é essencial que o nutricionista possua uma base sólida de conhecimento sobre estratégias nutricionais voltadas para cada modalidade esportiva, além de domínio sobre suplementos alimentares com benefícios comprovados pela literatura científica.

Dada a complexidade e as constantes inovações na área, é imprescindível que o nutricionista esportivo esteja sempre atualizado com a literatura científica sobre suplementação e seu impacto no desempenho e na performance física.

Dessa forma, os resultados obtidos neste estudo, até o presente momento, sugerem que a suplementação de nitrato não é eficaz para melhorar o desempenho no contrarrelógio de ciclismo de 4-km. Desse modo, esses dados são altamente relevantes para atletas que buscam estratégias de melhoria de desempenho, além de avançar o conhecimento sobre o nitrato como um recurso ergogênico, oferecendo uma importante atualização para nutricionistas especializados em esportes e exercício físico - que devem ter cautela ao receitar essa suplementação-, uma vez que apesar das limitações existentes, este estudo é pioneiro ao

investigar diretamente a relação entre a ingestão habitual de nitrato e a resposta de desempenho à sua suplementação, controlando variáveis que influenciam a diversidade da microbiota oral e utilizando protocolos adequados de suplementação e exercício propícios para a observação de um efeito positivo.

11.REFERÊNCIAS

- ATKINSON, Greg; REILLY, Thomas. Circadian variation in sports performance. **Sports Medicine**, v. 21, n. 4, p. 292-312, 1996.
- BAILEY, Stephen J. et al. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway: Its role in human exercise physiology. **European Journal of Sport Science**, v. 12, n. 4, p. 309-320, 2012.
- BLEKKENHORST LC, Prince RL, Ala NC, Croft KD, Lewis JR, Devine A, Shinde S, Woodman RJ, Hodgson JM, Bondonno CP. Desenvolvimento de um banco de dados de referência para avaliação de nitrato dietético em hortaliças. **Mol Nutr Alimentos Res.**, 61 (8) (2017), pág. 1600982
- BRYAN NS. Nitrito na biologia do óxido nítrico: causa ou consequência? Uma revisão baseada em sistemas. **Livre Radic Biol Med.** 2006; 41:691–701. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.05.019.
- BUCK, Christopher L. et al. Effects of sodium phosphate and beetroot juice supplementation on repeated-sprint ability in females. **European journal of applied physiology**, v. 115, n. 10, p. 2205-2213, 2015.
- BURKE, L. M., Hawley, J. A., Wong, S. H., & Jeukendrup, A. E. (2011). Carbohydrates for training and competition. *Journal of Sports Sciences*, 29(S1), S17-S27.
- CERMAK, Naomi M.; GIBALA, Martin J.; VAN LOON, Luc JC. Nitrate supplementation's improvement of 10-km time-trial performance in trained cyclists. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 22, n. 1, p. 64-71, 2012.
- CONSELHO FEDERAL DE NUTRICIONISTAS. Resolução CFN no 600, de 25 de fevereiro de 2018 2018.
- CORREIA O, C. R.; SANTOS, R. A.; SILVA-CAVALCANTE, M. D.; BERTUZZI, R.; KISS, M. A. P. D.; et al. Prior Low- or High-Intensity Exercise Alters Pacing Strategy, Energy System Contribution and Performance during a 4-km Cycling Time Trial. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 10, e110320, 2014.
- DECROIX, Lieselot et al. Guidelines to classify female subject groups in sport-science research. **International journal of sports physiology and performance**, v. 11, n. 2, p. 204-213, 2016.
- DE PAUW, Kevin *et al.* Guidelines to Classify Subject Groups in Sport-Science Research. **International Journal Of Sports Physiology And Performance**, v. 8, n. 2, p. 111-122, 2013.
- ELLIOTT-SALE, Kirsty J. et al. Methodological considerations for studies in sport and exercise science with women as participants: a working guide for standards of practice for research on women. **Sports Medicine**, v. 51, n. 5, p. 843-861, 2021.
- FAUL, Franz et al. G* Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. **Behavior research methods**, v. 39, n. 2, p. 175-191, 2007.

GOVONI, Mirco et al. The increase in plasma nitrite after a dietary nitrate load is markedly attenuated by an antibacterial mouthwash. **Nitric oxide**, v. 19, n. 4, p. 333-337, 2008.

GLAISTER, Mark et al. Effects of dietary nitrate, caffeine, and their combination on 20-km cycling time trial performance. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 29, n. 1, p. 165-174, 2015.

GRIESENBECK JS, Steck MD, Huber JC, Sharkey JR, Rene AA, Brender JD. Desenvolvimento de estimativas de nitratos, nitritos e nitrosaminas dietéticos para uso com o questionário de frequência alimentar Willet curto. *Nutr J.*, 8 (1) (2009), p. 16).

HALLAL PC, Rocha ACCA da, Sardinha LMV, Barros AJD, Wehrmeister FC. *Inquérito Telefônico de Fatores de Risco para Doenças Crônicas Não Transmissíveis em Tempos de Pandemia* (Covitel): aspectos metodológicos. *Cad Saúde Pública* [Internet]. 2023;39(9):e00248922. Available from: <https://doi.org/10.1590/0102-311XPT248922>

HOGWOOD AC, Ortiz de Zevallos J, Kruse K, De Guzman J, Buckley M, Weltman A, Allen JD. The effects of inorganic nitrate supplementation on exercise economy and endurance capacity across the menstrual cycle. *J Appl Physiol* (1985). 2023 Nov 1;135(5):1167-1175. doi: 10.1152/jappphysiol.00221.2023. Epub 2023 Sep 21. PMID: 37732374.

HOON, Matthew W. et al. The effect of variable doses of inorganic nitrate-rich beetroot juice on simulated 2000-m rowing performance in trained athletes. **International journal of sports physiology and performance**, v. 9, n. 4, p. 615-620, 2014.

HOON MW, Johnson NA, Chapman PG, Burke LM. The effect of nitrate supplementation on exercise performance in healthy individuals: a systematic review and meta-analysis. **Int J Sport Nutr Exerc Metab.** 2013;23(5):522–32

HORD NG, Tang Y, Bryan NS. Fontes alimentares de nitratos e nitritos: o contato fisiológico para potenciais benefícios à saúde. **Sou J Clin Nutr.** 2009; 90:1–10. DOI: 10.3945/ajcn.2008.27131.

JAGER, R., Kerksick, C. M., Campbell, B. I., Cribb, P. J., Wells, S. D., Skwiat, T. M., ... & Antonio, J. (2017). International Society of Sports Nutrition Position Stand: protein and exercise. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, 14(1), 1-25.

JONES, Andrew M. Dietary nitrate supplementation and exercise performance. **Sports Medicine**, v. 44, n. 1, p. 35-45, 2014.

JONES, Andrew M. et al. Dietary nitrate and physical performance. **Annual review of nutrition**, v. 38, p. 303-328, 2018.

JONVIK KL, Nyakayiru J, Van Dijk J-W, Wardenaar FC, Van Loon LJ, Verdijk LB Habitual Dietary Nitrate Intake in Highly Trained Athletes. **Int J Sport Nutr Exerc Metab.** 2016:1-25, <https://doi.org/10.1123/ijsnem.2016-0239>.

JONVIK KL, Nyakayiru J, Pinckaers PJ, Senden JM, van Loon LJ, Verdijk LB. Nitrate-rich vegetables increase plasma nitrate and nitrite concentrations and lower blood pressure in healthy adults. **J Nutr**. 2016;146:986–93.

JONVIK, Kristin L. et al. The effect of beetroot juice supplementation on dynamic apnea and intermittent sprint performance in elite female water polo players. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 28, n. 5, p. 468-473, 2018.

KADACH S, Park JW, Stoyanov Z, Black MI, Vanhatalo A, Burnley M, Walter PJ, Cai H, Schechter AN, Piknova B, Jones AM. ¹⁵ N-labeled dietary nitrate supplementation increases human skeletal muscle nitrate concentration and improves muscle torque production. **Acta Physiol (Oxf)**. 2023 Mar;237(3):e13924. doi: 10.1111/apha.13924. Epub 2023 Jan 18. PMID: 36606507.

KYRIACOU MC, Soteriou GA, Colla G, Rouphael Y. Ocorrência de nitrato e nitrito em saladas frescas mediterrâneas e sua modulação pelas práticas de pré-colheita e condições pós-colheita. **Alimentos Chem**. 2019; 285:468–77.

LANE, Stephen C. et al. Single and combined effects of beetroot juice and caffeine supplementation on cycling time trial performance. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 39, n. 9, p. 1050-1057, 2014.

LANSLEY, Katherine E. et al. Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 43, n. 6, p. 1125-1131, 2011.

LANSLEY, K.E.; Winyard, P.G.; Fulford, J.; Vanhatalo, A.; Bailey, S.J.; Blackwell, J.R.; Dimenna, F.J.; Gilchrist, M.; Benjamin, N.; Jones, A.M. Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of walking and running: a placebo-controlled study. **Journal of Applied Physiology**. Vol. 110. 2010. p.591-600.14

MASON, Robert L.; GUNST, Richard F.; HESS, James L. **Statistical design and analysis of experiments: with applications to engineering and science**. John Wiley & Sons, 2003.

MAUGHAN, Ronald J. et al. IOC consensus statement: dietary supplements and the high-performance athlete. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 28, n. 2, p. 104-125, 2018.

MCMAHON NF, Leveritt MD, Pavey TG. The effect of dietary nitrate supplementation on endurance exercise performance in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. **Sports Med**. 2017;47(4):735–56

MUGGERIDGE, D.J.; Howe, C.C.F.; Spendiff, O.; Pedlar, C.; James, P.E.; Easton, C. The effects of a single dose of concentrated beetroot juice on performance in trained flatwater kayakers. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**. Vol. 23. 2013. p.498-506

MURTAZA, Nida et al. Analysis of the effects of dietary pattern on the oral microbiome of elite endurance athletes. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 614, 2019.

PEELING, Peter et al. Beetroot juice improves on-water 500 m time-trial performance, and laboratory-based paddling economy in national and international-level kayak athletes. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 25, n. 3, p. 278-284, 2015.

PORCELLI S, Pugliese L, Rejc E, Pavei G, Bonato M, Montorsi M, et al. Effects of a short-term high-nitrate diet on exercise performance. **Nutrients** . 2016;8:534.

PORCELLI, Simone et al. Aerobic Fitness Affects the Exercise Performance Responses to Nitrate Supplementation. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 47, n. 8, p. 1643-1651, 2015.

RIENKS, Jordyn N. et al. Effect of beetroot juice on moderate-intensity exercise at a constant rating of perceived exertion. **International journal of exercise science**, v. 8, n. 3, p. 277, 2015.

SAUNDERS, Bryan et al. Placebo in sports nutrition: a proof-of-principle study involving caffeine supplementation. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 27, n. 11, p. 1240-1247, 2017.

SENEFELD, Jonathon W. et al. Ergogenic effect of nitrate supplementation: A systematic review and meta-analysis. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 52, n. 10, p. 2250, 2020.

SHANNON, Oliver Michael et al. Dietary nitrate supplementation enhances short but not longer duration running time-trial performance. **European journal of applied physiology**, v. 117, n. 4, p. 775-785, 2017.

SILVA, Kaio Vinicius C. et al. Factors that Moderate the Effect of Nitrate Ingestion On Exercise Performance in Adults: A Systematic Review With Meta-Analyses and Meta-Regressions. **Advances in Nutrition**, 2022.

SOCIADADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE. Diretriz da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte: modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para a saúde. São Paulo: **Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte**, 2003.

SWINTON, Paul A. et al. A statistical framework to interpret individual response to intervention: paving the way for personalized nutrition and exercise prescription. **Frontiers in Nutrition**, v. 5, p. 41, 2018.

THOMAS, D. T., Erdman, K. A., & Burke, L. M. (2016). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and athletic performance. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, 116(3), 501-528.

THOMPSON, Christopher et al. Dietary nitrate supplementation improves sprint and high-intensity intermittent running performance. **Nitric Oxide**, v. 61, p. 55-61, 2016.

VAN DE WALLE GP, Vukovich MD. The effect of nitrate supplementation on exercise tolerance and performance: a systematic review and meta-analysis. ***J Strength Cond Res.*** 2018;32(6):1796–808

VANHATALO A, Bailey SJ, Blackwell JR, DiMenna FJ, Pavey TG, Wilkerson DP, Benjamin N, Winyard PG, Jones AM. Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise. ***Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*** 299: R1121–R1131, 2010. First published August 11, 2010; doi:10.1152/ajpregu.00206.2010.

WICKHAM, Kate A. et al. No effect of beetroot juice supplementation on exercise economy and performance in recreationally active females despite increased torque production. ***Physiological reports***, v. 7, n. 2, p. e13982, 2019.

ZEVALLOS, Joaquin et al. Sex differences in the effects of inorganic nitrate supplementation on exercise economy and endurance capacity in healthy young adults. ***Journal of Applied Physiology***, v. 135, n. 5, p. 1157-1166, 2023.

APÊNDICE 1. Questionário pós exercício

1. Qual suplemento você acredita ter ingerido hoje?

- a. Nitrato
- b. Placebo
- c. Não sei

2. Por quê?

3. Quanto você acredita que seu desempenho foi influenciado pelo tratamento?

Nada

Pouco

Moderadamente

Muito

Extremamente

4. Por quê?
