



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO EM NUTRIÇÃO CLÍNICA

O EFEITO DA INGESTÃO DE UM CAFÉ COM E SEM CANELA NA GLICÉMIA PÓS PRANDIAL EM ADULTOS SAUDÁVEIS

Trabalho submetido por
Sara Raquel Soares Fernandes
para a obtenção do grau de Mestre em Nutrição Clínica

Setembro de 2013



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO EM NUTRIÇÃO CLÍNICA

O EFEITO DA INGESTÃO DE UM CAFÉ COM E SEM CANELA NA GLICÉMIA PÓS-PRANDIAL EM ADULTOS

Trabalho submetido por
Sara Raquel Soares Fernandes
para a obtenção do grau de Mestre em Nutrição Clínica

Trabalho orientado por
Professora Doutora Paula Pereira

setembro de 2013

Agradecimentos

Esta dissertação é o ponto alto de um objetivo académico a que me dediquei nos últimos meses e que não seria possível sem o apoio de um número de pessoas.

Os meus agradecimentos à Prof^a Doutora Paula Pereira, pela sua disponibilidade e orientação durante a elaboração deste trabalho científico.

À Prof^a Doutora Maria Fernanda de Mesquita pelo apoio ao longo deste Mestrado.

Ao Prof^o Doutor José Brito pela orientação essencial para a validação deste estudo.

Às Prof.^{as} Doutoras Alexandra Bernardo e Margarida Moncada pela instrução laboratorial essencial para a avaliação da capacidade antioxidante dos alimentos em estudo.

Aos meus amigos e colegas pelo incentivo e apoio.

À minha família, especialmente aos meus pais, pela compreensão e apoio incondicional demonstrado.

À Ana Tim Tim pela motivação, disponibilidade, orientação e apoio essenciais para a realização deste trabalho.

Ao Gabriel Baguet pela confiança e apoio constante.

Um agradecimento muito especial a todos os participantes que tão prontamente se disponibilizaram para colaborar.

Resumo

Introdução: A canela é uma das especiarias mais conhecidas e de uso generalizado. Estudos anteriores demonstraram que a sua ingestão reduz tanto a glicemia pós-prandial como os níveis de *stress* oxidativo, o que parece estar subjacente à resistência à insulina. A maioria dos estudos sobre a canela procura verificar seus efeitos em doentes diabéticos de tipo 2, mas estudos em indivíduos saudáveis são raros.

Objetivos: Observar se existe diferença entre os valores de glicemia pós-prandial em dois grupos após a ingestão de um café expresso com 1g de canela e após a ingestão de um café expresso simples. Além disso, pretendeu-se analisar a atividade antioxidante do pau-de-canela e do café; e determinar se os níveis de antioxidantes variam com a presença de canela no café.

Materiais e Métodos: Este estudo, realizado em indivíduos saudáveis do distrito de Aveiro, onde ao longo de 2 horas, foi monitorizada a sua glicémia, antes e depois da ingestão de um café com canela. Através dos métodos de FRAP e ABTS foi quantificada a presença de compostos fenólicos e avaliada a capacidade antioxidante. Após recolha, os dados foram analisados estatisticamente por análise multivariada com recurso ao *software* SPSS.

Resultados e Discussão: Apesar de não existirem diferenças da glicémia entre o grupo experimental e controlo, os resultados sugerem que a adição de 1 g de canela ao café expresso diminuiu os níveis de glicémia entre os momentos T₃₀ e T₉₀. Para além disso, verificou-se que a capacidade antioxidante destes dois alimentos mostrou ser elevada, sugerindo um possível efeito sinérgico.

Conclusão: A canela parece ter efeito sobre os níveis de glicémia mas depende da dose ingerida e da duração do ensaio clínico. A capacidade antioxidante da canela *burmanii* demonstrou ser elevada especialmente quando combinada com café expresso.

Palavras-chave: Canela, glicémia pós-prandial, polifenóis, adultos saudáveis

Abstract

Introduction: Cinnamon is a popular spice with a widespread use. Previous studies have shown that its intake reduced both postprandial glycaemia and oxidative stress levels, which often underline insulin resistance. Most studies on cinnamon seek to verify its effects on type 2 Diabetes patients but studies on healthy subjects are rare.

Objectives: To observe if there are differences between postprandial glycaemia values in two groups which one has drunk an espresso coffee with 1g of cinnamon and the other just an espresso coffee. In addition we sought to examine antioxidant capacity of cinnamon and espresso coffee to determine whether antioxidant levels vary with the presence of cinnamon in coffee.

Materials and Methods:

This clinical trial was performed on thirty two healthy subjects from Aveiro where blood glucose levels were assessed at minutes 0, 30, 60, 90 and 120 after drinking coffee with and without cinnamon. The evaluation of antioxidant capacity of cinnamon and coffee was determined by the FRAP and ABTS methods. After collection, the data were statistically analysed by multivariate analysis using the SPSS software.

Results and Discussion: Although there are no differences between the postprandial glycaemia between control and experimental groups, the results suggest that the addition of 1 g of cinnamon in an espresso coffee decreased blood glucose levels between times T_{30} and T_{90} . In addition, it was found that the antioxidant capacity of these two ingredients proved to be high, suggesting a potential synergistic effect.

Conclusion: Cinnamon seems to have an effect on blood glucose levels but it seems dose and time depended. The antioxidant capacity of cinnamon *burmanii* proved to be high especially when combined with an espresso coffee.

Keywords: Cinnamon, postprandial glycaemia, polyphenols, healthy adults

Índice geral

AGRADECIMENTOS	I
RESUMO	III
ABSTRACT	V
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE TABELAS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XIII
OBJETIVOS.....	XV
CAPÍTULO 1	1
INTRODUÇÃO GERAL	1
1. Glicémia	2
2. Canela	3
2.1. Caracterização dos compostos químicos da canela.....	5
2.2. Mecanismo de ação do efeito hipoglicemiante da Canela.....	6
2.3. Efeitos secundários da ingestão de Canela	8
2.3.1. Canela Burmanii.....	8
3. Café	9
4. State of art	11
5. Atividade Antioxidante dos alimentos	14
CAPÍTULO 2	17
MATERIAIS E MÉTODOS	17
1. Composição da Canela	17
2. Desenho experimental	18
2.1. Métodos de Seleção da Amostra.....	19
2.2. Recolha de dados.....	19
3. Tratamento estatístico	22
3.1. Análise descritiva	23
4. Análise química – quantificação de antioxidantes	24
4.1. Reagentes e soluções	24
4.2. Preparação do extrato.....	25
4.3. Determinação dos fenóis totais.....	25
4.4. Determinação do teor em proantocianidinas	26
4.5. Determinação da capacidade antioxidante	26
4.5.1. Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	26
4.5.2. Método pela captação do radical ABTS	27

CAPÍTULO 3	29
RESULTADOS	29
1. <i>Caraterização da amostra</i>	29
2. <i>Análise estatística dos resultados</i>	36
3. <i>Estudo da quantificação da atividade antioxidante da canela e do café</i>	41
CAPÍTULO 4	43
DISCUSSÃO	43
CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	I

Índice de Figuras

Figura 1: Regulação da glicémia plasmática _____	2
Figura 2: Estrutura base dos flavonóides _____	5
Figura 3: Estrutura química das Procianidinas diméricas de tipo A _____	6
Figura 4: Efeitos dos polifenóis da canela _____	7
Figura 5: Organograma do desenho experimental _____	18
Figura 6: Histograma representativo da frequência de Idade dos participantes _____	29
Figura 7: Histograma representativo da frequência do Peso dos participantes _____	30
Figura 8: Histograma representativo da frequência da Altura dos participantes _____	30
Figura 9: Gráfico da distribuição percentual do IMC dos participantes _____	31
Figura 10: Histograma representativo do Valor Energético Total (Kcal) _____	33
Figura 11: Histograma representativo da quantidade (g) de Hidratos de Carbono. _____	34
Figura 12: Histograma representativo da quantidade (g) de Proteínas _____	34
Figura 13: Histograma representativo da quantidade (g) de Lípidos _____	35
Figura 14: Valores médios da glicémia plasmática obtidos nos cinco tempos _____	37
Figura 15: Curva dos valores médios da glicémia plasmática _____	40
Figura 16: Resultados de ABTS _____	42

Índice de Tabelas

Tabela 1: Composição química do grão de café _____	10
Tabela 2: Resumo dos estudos sobre o efeito da ingestão de canela _____	12
Tabela 3: Composição Nutricional de 1 g de canela <i>Cassia</i> _____	17
Tabela 4: Composição Nutricional do Café expresso _____	21
Tabela 5: Variáveis independentes _____	24
Tabela 6: Caracterização da amostra _____	30
Tabela 7: Dados antropométricos da amostra discriminados por sexo _____	32
Tabela 8: Dados sobre o aporte calórico e ingestão de macronutrientes da amostra _____	33
Tabela 9: Valores médios dos parâmetros antropométricos e de ingestão calórica _____	36
Tabela 10: Valores médios da glicemia plasmática obtidos nos cinco tempos _____	37
Tabela 11: Verificação do pressuposto da esfericidade _____	38
Tabela 12: Resultado da ANOVA de medidas repetidas de tipo misto _____	39
Tabela 13: Resultados significativos obtidos nos testes de comparações múltiplas _____	39
Tabela 14: Médias da AUC Total obtidas para cada um dos grupos _____	40
Tabela 15: Resultados da capacidade antioxidante da canela, café com canela e café _____	41

Lista de abreviaturas

\bar{x}	Média
χ^2	Qui quadrado
ABTS	2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
AUC	Área abaixo da curva
df	Graus de liberdade
DP	Desvio Padrão
F	Distribuição
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
GLUT4	Transportador de glucose dependente de insulina
IMC	Índice de Massa Corporal
MG	Massa gorda
MLG	Massa livre de gordura
MSQ	Média da soma dos quadrados
OMS	Organização Mundial de Saúde
PC	Perímetro da cintura
PTGO	Prova de tolerância à glicose oral
SQ	Soma dos quadrados
T ₀	Momento de medição da glicémia em jejum
T ₃₀	Momento de medição de glicémia 30 minutos após a ingestão do café
T ₆₀	Momento de medição de glicémia 60 minutos após a ingestão do café
T ₉₀	Momento de medição de glicémia 90 minutos após a ingestão do café
T ₁₂₀	Momento de medição de glicémia 120 minutos após a ingestão do café
TAS	Capacidade antioxidante total
TEAC	Capacidade antioxidante total equivalente
<i>Trolox</i>	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
VET	Valor energético total

Objetivos

Com este trabalho pretende-se verificar se existe diferença entre os valores de glicémia pós-prandial após a ingestão de um café expresso com 1g de canela e após a ingestão de um café expresso simples em indivíduos adultos saudáveis.

Dado a quantidade de compostos fenólicos presentes nestes alimentos, procurou-se caracterizar a atividade antioxidante do pau de canela *Burmanii* e do café expresso e determinar se os níveis de antioxidantes variam com a presença de canela no café.

Capítulo 1

Introdução geral

Nas últimas décadas, a alimentação humana tem estado sobre o olhar constante por parte da Comunidade científica. A procura por opções alimentares, potencialmente benéficas para a prevenção de doenças e envelhecimento é cada vez maior.

A canela é uma das especiarias mais conhecidas e usadas na gastronomia portuguesa e noutras partes do Mundo, para dar sabor, aroma e cor a alimentos e bebidas. Ela é retirada da casca interior de várias árvores do género *Cinnamomum* sp. e possui para além das suas características organoléticas, propriedades de interesse clínico. O seu elevado teor de polifenóis parece reduzir os níveis de *stress* oxidativo (Anderson et al., 2004; Roussel, Hininger, Benaraba, Ziegenfuss, & Anderson, 2009) frequentemente subjacente à resistência à insulina. Para além disso, estes compostos antioxidantes sugerem a possibilidade de esta poder exercer um efeito protetor na oxidação lipídica (Roussel et al., 2009). Um estudo em animais demonstrou que os níveis de polifenóis presentes nesta especiaria parecem melhorar a função dos recetores de insulina e dos transportadores de glucose nos adipócitos. (Jarvill-Taylor, Anderson & Graves, 2001; Cao, Polansky & Anderson, 2007).

Apesar de bem estudada a ação da canela em doenças crónicas, em particular na diabetes, os trabalhos realizados em indivíduos saudáveis são escassos (Hlebowicz, Darwiche, Bjorgell & Almer, 2007; Hlebowicz et al., 2009; Solomon & Blannin, 2007, 2009; Magistrelli & Chezem, 2012). Os níveis elevados de glicémia em jejum e pós prandiais podem conduzir ao aparecimento de doenças metabólicas e resistência à insulina.

Uma das utilizações mais frequentes da canela é como aromatizante do tradicional café expresso e também na confeção de doçaria. Tendo em conta que a canela é uma das especiarias mais utilizadas na gastronomia portuguesa e sendo o café, uma das bebidas mais ingerida pelos portugueses, existe o interesse acrescido em estudar o seu efeito na

glicemia pós prandial em indivíduos saudáveis como prevenção à Diabetes. Como até ao momento não parecem existir estudos que avaliem o efeito da canela na glicemia após a ingestão do típico café expresso, em indivíduos adultos saudáveis, surgiu o interesse em realizar este trabalho.

1. Glicémia

A glicémia em pessoas saudáveis é regulada através de duas hormonas principais: insulina e glucagina. Sempre que os níveis de glucose plasmática sobem acima dos valores de referência (70-100mg/dl) a insulina é segregada pelo pâncreas (Figura 1). Esta hormona facilita o transporte de glucose para as células e favorece a síntese de glicogénio hepático (glicogénese) e é através deste mecanismo que os níveis de glicémia voltam aos valores de referência normais (70-100 mg/dl). No entanto, quando a glicémia desce, abaixo dos valores de referência, a glucagina é segregada pelo pâncreas para regularizar os níveis de glicémia plasmática (Wardlow, Smith & Lindeman, 2012).

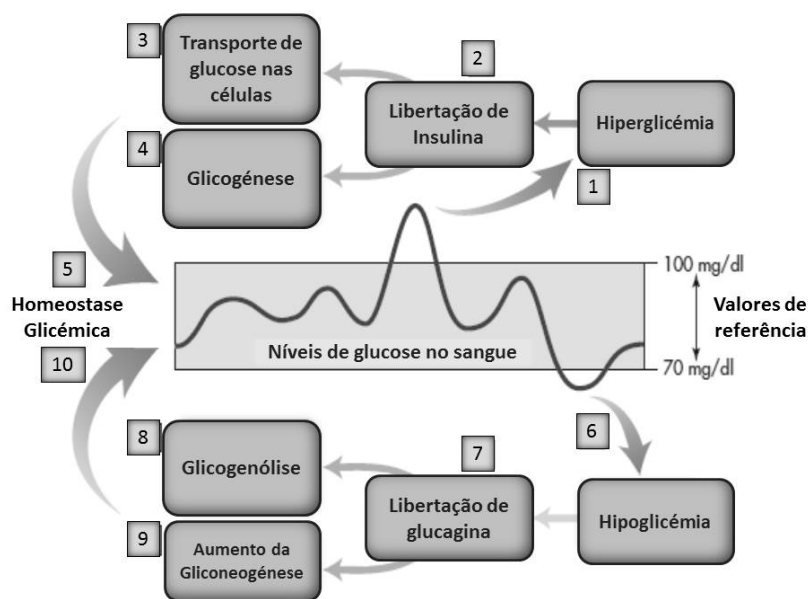


Figura 1: Regulação da glicémia plasmática Adaptado de (Wardlow et al., 2012)

Glicémia em jejum e pós prandiais elevadas parecem induzir efeitos de toxicidade na estrutura e funcionamento dos órgãos, incluindo as ilhotas pancreáticas. Esta alteração

dos níveis de glicémia pode assim originar o aparecimento de doenças metabólicas e a resistência à insulina (Munoz & Costa, 2013).

Para minimizar estas consequências existe um interesse clínico cada vez maior em encontrar alimentos, em especial agentes botânicos, que demonstrem exercer um efeito positivo na homeostase glicémica. Em estudos anteriores, a canela demonstrou exercer efeitos semelhantes à insulina em modelos experimentais de animais diabéticos (Jarvill-Taylor et al., 2001; Anderson et al., 2004; Cao et al., 2007; Anderson, 2008). O interesse deste estudo é verificar qual o efeito da adição de canela ao café nos níveis de glicémia pós prandial, em adultos saudáveis.

2. Canela

O nome da canela deriva do grego “Kinnámomon” que significa madeira doce (Sangal, 2011). Esta é extraída da casca da caneleira, arbusto pertencente à família das Lauráceas, nativas do Sul da Índia e do Sri Lanka (Dugoua et al., 2007). A canela é uma das especiarias mais antigas e tem sido utilizada para aromatizar, colorir e preservar alimentos há mais de 6000 anos (Sangal, 2011). Além do seu efeito sobre a glicemia, esta especiaria também tem demonstrado exercer um efeito antioxidante, anti-inflamatório, anti-lipidémico, antifúngico e hipoglicemiante (Leach, 2012).

Das mais 300 variedades de canela existentes, destacam-se duas espécies de canela principais: a Canela do Ceilão (*Cinnamomum zeylanicum*), também denominada de Canela Verdadeira, nativa do Ceilão e sul da Índia; e a Canela Cassia ou Canela Chinesa (*Cinnamomum aromaticum*). Esta última pode ter várias origens, sendo cultivada principalmente no sul da China, Birmânia, Vietname e Indonésia. Esta também apresenta algumas diferenças relativamente à canela do Ceilão. Para além de ser mais escura e apresentar um sabor menos doce e mais picante é também mais barata e fácil de encontrar. A canela *Cassia* apresenta também um maior teor de cumarinas, compostos químicos de origem botânica com propriedades anticoagulantes e poderão apresentar um efeito tóxico quando ingeridas em elevadas quantidades (Woehrlin, 2010; Blahová, 2012; Ranasinghe et al., 2012;).

Dentro das canelas *Cassia* disponíveis, a *Burmanii* é uma das mais comercializadas (Wang, 2013). A sua composição química é influenciada por vários fatores como a espécie da canela, a localização geográfica da sua proveniência, as condições de crescimento (clima, tipo de solo, fertilizante), os métodos de colheita, de secagem, de armazenamento e de moagem desta especiaria (Akilen, Tsiami, Devendra, & Robinson, 2012).

A canela contém compostos bioativos responsáveis pelo seu aroma e sabor como o cinamaldeído, cumarinas (Tanaka, Matsuo, Yamada, & Kouno, 2008; Wang, Avula, Nanayakkara, Zhao, & Khan, 2013) e proantocianidinas. Estas últimas são uma combinação de oligómeros e polímeros compostos por unidades de flavan-3-óis que têm demonstrado ser responsáveis pela atividade antioxidante desta especiaria (Anderson et al., 2004; Cao et al., 2007). Assim como estudos anteriores sugerem que o efeito hipoglicemiante da ingestão da canela advém da sua composição fenólica baseada essencialmente em proantocianidinas (Gu, L., Kelm, M., Hammerstone, J., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S. & Prior, R., 2004; Anderson et al., 2004; Cao et al., 2007; Qin, Panickar, & Anderson, 2010; Jiao et al., 2013;)

O elevado teor destes polifenóis na canela parece também reduzir os níveis de *stress* oxidativo (Anderson et al., 2004; Roussel et al., 2009), frequentemente subjacente à resistência à insulina. Os antioxidantes por terem a capacidade de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, possuem a capacidade de prevenir danos celulares ao estabilizar ou desativar radicais livres antes que estes danifiquem os alvos biológicos nas células (Sousa, 2007). Yang et al. (2012) verificou que a casca da canela foi a parte da planta que demonstrou ter uma maior atividade antioxidante.

Para além disso, foi sugerido que estes compostos polifenólicos poderão exercer um efeito protetor na oxidação lipídica (Roussel et al., 2009) e inibir um conjunto de enzimas oxidantes, responsáveis pelo processo de *stress* oxidativo (Gallo, Ferracane, Graziani, Ritieni, & Fogliano, 2010; Yang, 2012). Alguns estudos sugerem também que estes compostos fenólicos presentes na canela aumentam as proteínas do recetor β da insulina e do transportador da glucose (GLUT4) levando a uma maior captação de glucose pelos adipócitos e músculo-esquelético. Esta ação mimetizante da insulina parece ser a responsável pela qual os polifenóis da canela exercem um efeito

hipoglicemiante e melhoram a sensibilidade à insulina (Jarvill-Taylor et al., 2001; Anderson et al., 2004; Cao et al., 2007), como será discutido mais adiante.

2.1. Caracterização dos compostos químicos da canela

Os componentes bioativos mais importantes presentes na canela são os compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonóides (Figura 2). Estes são de baixo peso molecular e caracterizam-se por possuírem um esqueleto básico comum C6–C3–C6, sendo a estrutura base constituída por anéis aromáticos ligados por um anel pirano. (Gonçalves, 2007).

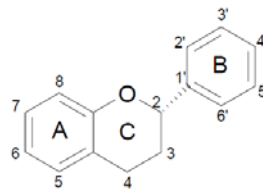


Figura 2: Estrutura base dos flavonóides Retirado de (Gonçalves, 2007)

As antocianidinas, os flavan-3-óis e as proantocianidinas, são polímeros constituídos por duas ou mais unidades de flavan-3-óis e são quantitativamente os flavonóides mais importantes.

As estruturas poliméricas de flavan-3-óis dividem-se em dois grupos: as procianidinas e as prodelfinidinas (Gonçalves, 2007) que pertencem à família das proantocianidinas, também denominadas por taninos condensados. A denominação de *proantocianidina* resulta do facto destes compostos, quando aquecidos, libertarem unidades de antocianidina que apresentam uma coloração avermelhada (Gonçalves, 2007).

A maioria das proantocianidinas presentes na canela são procianidinas diméricas de tipo A (Figura 3). Estas possuem uma ligação do tipo C4-C8 acrescida de uma ligação éter entre o grupo hidroxilo do carbono 5 ou 7 do anel A, de uma unidade e o carbono 2 do anel pirânico, da outra unidade (Gonçalves, 2007). As proantocianidinas diméricas são convencionalmente classificadas de acordo com o seu tipo de ligação interflavanólica (Gonçalves, 2007).

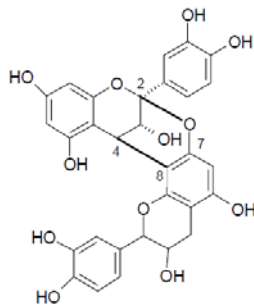


Figura 3: Estrutura química das Procianidinas diméricas de tipo A - Retirado de (Anderson et al., 2004)

2.2. Mecanismo de ação do efeito hipoglicemiante da Canela

Alguns estudos sobre as suas características bioquímicas sugerem que esta especiaria pode influenciar de forma positiva o metabolismo dos níveis de glicose, reduzindo assim a hiperglicemia.

Diversos mecanismos de ação celular dos polifenóis presentes na canela têm sido estudados com o objetivo de clarificar os seus efeitos benéficos no metabolismo da glicose, como a consequência do abrandamento do esvaziamento gástrico (Hlebowicz et al., 2007). Alguns estudos também apontam para uma inibição da α -amilase pancreática e das glucosidases, o que pode conduzir a uma redução da absorção intestinal de glicose para a corrente sanguínea (Deprez et al., 2000; Hanhineva et al., 2010; Adisakwattana, 2011; Shihabudeen, 2011) (Figura 4).

Além deste efeito, estes polifenóis parecem aumentar a síntese de glicogénio pela ativação da glicogénio sintetase, reduzindo a quantidade de glicose no sangue e a inibição da 3β glicogénio sintetase quinase (Anderson et al., 2004; Hlebowicz et al., 2007; Solomon & Blannin, 2007).

Alguns investigadores (Cao et al., 2007; Imparl-Radosevich et al., 1998; Jarvill-Taylor et al., 2001), sugeriram outros mecanismos pelos quais os compostos polifenólicos da canela influenciam a função da insulina e o metabolismo da glicose, entre os quais: i) a ativação dos recetores de insulina através do aumento da fosforilação da tirosina, que

parece melhorar a sensibilidade à insulina, dada a maior captação de glucose e a inibição da ação da tirosina fosfatase que inativa o recetor da insulina; ii) o aumento da quantidade do recetor β da insulina e do transportador de glucose dependente da insulina - GLUT4; iii) o aumento da síntese e acumulação de glicogénio através da inibição da β glicogénio sintetase quinase (GSK3 β) e da inibição da sintetase; e iv) o aumento da *tristetraprolin* (TTP), uma proteína anti-inflamatória pela diminuição da sua fosforilação através da inibição da ação da GSK3 β (Figura 4).

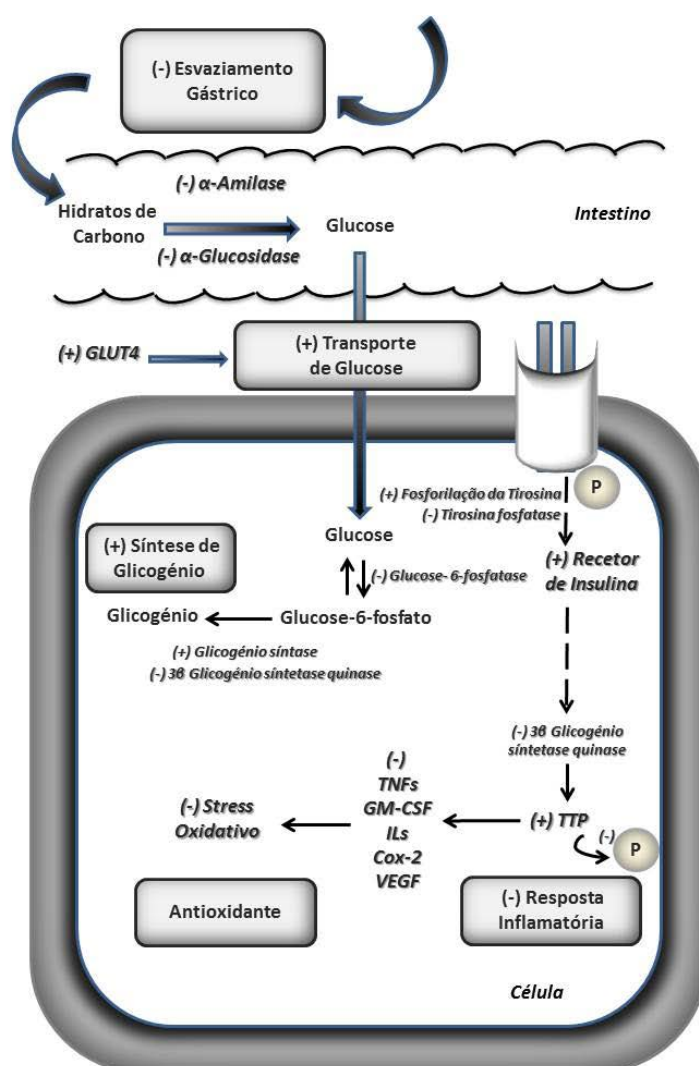


Figura 4:Efeitos dos polifenóis da canela Adaptado de Cao et al., 2007 e Ranasinghe et al, 2012

Todas estas atividades parecem melhorar o transporte e utilização da glucose, favorecendo a homeostasia glicémica pós prandial (Anderson, 2008; Sangal, 2011).

2.3. Efeitos secundários da ingestão de Canela

A ingestão de canela tem demonstrado ser segura quando ingerida, até 6 semanas, em doses inferiores a 6g (Ulbricht et al., 2011). O *Food and Drug Administration* (FDA) reconheceu esta especiaria como um aditivo alimentar seguro (Ulbricht et al., 2011).

No entanto, existem alguns cuidados a ter com a ingestão de canela, especialmente no caso de indivíduos que estejam a tomar anticoagulantes dado que, segundo um estudo *in vitro*, a canela pode contribuir para a redução do número de plaquetas e aumentar o risco de hemorragias (Onderoglu, Sozer, Erbil, Ortac, & Lermioglu, 1999; Ulbricht et al., 2011). A ingestão de canela em concomitância com anti-lipidémicos deve ser ponderada uma vez que pode interferir com os níveis totais de colesterol e triglicéridos, segundo estudos *in vitro* (Subash Babu, 2007). A ingestão de canela deve também ser evitada em indivíduos que apresentem alergia ou hipersensibilidade a esta especiaria. As cumarinas, compostos presentes na componente lipídica da canela, podem conduzir a uma toxicidade hepática (Woehrlin, 2010; Blahová, 2012)

2.3.1. Canela *Burmannii*

Apesar de existirem diversas espécies de canela, para este estudo utilizou-se a *Burmannii* por ser um tipo de canela, que nos últimos anos tem sido mais comercializada e por estar ainda pouco investigada. Neste trabalho será avaliado o seu impacto na glicémia pós prandial assim como a sua capacidade antioxidante.

Tal como já foi referido, apesar de existirem muitas espécies de canela, a *Burmannii* (*Cinnamomum Burmannii Blume*), também denominada por Cassia da Indonésia ou Canela de Java, é a mais comum. Esta planta cresce naturalmente nas ilhas de Sumatra e Java, na Indonésia assim como em algumas áreas das Filipinas (Shan, Cai, Brooks, & Corke, 2007; Al-Dhubiab, 2012;). Esta variedade de canela tem sido utilizada em casos de eczema, hipertensão, úlceras e asma dado a sua elevada atividade anti-inflamatória comparativamente a outras plantas tradicionais da Indonésia (Khatib, 2005; Al-Dhubiab, 2012). As cumarinas e o cinamaldeído parecem ser os compostos principais responsáveis no tratamento destas doenças inflamatórias (Khatib, 2005; Wang et al.,

2013). O pau de canela tem sido também usado para disfunções intestinais e de estômago e pelas suas propriedades carminativas e antibacterianas (Shan et al., 2007).

Na sua composição, a canela *burmanii* contém uma fração volátil de eugenol e cinamaldeído (64%) e outra não volátil de proantocianidinas (23,2%) e (epi)catequinas (3,6%) (Shan et al., 2007).

Além disso, foi também descrito o efeito hipoglicemiante das proantocianidinas e do cinamaldeído (Shan et al., 2007; Jiao et al., 2013; Li et al., 2013).

A casca seca desta canela pode ser adquirida sob a forma de pó ou pau de canela. Nos últimos 5 anos, grande parte desta espécie de canela *Cassia* foi exportada para os Estados Unidos da América e vendida sob a designação geral de “canela” (Wang et al., 2013).

3. Café

O café é uma das bebidas mais antigas, apreciada e consumida em todo o mundo, pelo seu efeito estimulante e pelas suas propriedades organolépticas. A maior parte dos portugueses (80%) são apreciadores e consumidores desta bebida. Segundo o mais recente relatório publicado pela *European Coffee Federation*, em Portugal o consumo médio de café é de 4,7Kg/ano (Federation, 2011).

As espécies de café mais conhecidas a nível comercial são o café Arábica (*Coffea Arábica*) e o café Robusta (*Coffea Robusta*). Quanto à intensidade do sabor e acidez, a Arábica é mais ácida e menos amarga. Em termos nutricionais a Robusta é aquela que apresenta um maior teor de cafeína e polifenóis, em especial o ácido clorogénico. (Tabela 1) (Romeiro, 2012).

O efeito da ingestão do café pode ser influenciado por vários fatores relacionados com a espécie do café, a forma como este é torrado, moído e preparado, assim como, a quantidade de café ingerida, os hábitos alimentares, o estilo de vida e a predisposição genética individual (Alves, 2009).

Tabela 1 Composição química do grão de café cru Adaptado de (Ambrósio, 2010)

Valores expressos (g/100g ⁻¹ em base seca)		
Componentes	Café Arábica (g/100g ⁻¹)	Café Robusta (g/100g ⁻¹)
Cafeína	1,2	2,2
Ácido clorogénico total	6,5	10
Quínico	0,4	0,4
Hidratos de Carbono	57,1	57,4
Proteína	11,5	11,8
Lípidos	16	10

Grande parte dos benefícios inerentes à ingestão do café advém da sua concentração em cafeína (Higdon & Frei, 2006). Esta parece inibir os recetores de adenosina, responsáveis por facilitarem a captação de glucose nos adipócitos e por diminuir a captação de glucose no músculo-esquelético. Alguns estudos sugerem que a cafeína também pode inibir a sensibilidade à insulina ao aumentar os níveis de adrenalina, em adultos saudáveis. Esta hormona parece ativar o recetor β -adrenérgico e diminuir o estímulo da insulina essencial para o metabolismo da glucose (Greenberg, 2006). Muitos dos estudos sobre o efeito do café na glicémia foram realizados em populações com características socioculturais diferentes da população portuguesa. Um exemplo disso é o fato de uma chávena de café em Portugal corresponder a uma média de 28ml, enquanto nos Estados Unidos corresponde a cerca de 150ml (Ambrósio, 2010).

Apesar da sua complexa combinação de compostos químicos, o café é uma das fontes principais de ácido clorogénico, substância responsável pelo seu efeito antioxidante, sabor e aroma característicos. O processo de torrefação, essencial para a aquisição do sabor, aroma e cor característica, afeta a sua composição assim como a capacidade antioxidante. Durante este processo dá-se origem a compostos bioativos, os quinídeos, que parecem aumentar a sensibilidade à insulina (Van Dam, 2006; Romeiro, 2012;).

Os compostos polifenólicos presentes no café parecem também exercer um papel protetor no metabolismo da glucose. Vários mecanismos de ação destes compostos têm sido estudados de forma a esclarecer os seus efeitos, entre os quais: i) redução da absorção de glucose no intestino (através da inibição da glucose-6-fosfato translocase); ii) redução da libertação da glucose hepática (por inibição da glucose-6-fosfatase);

iii) aumento da sensibilidade à insulina (pelas maiores concentrações de magnésio no fígado). Estes mecanismos parecem ser responsáveis pela redução da glicémia plasmática (Alves, 2009; Ambrósio, 2010).

4. *State of art*

A Canela tem vindo a ser estudada nas últimas décadas pelos seus benefícios no controlo da glicémia devido entre outros fatores ao aumento da sensibilidade à insulina. Esta especiaria parece exercer um efeito análogo à insulina, pela sua capacidade de estimular a captação de glucose e a síntese de glicogénio (Figura 4), pelo menos em estudos *in vitro* realizados em ratinhos (Jarvill-Taylor et al., 2001). Segundo alguns autores (Anderson et al., 2004; Cao et al., 2007), os compostos responsáveis por este efeito são os polifenóis, mais especificamente as procianidinas diméricas de tipo A (Figura 3). Estes parecem promover a fosforilação dos recetores da insulina, melhorando a sinalização e eficácia desta hormona (Jarvill-Taylor et al., 2001). Segundo (Cao, Graves, & Anderson, 2010), os polifenóis desta especiaria parecem ter outros efeitos no controlo da glicémia, nomeadamente o aumento dos transportadores de glucose GLUT4 (Figura 4), responsáveis por facilitar a entrada de glucose na célula. Esta ação anti-hiperglicémica poderá, entre outros fatores, também dever-se ao abrandamento no esvaziamento gástrico (Hlebowicz et al., 2007) e à possível inibição de α -amilase pancreática e α -glucosidase intestinal, enzimas responsáveis pela degradação do amido em glucose. A inibição destas enzimas poderá condicionar a passagem de glucose para a corrente sanguínea, reduzindo a glicémia pós-prandial (Adisakwattana, 2011; Shihabudeen, 2011).

A maioria dos estudos científicos e clínicos existentes sobre a canela procuram verificar qual o seu efeito no controlo da diabetes *mellitus* tipo 2, como tal são realizados em indivíduos doentes diabéticos (Leach, 2012). Os resultados destes trabalhos apontam no sentido de que a ingestão da canela (em pó, cápsulas ou extrato aquoso) possa exercer um efeito hipoglicemiante semelhante à insulina, reduzindo a resposta glicémica pós-prandial através dos mecanismos previamente descritos e que se encontram esquematizados na Figura 4.

Os ensaios clínicos que avaliam o efeito da adição de canela nos níveis de glicemia, em adultos saudáveis, são escassos (Tabela 2), dado que grande parte têm sido realizados em animais como o objetivo de perceber os mecanismos subjacentes à ação da canela (Anderson et al., 2004; Cao et al., 2007)

Tabela 2: Resumo dos estudos sobre o efeito da ingestão de canela em indivíduos saudáveis e diabéticos tipo 2

Referência	Tamanho da amostra	Duração do estudo	Dose de canela	Efeito hipoglicemiante
Solomon TP et al, 2007 Ensaio cruzado	7 Indivíduos saudáveis	2 dias	5g	Sim
Solomon TP et al, 2009	8 Indivíduos saudáveis	14 dias	3g	Sim
Hlebowicz et al, 2007 Ensaio cruzado	14 Indivíduos saudáveis	2 dias	6g	Sim
Hlebowicz et al, 2009 Ensaio cruzado	15 Indivíduos saudáveis	2 dias	1-3g	Não/Sim
Magistrelli, 2012 Ensaio cruzado	15 Indivíduos saudáveis e 15 Indivíduos obesos	2 dias	6g	Sim
Khan, 2003	60 Diabéticos tipo 2	40 dias	1,3 e 6g	Sim
Hoehn et al, 2012	18 Diabéticos tipo 2	12 semanas	1g	Sim

Num estudo de intervenção orientado pela equipa de (Solomon & Blannin, 2007), verificou-se que a ingestão de 5g de canela reduziu a resposta da glucose plasmática na prova de tolerância à glicose oral (PTGO), em 7 indivíduos saudáveis, melhorando a sensibilidade à insulina. Estes efeitos permaneceram durante 12H após a ingestão desta especiaria, como tal o efeito da canela sobre a hiperglicemia parece não só ser relativamente rápido mas também apresenta alguma durabilidade no tempo. Num outro estudo orientado pelos mesmos investigadores, em 2009, mostrou que a ingestão de 3g de canela, desta vez ao longo de 14 dias, efeitos semelhantes à intervenção anterior, no entanto estes não se prolongaram durante algumas horas como ocorreu anteriormente (Solomon & Blannin, 2007).

Um grupo de investigadores suecos (Hlebowicz et al., 2007) verificou, num ensaio cruzado, que a adição de 6g de canela ao arroz-doce reduziu significativamente a glicemia pós prandial e abrandou o esvaziamento gástrico, em 14 indivíduos saudáveis. A mesma equipa realizou um ensaio clínico posterior adicionando desta vez 1 e 3 g de

canela ao arroz doce e não se verificou qualquer alteração significativa nos níveis de glicémia pós prandial, nem no esvaziamento gástrico (Hlebowicz et al., 2009). No entanto, o grupo que ingeriu 3 g de canela demonstrou uma diminuição na resposta insulínica aos 60 minutos e uma redução na área abaixo da curva ao fim de 120 minutos.

Mais recentemente, outra equipa de investigadores (Magistrelli & Chezem, 2012) realizaram um ensaio clínico cruzado com jovens saudáveis e jovens obesos onde foi adicionado 6g de canela a uma refeição rica em hidratos de carbono. Os resultados mostraram que a ingestão de canela induziu um aumento nos níveis de glucose a partir dos 15 min após a ingestão de canela. No entanto ao final dos 120 minutos, o grupo que ingeriu canela apresentou valores semelhantes ao grupo que não ingeriu a canela o que sugere que não existe um efeito prolongado no tempo ao contrário do que é relatado por (Solomon & Blannin, 2009). Apesar da diferença no índice de massa corporal (IMC) entre os participantes, verificou-se uma descida dos níveis de glicémia pós prandial em ambos os grupos, o que sugere que o IMC não afeta a resposta glicémica em indivíduos jovens (<30 anos).

Um estudo realizado em doentes diabéticos e também o mais referenciado dentro desta temática foi o ensaio clínico orientado pelos investigadores paquistaneses (Khan, Safdar, Ali Khan, Khattak & Anderson, 2003) em que 60 participantes, divididos em 6 grupos, ingeriram 3 doses diferentes de canela (1,3 ou 6g) durante 40 dias seguidos. No final deste período, todos os grupos que ingeriram canela demonstraram uma redução entre 18 a 29% nos níveis de glicémia em jejum, algo que não se verificou nos grupos controlo. Os indivíduos que ingeriram 6 g de canela tiveram uma redução da glicémia após 20 dias enquanto aqueles que ingeriram 1g de canela mantiveram os seus níveis de glucose plasmática baixos, 20 dias após o término da intervenção. Este estudo, apesar de ter sido realizado com diabéticos de tipo 2, indicou que a adição de canela, mesmo em doses reduzidas (1g) pode ter benefícios para a homeostasia glicémica, desde que seja ingerida com regularidade durante algum tempo (Khan et al., 2003).

Num outro estudo também realizado em diabéticos de tipo 2 observou-se, após uma semana, uma rápida descida na glicémia em jejum e na glicémia pós-prandial no grupo que ingeriu 1g de canela. Nesta intervenção, de 12 semanas, também se verificou que os níveis de glicémia desceram nas semanas seguintes, chegando a uma redução de cerca

de 30mg/dl, um valor comparável ao obtido com a toma de alguns antidiabéticos orais para o controlo da Hb_{A1c}, a hemoglobina glicada (Hoehn, 2012).

Considerando o potencial da ação hipoglicemiante da canela e por não existirem, até ao momento, estudos que avaliem o efeito do café com canela foi pertinente avaliar se a adição de 1 g de canela ao café expresso tem uma influência positiva nos níveis de glicemia pós-prandial em adultos saudáveis.

5. Atividade Antioxidante dos alimentos

Segundo os autores Moreira & Mancini Filho (2003), a ingestão de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos presentes, na maioria das plantas, tem sido associado a uma menor risco de *stress* oxidativo.

Uma das explicações para o processo subjacente ao *stress* oxidativo advém do aumento do superóxido na mitocôndria e a subsequente produção de espécies reativas de oxigénio que parecem conduzir a uma disfunção celular. A presença de *stress* oxidativo crónico tem contribuído para o aumento de doenças cardiovasculares, obesidade, síndrome metabólica e Diabetes mellitus, tipo 2. No caso desta última patologia, o *stress* oxidativo parece afetar o funcionamento das células β pancreáticas, inibindo a expressão dos transportadores de glucose de tipo 4 (GLUT4) (Munoz & Costa, 2013).

Um estudo conduzido pela equipa de Shan, B., Cai, Y., Sun, M., & Corke, H., (2005) com o intuito de caracterizar o teor de fenóis de 26 extratos de plantas, demonstrou que a canela foi uma das plantas analisadas com maior concentração de compostos fenólicos, substâncias responsáveis pela sua elevada capacidade antioxidante. Segundo Moreira et al., (2003) as substâncias fenólicas identificadas na canela foram os compostos responsáveis pela inibição do processo oxidativo, tanto pela proteção dos ácidos gordos insaturados que compõem a fração lipídica desta especiaria, como pela proteção contra a oxidação nos sistemas onde a canela foi adicionada.

Os compostos de polifenóis presentes no pau de canela são maioritariamente proantocianidinas (Yang, 2012) e segundo Gu et al (2004) parecem exercer um poder antioxidante considerável. Os antioxidantes mantêm a integridade das membranas

celulares ao prevenirem a peroxidação lipídica dos ácidos gordos polinsaturados. Tanto quanto se sabe, quanto mais flexível se apresentar esta membrana, maior será a sua sensibilidade à insulina e controlo glicémico (Anderson et al., 2004).

Perante isto, procurou-se verificar qual a capacidade antioxidante da canela *Burmanii* assim como do café expresso através de diferentes métodos e observou-se que tanto a canela como o café apresentam uma capacidade antioxidante elevada, especialmente quando combinados.

C

apítulo 2

Materiais e Métodos

1. Composição da Canela

Apesar de existirem diversas espécies de canela, para este estudo utilizou-se a *Burmanni* por ser um tipo de canela, que nos últimos anos tem sido uma das mais comercializadas e por estar ainda pouco investigada (Wang et al, 2013). Neste trabalho será avaliado o seu impacto na glicémia pós prandial assim como a sua capacidade antioxidante.

Dado a escassa informação existente sobre a composição nutricional desta espécie de canela, foi necessário recorrer à Tabela 3, fornecida pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). Apesar dos valores abaixo se referirem à canela Cassia, esta espécie parece ser a mais aproximada à *Burmanni*, utilizada neste estudo.

Tabela 3: Composição Nutricional de 1 g de canela Cassia (informação retirada do USDA)

Nutrientes presentes na Canela Cassia	Por 1g	Nutrientes presentes na Canela Cassia	Por 1g
Hidratos de Carbono (g)	0,81	Sódio	0,10
Gorduras (g)	0,01	Ferro	0,08
Proteína (g)	0,04	Zinco	0,02
Calorias (Kcal)	2,47	Cálcio	10,02
Fibras (g)	0,53	Magnésio	0,60
Vitamina A (IU)	2,95	Selénio	0,03
Vitamina E	0,02	Potássio	4,31
Vitamina K	0,31	Manganésio	0,17
Vitamina C	0,04		

2. Desenho experimental

O tipo de estudo proposto para esta investigação é um ensaio clínico controlado, constituído por dois grupos distintos de indivíduos. Um grupo de indivíduos ingeriu um café sem canela (dose de referência), e o segundo grupo ingeriu um café com 1 g canela *Burmannie* (dose teste). Ambas as doses foram ingeridas apenas uma vez por cada grupo.

O período de intervenção foi de dois dias consecutivos e em grupos distintos de indivíduos.

No primeiro dia e após um jejum de 8H, o primeiro grupo de participantes ingeriu um café com 1 g de canela *Burmannie* em pó. No segundo dia, o segundo grupo de participantes ingeriu um café, sem canela, após o mesmo período de jejum (Figura 5). Em ambas as condições experimentais não foi adicionado açúcar/adoçante ao café.

Nestas duas intervenções, foram realizadas medições de glicémia em jejum e pós-prandiais, aos 30, 60, 90 e 120 minutos, após o início da ingestão do café com e sem canela.

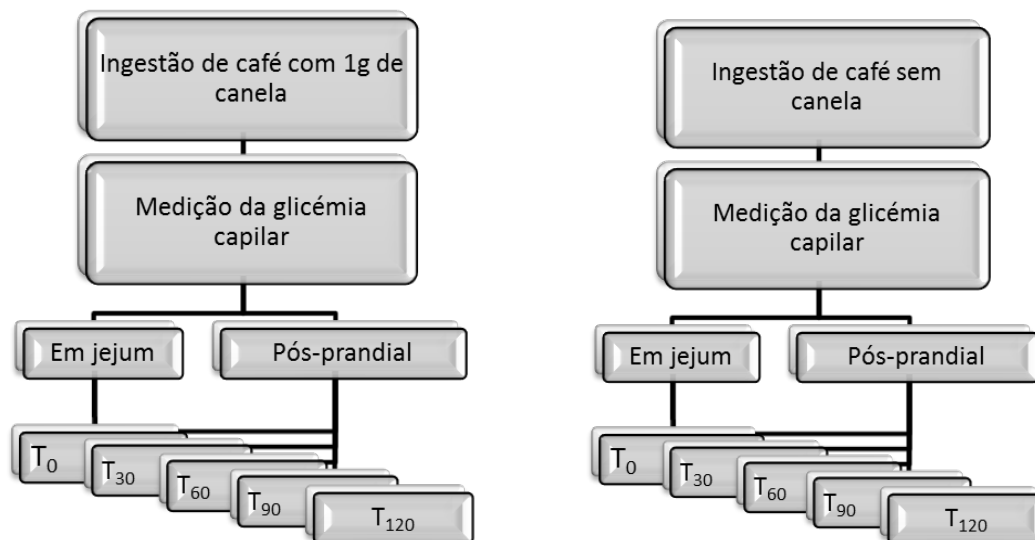


Figura 5: Organograma do desenho experimental

2.1. Métodos de Seleção da Amostra

Este estudo foi realizado numa Clínica de Nutrição no distrito de Aveiro, onde através de uma rede de contatos profissionais e pessoais se obteve uma amostra não-probabilística, por conveniência de 32 adultos (n=32).

A população-alvo para este ensaio clínico foram indivíduos adultos. A amostra foi obtida considerando o seguinte critério de inclusão: Indivíduos adultos, não diabéticos. Relativamente aos critérios de exclusão, não foram aceites indivíduos que apresentassem alergia à canela; que estivessem a tomar de suplementos/medicação que contivesse canela ou com efeito hipoglicemiante reconhecido na glicémia, assim como indivíduos com patologias cardiovasculares e nas tiroideias. Grávidas e lactantes não foram admitidas assim como todos aqueles que não cumpriram o jejum de 8H exigido.

Os participantes para este estudo foram indivíduos adultos aos quais foi explicado o âmbito e objetivo deste estudo e entregue o consentimento informado para sua assinatura (Anexo I).

2.2. Recolha de dados

Todos os participantes (n=32) foram pesados numa balança de bioimpedância da marca *Omron*, modelo BF 500 para obtenção do peso, do Índice de Massa Corporal (IMC) e dos valores percentuais de massa livre de gordura (MLG) e massa gorda corporal (MG). Os resultados da massa gorda foram expressos em percentagem, e por comparação com os valores de referência internacionais, foram considerados normais se 21-33% na mulher e entre 8-21% no homem (Gallagher et al., 2000).

O IMC foi calculado através da fórmula:

$$\frac{\text{Peso (kg)}}{\text{Altura}^2 \text{ (m}^2\text{)}} \quad \text{Equação 1}$$

Os valores obtidos foram posteriormente categorizados em função dos critérios da Organização Mundial de Saúde em: <18,5=magreza; 18,5-24,9=peso normal; 25-

29,9=excesso de peso; 30-34,9=obesidade grau I; 35-39,9=obesidade grau II (WHO, 2000).

Paralelamente, foram medidos o perímetro abdominal (PC), com uma fita métrica da marca *Myotape*, e a altura, através de um estadiómetro fixo da marca *Seca*. Para categorização e interpretação dos valores do PC, recorreu-se aos *cut-offs* (pontos de corte) para risco aumentado de desenvolver complicações cardio-metabólicas: ≥ 102 cm no homem e ≥ 88 cm na mulher (Takahashi et al., 2009).

Após o registo das medidas antropométricas, todos os participantes responderam a um questionário alimentar de recordação das 24 horas precedentes. Este permitiu um registo de todos os alimentos ingeridos nas últimas 24 horas. A quantificação dos alimentos ingeridos foi efetuada com recurso a medidas caseiras e à memorização dos participantes relativamente ao que ingeriram no dia anterior.

O questionário alimentar de recordação das últimas 24H foi registado num documento específico (Anexo II).

Este método de recolha de dados permitiu, com a ajuda de um programa específico (*FoodProcessor SQL versão 10.5.0*), avaliar o valor energético total (VET), a quantidade (g) de proteínas, lípidos e hidratos de carbono ingerida pelos participantes, no dia anterior à realização deste ensaio clínico.

Após o registo alimentar, procedeu-se à medição da glicémia em jejum (T0) e posteriormente à preparação do café. Para este estudo, utilizou-se um café expresso extraído de cápsulas de uma marca portuguesa adquirida num supermercado. O café foi preparado numa máquina de café, com 40ml de água e uma cápsula de 6 g de café torrado, cuja composição nutricional pode ser consultada na Tabela 4.

O pau de canela *Burmanii* foi previamente triturado, um de cada vez, num moinho elétrico modelo *Aromatic II* da marca *Taurus*. Depois de moída a canela foi pesada numa balança *Sartorius analytical*/sensibilidade 1×10^{-4} g. Posteriormente foi reservada em folhas de papel de alumínio de forma a prevenir a oxidação dos seus compostos. No grupo que ingeriu café com canela, esta foi adicionada após a extração do café. Com ajuda de uma paletina descartável, a canela em pó foi envolvida no café e este foi ingerido após 2-3 minutos.

Tabela 4: Composição Nutricional do Café expresso (informação fornecida pela empresa que comercializa o café)

Informação Nutricional (valores médios)	100 ml de café	6g de café por cápsula em 35ml de H ₂ O
Valor Energético	11 kcal/ 46 kJ	3,85 kcal/ 16,10 kJ
Proteínas	0,9 g	0,32 g
Hidratos de Carbono	2,0 g	0,70 g
dos quais Açúcares	< 0,5 g	< 0,18 g
Lípidos	< 3,0 g	< 1,05 g
dos quais Saturados	< 0,05 g	< 0,02 g
Fibra	< 1,0 g	< 0,35 g
Sal	0,035 g	0,012 g

Após a ingestão do café, procedeu-se ao registo dos tempos da ingestão do café (com ou sem canela). A medição de glicémia capilar foi realizada aos minutos 30 (T₃₀), 60 (T₆₀), 90 (T₉₀) e 120 (T₁₂₀), após o início da ingestão do café (com ou sem canela).

Para o registo da glicémia foi utilizado um glicosímetro e tiras de teste de glicémia da marca *FreeStyle*, modelo *Precision* dos Laboratórios *Abbott*. Para além disso, foram utilizadas lancetas descartáveis e um dispositivo de punção da mesma marca.

O glicosímetro, vulgo dispositivo de medição de glicémia capilar, considera um intervalo de quantificação entre os 20-500 mg/dl e utiliza um método eletroquímico colométrico para quantificar a glucose através de uma gota de sangue de 0,6 µl recolhida com a ajuda de um dispositivo de punção no dedo. Essa gota de sangue foi absorvida por uma tira de teste que de seguida foi inserida no dispositivo de glicémia com o número de série VEGS070-P09D6. O resultado foi obtido no ecrã do monitor após 5 segundos.

As medições das glicémias, assim como os tempos de ingestão do café, foram registados numa folha de registos própria (Anexo III).

Os dados dos participantes foram organizados em *software* Excel 2010. Nesta base de dados constavam a data, o código de identificação do indivíduo, a idade, o sexo, o peso, a altura, o IMC, a percentagem de MG, de MLG e o PC. Para além disso, também

foram incluídas as medições de glicémia capilar em jejum e as glicémias pós prandiais ao longo de 30, 60, 90 e 120 minutos.

3. Tratamento estatístico

O tratamento de dados e a análise estatística foram realizados com recurso ao *software* IBM SPSS™ versão 20.

Após a análise descritiva da amostra, procedeu-se a verificação dos pressupostos de aplicação de métodos estatísticos, nomeadamente o teste para a verificação da normalidade de dados *Shapiro-Wilk* ($n \leq 200$), para $\alpha=0,05$ com as seguintes hipóteses:

H_0 : existe normalidade de dados

H_1 : Não existe normalidade de dados

Com o objetivo de verificar o pressuposto da homogeneidade de variâncias realizou-se o teste de *Levene* para $\alpha=0,05$ com as seguintes hipóteses:

H_0 : Existe homogeneidade de variâncias

H_1 : Não existe homogeneidade de variâncias

Para a execução do teste Anova para medidas repetidas de tipo misto realizou-se um teste de esfericidade de *Mauchly's* com $\alpha=0,05$ com as seguintes hipóteses:

H_0 : Existe esfericidade de dados

H_1 : Não existe esfericidade de dados

Em seguida, com o objetivo de determinar se os grupos controlo e experimental são ou não estatisticamente diferentes quanto às variáveis independentes, procedeu-se à comparação de médias (teste *t* de *student* para amostras independentes) ou mediana (Teste de *Mann-Whitney*) consoante a existência ou não de normalidade, com as seguintes hipóteses ($\alpha=0,05$):

H_0 : As médias/mediana são iguais

H_1 : As médias/mediana são diferentes

Com o objetivo de comparar a variação dos valores de glicémia pós prandial (variável dependente) ao longo dos 120 minutos (fator temporal) entre os grupos que tomaram café com canela (1g) e sem canela (fator independente), procedeu-se à realização de uma ANOVA de medições repetidas de tipo misto ($\alpha=0,05$) em que se analisou a significância dos fatores individuais e da sua interação.

No caso do teste de *Mauchly's* falhe, será analisado o valor de Épsilon baseado no critério mais conservativo, o *Lower-bound*.

Para determinar quais dos grupos que são estatisticamente diferentes ($\alpha=0,05$) uns dos outros, procedeu-se à realização do teste de comparação múltipla (*Post-Hoc*) de *Bonferroni* com as seguintes Hipóteses:

H₀: As médias são iguais

H₁: As médias são diferentes

Com o objetivo de avaliar a diferença no efeito da canela sobre os níveis de glicémia, calculou-se a área abaixo da curva (AUC) referente à glicémia ao longo dos 120 minutos, recorrendo ao *software GraphPad Prism 5*.

Após a verificação dos pressupostos do método (normalidade), procedeu-se à comparação das médias da AUC entre o grupo que ingeriu canela e o grupo que não ingeriu ($\alpha=0,05$) com as hipóteses referidas anteriormente.

3.1. Análise descritiva

Com o objetivo de caracterizar a amostra procedeu-se à análise das variáveis independentes (Tabela 5) quanto a:

- Medidas de tendência central: Média, esta “consiste no resultado da soma de todos os valores dos indivíduos numa determinada variável, dividido pelo número total de valores” (Martins, 2011, p. 51).

- Medidas de dispersão: Desvio padrão, este “traduz a dispersão média dos valores individuais em relação ao valor da média da amostra na variável em questão”(Martins,

2011, p. 51); Para além do Desvio padrão, também se verificou o valor mínimo e valor máximo.

Tabela 5: Variáveis independentes

Variáveis independentes	
Idade	MLG
Peso	Valor Energético Total
Altura	Hidratos de Carbono
IMC	Proteínas
Perímetro da Cintura	Lípidos
MG	Adição de Canela

Com o objetivo de melhor visualizar a distribuição destas variáveis procedeu-se à execução de gráficos circulares e histogramas. No caso das variáveis relacionadas com a ingestão de nutrientes, os histogramas foram discriminados por grupo (com canela/sem canela).

Para estes testes estatísticos considerou-se como resultados estatisticamente significativos os que apresentavam um nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$), rejeitando desta forma a hipótese nula sempre que o *p-value* obtido era inferior a 0,05 (Maroco, 2010).

4. Análise química – quantificação de antioxidantes

4.1. Reagentes e soluções

Os reagentes Cloreto de Ferro (III) hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), reagente de folin-ciocalteu (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfónico), Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico), TPTZ 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina, etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), metanol (CH_3OH), Persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), ABTS (2,20-azino-bis(3-etillbenzotiazolína-6-ácido sulfónico) sal de diamónio e o 1-butanol ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$) foram adquiridos à *Sigma-Aldrich*, o ácido gálico-1-hidratato ($\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{COOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$) foi adquirido à *Acros Organics* e o carbonato de sódio (Na_2CO_3) foi adquirido à *ICS Science group*.

Foram efetuadas as soluções de ácido clorídrico 40 mM (HCl 37% adquirido à *Sigma-Aldrich*), tampão fosfato pH=7 (NaH₂PO₄ e Na₂HPO₄ adquiridos à *Scharlau*), tampão acetato 300mM pH=3,6 (NaCH₃COO.3H₂O e CH₃COOH adquiridos à *AnalaR Normapur*).

4.2. Preparação do extrato

O café, a canela e o café com canela foram sujeitos a uma extração hidro-etanólica (20:80). A mistura foi posteriormente filtrada com recurso a papel de filtro, obtendo-se amostras homogêneas e sem precipitados que foram posteriormente sujeitas a análise.

4.3. Determinação dos fenóis totais

O conteúdo em fenóis totais foi determinado por adaptação do método desenvolvido no estudo de Prabha & Vasantha (2011). As amostras foram analisadas em triplicado, pipetaram-se, para tubos rolhados, 312,5µL de amostra em etanol: água 80:20 (V/V) ao qual se adicionou 187,5µL de água, 5mL solução reagente de *Folin-Ciocalteu* (1:10 diluído com água) e 4mL solução aquosa Na₂CO₃ 1M. Realizou-se um branco onde se substituiu a amostra por uma solução em metanol:água (80:20 (V/V) e 125 µL de água. Após agitação dos tubos aguardou-se 15 min e leu-se a absorvância a 765 nm.

O ácido gálico foi usado como padrão com a seguinte equação:

$$Y = 0,0034X + 0,018 \quad \text{Equação 2}$$

Com um R²=0,9966 e os resultados são expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/L.

4.4. Determinação do teor em proantocianidinas

O conteúdo em proantocianidinas foi determinado por adaptação do método de Gu et al., (2002). O método utilizado baseia-se na hidrólise ácida dos polímeros de proantocianidinas produzindo-se pigmentos avermelhados como a cianidina e delphinidina, em solução a quente. Assim, quanto maior a absorvância maior será o teor em proantocianidinas.

As análises foram efetuadas em triplicado, pipetaram-se, para tubos rolhados, 150ul de amostra à qual se adicionou 2850ul da solução de HCl/1-butanol (10% V/V). Realizou-se um branco onde se substituiu a amostra por 150 ul de solução etanol/água (80:20). Após agitação a mistura foi incubada 50min a 100°C e leu-se a absorvância a 550 nm.

4.5. Determinação da capacidade antioxidante

4.5.1. Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Este método foi adaptado de Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos & Byrne (2006) e baseia-se na capacidade dos compostos antioxidantes em reduzir, em meio ácido, o Fe^{3+} a Fe^{2+} na presença de 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) formando um intenso complexo azul $Fe^{2+}(TPTZ)$.

Uma solução para o FRAP foi previamente preparada adicionando 25mL de tampão acetato 300mM pH=3,6 a 2,5mL de TPTZ 10mM em HCL 40mM e a 2,5ml de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 20mM. Esta solução foi previamente aquecida a 37°C.

As análises foram efetuadas, pipetando-se para tubos rolhados, 150ul da amostra aos quais se adicionou 2850ul da solução FRAP. Os tubos foram mantidos no escuro, durante 30 minutos. Também se realizou um branco onde se substituiu a amostra por 150 ul de H_2O (nas mesmas condições). Leu-se a absorvância a 593 nm.

O *Trolox* (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), análogo da vitamina E, foi usado como reta-padrão com a seguinte equação:

$$y = 2,17 \times 10^{-3}x + 2,32 \times 10^{-2} \quad \text{Equação 3}$$

Com um $R^2=0,998$ e os resultados são expressos em $\mu\text{M TE}$.

4.5.2. Método pela captação do radical ABTS

A capacidade de reduzir o radical ABTS^+ por compostos antioxidantes foi estudada através de dois testes semelhantes, o TAS (Capacidade antioxidante total) e o TEAC (Capacidade antioxidante total equivalente), utilizando o antioxidante sintético *Trolox* como padrão. Este radical forma-se a partir do 2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS) por via enzimática (ação de uma peroxidase TAS) e pela reação química pelo persulfato de potássio (TEAC).

O ABTS é um substrato da *peroxidase* que quando oxidado por radicais peróxido ou outros oxidantes na presença do peróxido de hidrogénio gera o radical catião meta estável ABTS^+ . A cor deste catião é um verde-escuro, visível num comprimento de onda de 600 a 750 nm. O poder antioxidante é determinado pela capacidade de resgate deste radical sendo o produto resultante incolor. Conforme o agente antioxidante vai reagindo com este catião, a cor vai perdendo intensidade, resultando num decréscimo dos valores de absorvância. Assim, quanto menor a absorvância maior a concentração de moléculas antioxidantes (Karadag & Saner, 2009).

Teste TAS

Este teste foi executado num aparelho RANDOX modelo *RX Daytona* utilizando o *Kit RANDOX - NX 2332*. Nesta determinação, em cada replicado, $610\mu\text{mol/L}$ de ABTS (2,2 azino-di-3-etilbenzotiazolina sulfonato) foram adicionados a $6,1\mu\text{mol/L}$ de peroxidase-metamioglobina e a $250\mu\text{mol/L}$ de peróxido de hidrogénio, na presença e ausência das amostras. A formação do radical ABTS^+ foi medida espectrofotometricamente a 600nm. O resultado foi expresso em mM de trolox/L.

Teste TEAC

Foi previamente preparada uma solução juntando 10ml de ABTS• 7mM com 176 µl de persulfato de potássio 140mM que se armazenou durante 12h, à temperatura ambiente, na ausência de luz. Após este tempo, diluiu-se a solução em etanol até atingir uma absorvância de 0,7 a 734nm (cerca de 70 vezes) (Zulueta, Esteve & Frígola, 2009).

As análises foram efetuadas, pipetando-se 150µl da amostra e 2850µl da solução de ABTS em etanol, para tubos rolhados. Realizou-se um controle onde se substituiu a amostra por 150 ul de etanol. Leu-se a absorvância a 734 nm. Com o fim de comparar o poder antioxidante do alimento com e sem canela foi determinado para cada um o número de diluições necessárias para que a percentagem de inibição do radical atingisse os 50%, de acordo com a seguinte equação:

$$\%I = \frac{A_{controle} - A_{amostra}}{A_{controle}} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Legenda: *I* = % de inibição da atividade do radical livre; *A_{controle}*= Absorvância do controle (nm); *A_{amostra}*= Absorvância da amostra (nm)

Com esta análise química, procurou-se quantificar a atividade antioxidante da canela e do café separadamente e em combinado para verificação de um possível efeito sinérgico nestes alimentos.

Todos os procedimentos realizados para este estudo foram aprovados pela Comissão Científica do Mestrado em Nutrição Clínica e pela Comissão de Ética para a Saúde do Instituto Superior das Ciências da Saúde Egas Moniz.

C

 capítulo 3

Resultados

Com este trabalho procurou-se verificar se existe diferença entre os valores de glicemia capilar em jejum e os valores de glicemia pós-prandial após a ingestão de um café expresso com 1g de canela e após a ingestão de um café expresso simples em indivíduos adultos saudáveis.

1. Caracterização da amostra

A amostra é constituída por 32 adultos saudáveis selecionados aleatoriamente em que metade é do sexo feminino e metade (50%) do sexo masculino.

A idade média dos participantes é de $31,0 \pm 5,42$ anos variando entre os 18 e os 46 anos. Na Figura 6 estão representadas as frequências das idades dos participantes, em que a maioria se situa entre os 30 e os 35 anos (37,5%).

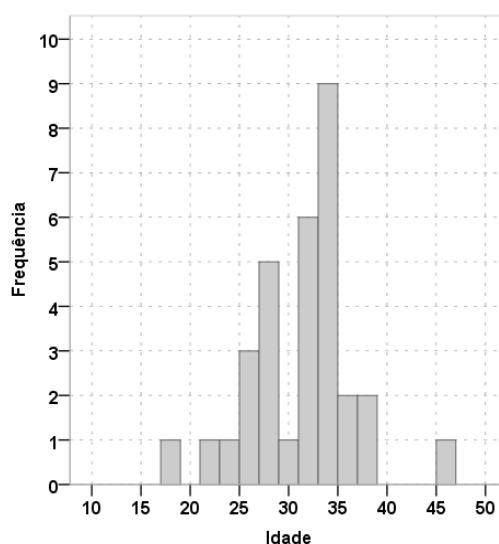


Figura 6: Histograma representativo da frequência de Idade dos participantes do estudo

Relativamente aos dados antropométricos, encontram-se registados na Tabela 6.

Tabela 6: Caracterização da amostra. Resultados expressos em média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm DP$) (n=32), mínimo e máximo

	Mínimo	Máximo	($\bar{x} \pm DP$)
Idade	18	46	31,0 \pm 5,42
Peso (Kg)	47	96	67,2 \pm 12,97
Altura (cm)	153	191	167,0 \pm 9,30
IMC (kg/m ²)	16	35	23,4 \pm 3,97

A amostra é constituída por participantes com peso médio de 67,2 \pm 12,97 kg ($\bar{x} \pm DP$), variando entre os 47 e os 96 Kg. Apesar de os indivíduos serem saudáveis, alguns apresentaram excesso de peso (28,13%) (Figura 7 e Figura 9; Tabela 6). A altura média da amostra é de 167 \pm 9,3cm ($\bar{x} \pm DP$), variando entre os 153 e 191 cm (Figura 8; Tabela 6).

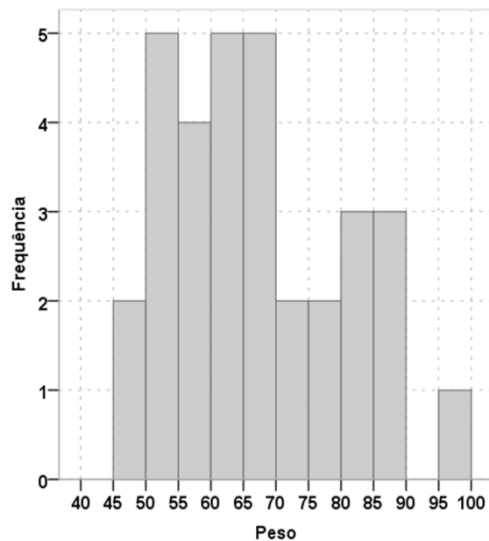


Figura 7: Histograma representativo da frequência do Peso dos participantes

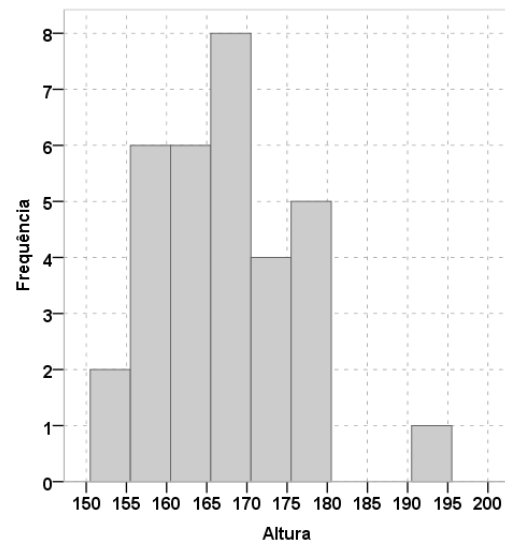


Figura 8: Histograma representativo da frequência da Altura dos participantes

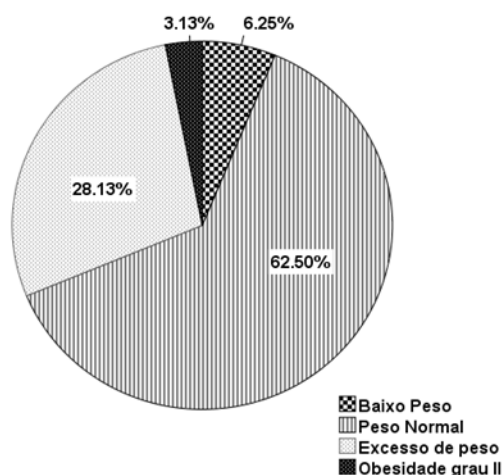


Figura 9: Gráfico da distribuição percentual do IMC dos participantes (OMS, 2004).

Na Figura 8 está representada a classificação do IMC dos participantes de acordo com os critérios de classificação do IMC da Organização Mundial da Saúde (OMS). Pela análise da figura, observou-se que 6,25% apresentava baixo peso ($IMC < 18,5$), 62,5% da amostra, um peso normal para a sua altura ($18,5 \geq IMC \leq 24,9$), 28,1% tinham excesso de peso ($25 \geq IMC \leq 29,9$) e os restantes 3,3% eram obesos de classe II ($35 \geq IMC \leq 39,9$). Em média, pode-se afirmar que esta amostra é normoponderal com o IMC médio de $23,41 \pm 3,97 \text{ kg/m}^2$ ($\bar{x} \pm DP$) variando entre os 16 e 35 kg/m^2 (Tabela 6).

A Tabela 7 mostra outros dados antropométricos discriminados por sexo, de acordo com os critérios previamente descritos nos métodos. Nomeadamente o perímetro abdominal médio, nos homens, foi de $83,59 \pm 10,18 \text{ cm}$ ($\bar{x} \pm DP$) e nas mulheres $74,41 \pm 10,88 \text{ cm}$ ($\bar{x} \pm DP$).

A percentagem média de massa gorda (MG) nos participantes do sexo masculino é de $22,44 \pm 6,36\%$ ($\bar{x} \pm DP$), apresentando o valor mínimo de 10% e o máximo de 32% enquanto no sexo feminino é de $32,6 \pm 7,30\%$ ($\bar{x} \pm DP$), variando entre os 20% e 46%.

No que respeita à percentagem média de massa livre de gordura (MLG), nos participantes do sexo masculino é de $36,66 \pm 4,68\%$ ($\bar{x} \pm DP$), variando entre os 28% e 46%. No sexo feminino é de $28,59 \pm 3,80\%$ ($\bar{x} \pm DP$), variando entre os 24% e 40%.

Tabela 7: Dados antropométricos da amostra discriminados por sexo. Os resultados encontram-se expressos em média \pm desvio padrão (n=32), mínimo e máximo.

		Mínimo	Máximo	$\bar{x} \pm DP$
Perímetro da cintura (cm)	Masculino	68	98	83,6 \pm 10,18
	Feminino	62	103	74,4 \pm 10,88
Massa livre de gordura (%)	Masculino	28	46	36,7 \pm 4,68
	Feminino	24	40	28,6 \pm 3,80
Massa gorda (%)	Masculino	10	32	22,4 \pm 6,36
	Feminino	20	46	32,6 \pm 7,30

Com o objetivo de perceber como se distribuem as variáveis referentes à ingestão de nutrientes dos participantes no dia anterior à intervenção, realizou-se uma série de histogramas discriminados por grupo (os que ingeriram café com canela e os que ingeriram café sem canela).

Na Figura 10, está representada a ingestão calórica do valor energético total dos participantes em ambos os grupos. Neste histograma verificou-se que grande parte dos participantes pertencentes ao grupo “canela” ingeriram entre 1335 a 1995 Kcal no dia anterior ao ensaio clínico. Mas existe um indivíduo que ingeriu mais do que 4000 Kcal no dia anterior.

A ingestão calórica do grupo “sem canela” é mais diversificada em termos quantitativos, incluindo indivíduos que ingeriram desde 1005 Kcal até às 4000 Kcal. Em média, a ingestão energética dos participantes foi de 1998,56 \pm 704,962 Kcal ($\bar{x} \pm DP$) variando entre as 1049 e as 4039 Kcal (Tabela 8).

Em termos de macronutrientes, verificou-se que a maioria dos sujeitos no grupo “canela” ingeriram entre 150g a 350g de hidratos de carbono, enquanto a maioria dos indivíduos do grupo sem canela, ingeriu entre 200 a 250g de hidratos de carbono. Além disso, este grupo apresenta um indivíduo que ingeriu entre 550 e 600g de hidratos de carbono ao longo do dia. De uma forma geral, a ingestão média de hidratos de carbono (Tabela 8) foi de 242,16 \pm 99,816g ($\bar{x} \pm DP$).

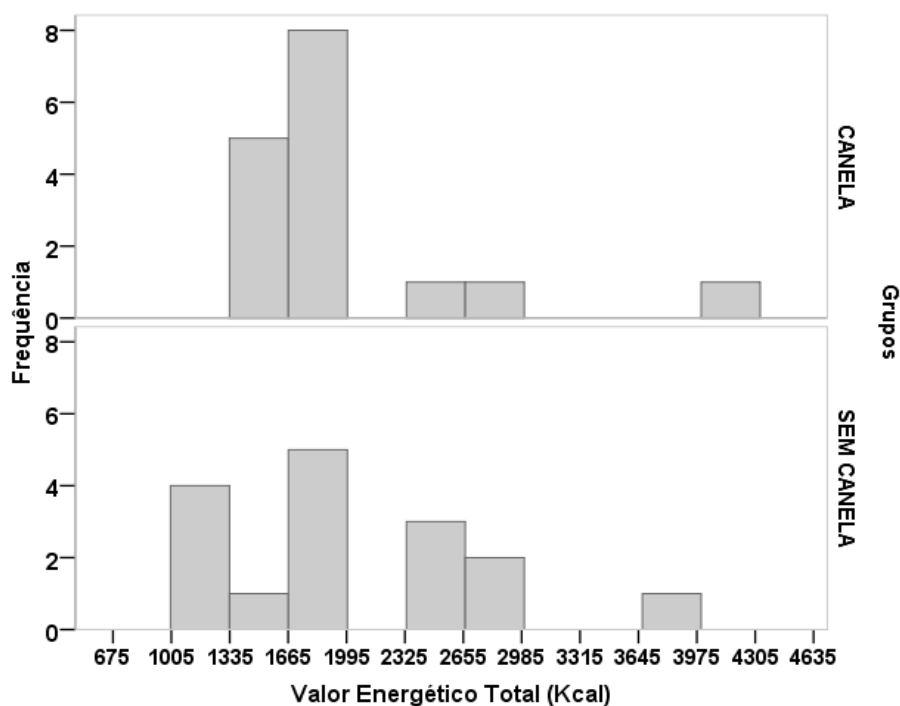


Figura 10: Histograma representativo do Valor Energético Total (Kcal) ingerido pelos participantes

Tabela 8: Dados sobre o aporte calórico e ingestão de macronutrientes da amostra. Resultados expressos em média \pm desvio padrão (n=32), mínimo e máximo

	Mínimo	Máximo	$\bar{x} \pm DP$
Valor energético total (Kcal)	1049	4039	1998,56 \pm 704,962
Hidratos de Carbono (g)	79	567	242,16 \pm 99,816
Proteínas (g)	31	316	91,34 \pm 52,645
Lípidos (g)	32	177	72,03 \pm 34,196

Relativamente à ingestão proteica, verificou-se que a maioria dos participantes ingeriu entre 33 e 132g deste macronutriente. Com exceção de um indivíduo no grupo “canela” que ingeriu entre 297 e 330g de proteína, existe outro caso no grupo sem canela que ingeriu entre 198 e 231g no dia anterior à intervenção. Em média, a ingestão de proteínas foi de 91,34 \pm 52,645g ($\bar{x} \pm DP$) (Figura 12).

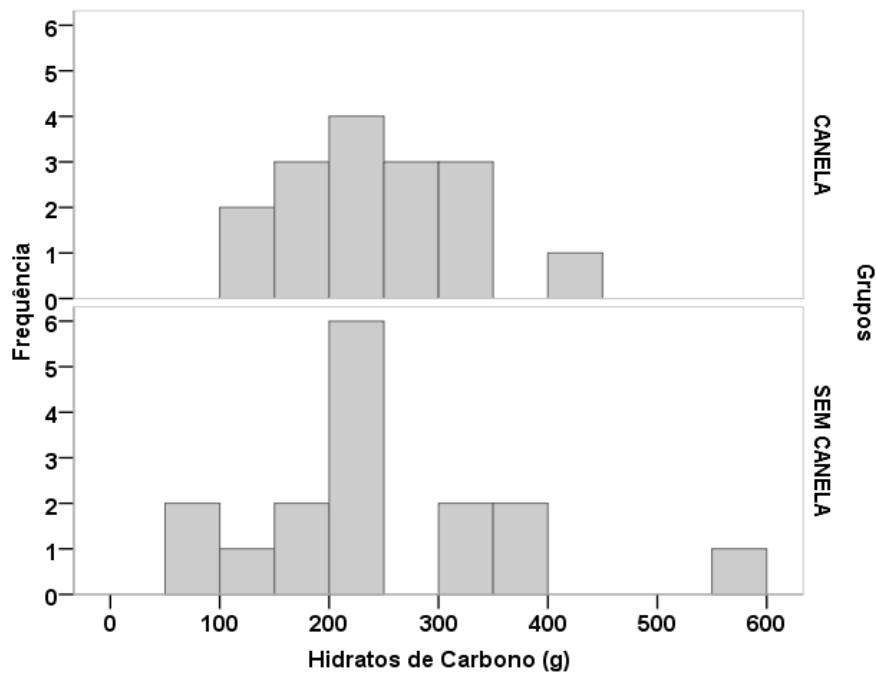


Figura 11: Histograma representativo da quantidade (g) de Hidratos de Carbono ingeridos pelos participantes distribuídos pelo grupo que tomou café com canela (Canela) e o grupo que tomou apenas café (Sem Canela).

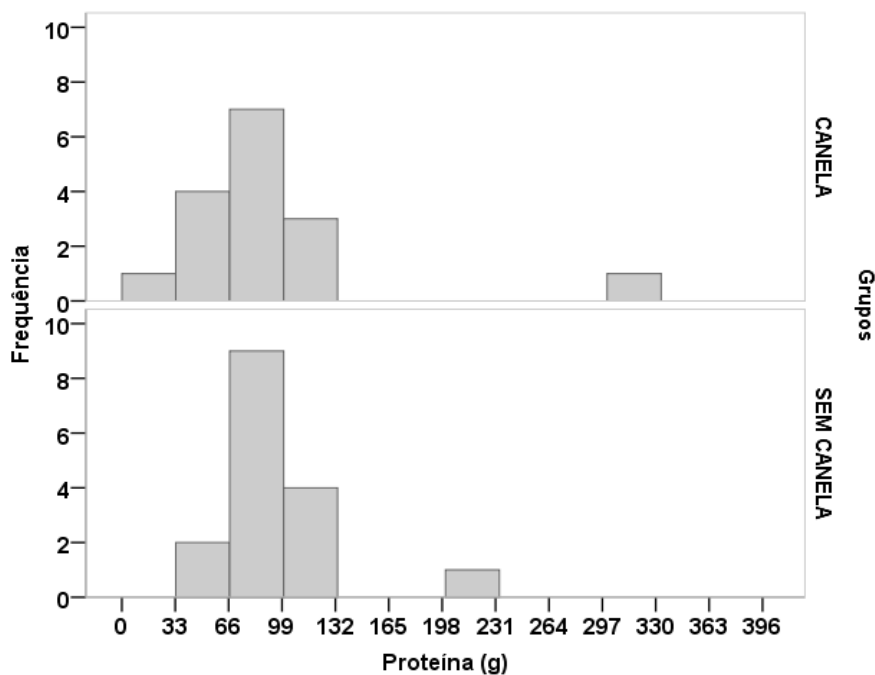


Figura 12: Histograma representativo da quantidade (g) de Proteínas ingerida pelos participantes distribuídos pelo grupo que tomou café com canela (Canela) e o grupo que tomou apenas café (Sem Canela).

Por fim analisou-se a quantidade de lípidos ingeridos pelos participantes (Figura 13). Os resultados mostram que a maioria dos sujeitos ingeriu entre 33 a 83g de lípidos, no

entanto no grupo canela existe um indivíduo que ingeriu entre 165 e 182g de lípidos. Como mostra a Tabela 8, em média, a ingestão de lípidos foi de $72,03 \pm 34,196$ g ($\bar{x} \pm DP$).

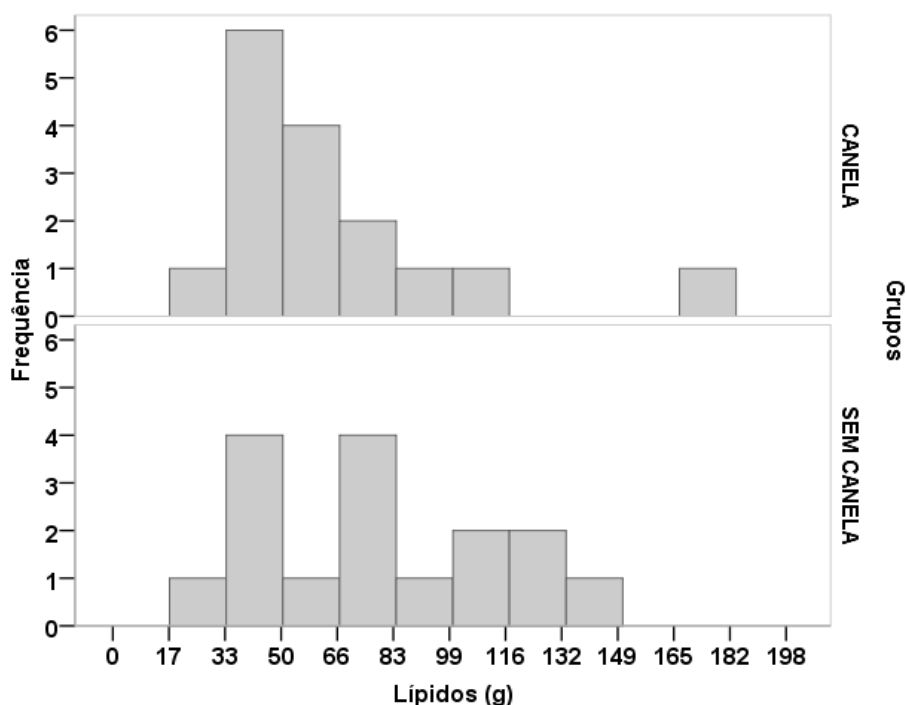


Figura 13: Histograma representativo da quantidade (g) de Lípidos ingerida pelos participantes distribuídos pelo grupo que tomou café com canela (Canela) e o grupo que tomou apenas café (Sem Canela).

A média do valor energético total (VET) assim como a ingestão média diária dos macronutrientes da amostra mostrou estar dentro dos valores diários de referência (VDR) para adultos saudáveis definidos pela Federação Portuguesa das Indústrias Agro-alimentares (Fipa, 2009), à exceção da quantidade de proteínas que indicou ser quase o dobro da recomendada para uma população saudável adulta (50g).

Para verificar se existiam diferenças significativas entre os grupos antes do início da intervenção e no que respeita às variáveis antropométricas e à ingestão calórica, comparou-se as médias e medianas entre os grupos (Tabela 9). Antes dos testes de comparação, realizaram-se os testes de pressupostos dos métodos de acordo com o que está descrito no capítulo 2 (Anexo IV).

Na Tabela 9 verificou-se que os grupos foram estatisticamente iguais em todos os parâmetros analisados já que o teste de comparação de médias/ medianas obteve sempre valores de $p\text{-value} \geq 0,05$.

Tabela 9: Valores médios dos diferentes parâmetros antropométricos e de ingestão calórica referentes aos participantes do estudo discriminados por grupo: com canela – os que ingeriram café com canela: sem canela – os que ingeriram café simples. O $p\text{-value}$ é o valor de prova obtido quando se comparou as médias (teste t-Student para amostras independentes) ou se comparou medianas (*) através do teste de Mann-Whitney (Anexo V).

	Média		$p\text{-value}$
	Com canela	Sem Canela	
Idade	30,50	31,44	0,633
Peso	65,93	68,51	0,582
Altura	167,31	167,69	0,911
IMC	22,73	24,10	0,336
Perímetro da Cintura	79,66	78,34	0,750
MG	26,56	28,45	0,536
MLG	32,96	32,28	0,748
Valor Energético Total	1961,87	2035,25	0,763*
Hidratos de Carbono	243,75	240,56	0,930
Proteína	92,00	90,69	0,521*
Lípidos	67,31	76,75	0,250*

2. Análise estatística dos resultados

O objetivo deste trabalho foi estudar a variação da glicémia plasmática, ao longo de 120 minutos, em indivíduos saudáveis após a ingestão de café com canela (canela) e café sem canela (sem canela). Ao analisar as médias de glicémia (Tabela 10) registadas pelos participantes que ingeriram café com canela, observa-se que os valores são ligeiramente mais elevados, em todos os tempos, quando comparados com os valores registados pelos indivíduos que tomaram café sem canela.

Os valores são superiores, no primeiro caso, logo desde o tempo T_0 momento em que os indivíduos se encontravam em jejum. No entanto, como se pode observar na Figura 14, existe uma maior amplitude de glicémia no grupo canela [82,9; 93,6] do que no grupo

sem canela [82,4; 86,4] sugerindo uma tendência para diminuir os níveis de glicémia quando se ingere 1 g de canela.

Tabela 10: Valores médios da glicémia plasmática obtidos nos cinco tempos (T₀/T₃₀/T₆₀/T₉₀/T₁₂₀) após a ingestão de um café com canela e após a ingestão de um café sem canela. Resultados encontram-se expressos em termos de média ±desvio padrão (n=32)

	Média da Glicémia (mg/dl)				
	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
Café com canela	91,1±12,6	93,6±18,8	89,9±11,1	82,9±11,9	85,3±12,6
Café sem canela	86±11,2	86,4±7,6	85,1±8,9	82,4±11,3	82,8±8,8

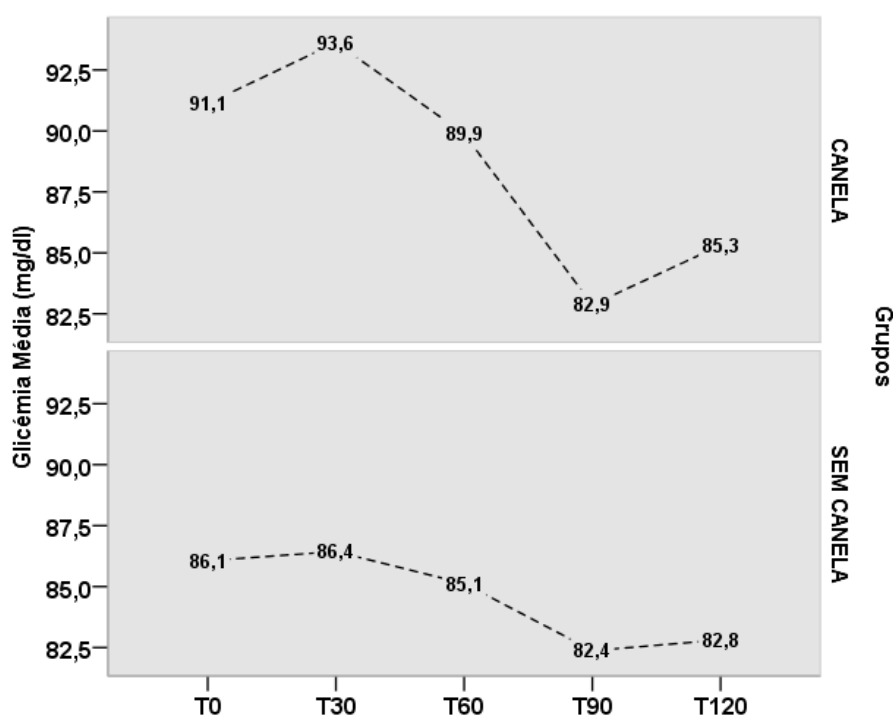


Figura 14: Valores médios da glicémia plasmática obtidos nos cinco tempos (T₀/T₃₀/T₆₀/T₉₀/T₁₂₀) após a ingestão de um café com canela (CANELA) e após a ingestão de um café sem canela (SEM CANELA).

De forma a verificar a existência de diferenças significativas na glicémia pós-prandial com a ingestão de um café com 1 g de canela e de um café simples aos momentos T₀, T₃₀, T₆₀, T₉₀ e T₁₂₀, selecionou-se o teste Anova de medições repetidas de tipo misto. Este teste permite comparar a média da glicémia medida entre o grupo de participantes que ingeriu café (grupo “sem canela”) e o que ingeriu café com canela (grupo “com canela”) ao longo de cinco períodos de tempo: T₀, T₃₀, T₆₀, T₉₀ e T₁₂₀.

Previamente à aplicação deste teste foi necessário verificar a presença de três pressupostos: i) o da normalidade verificada pelo teste de *Shapiro-Wilk* (Anexo VI); ii) a homogeneidade de variâncias assegurada pelo teste de *Levene* (Anexo VI); e iii) a esfericidade da variável glicémia através do teste de *Mauchly's*.

Os resultados mostram que se verificaram os pressupostos da normalidade ($p\text{-value} \geq 0,05$) e da homogeneidade de variâncias ($p\text{-value} \geq 0,05$) com exceção do valor médio de glicémia registado ao tempo de 30 min (T_{30}) no grupo que ingeriu café com canela ($p\text{-value} < 0,05$) (Anexo VI). No entanto, como se verificou ausência de normalidade apenas nesse ponto optou-se por considerar o conjunto dos dados com tendo distribuição normal. O mesmo não se verificou com o pressuposto da esfericidade da variável dependente (Tabela 11). Como os resultados indicam o valor de prova ($p\text{-value}$) é inferior a 0.05 e por esta razão não se verifica esfericidade.

Tabela 11: Verificação do pressuposto da esfericidade para a variável glicémia através do teste de *Mauchly's*

Efeito entre sujeitos	<i>Mauchly's</i>	χ^2	g.l	$p\text{-value}$	Epsilon		
					Greenhouse- Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
Glicémia	0,532	17,951	9	0,036	0,759	0,882	0,250

Para corrigir este pressuposto, recorreu-se ao cálculo do valor de *Épsilon* baseado no critério de *Lower-bound*. Este fator de correção é utilizado no cenário mais conservativo, ou seja, para que haja certeza que as diferenças encontradas entre os tempos (T_0 - T_{120}) e grupos sejam as mais exatas possíveis. Desta forma, este teste assume um valor de 0,250 e toda a análise terá como base este critério (*Lower-bound*).

Os resultados obtidos na Anova (Anexo VII) encontram-se expressos na Tabela 12, onde apenas está registado os valores obtidos para o critério de *Lower-bound*. Quando se analisa apenas a glicémia ao longo do tempo sem considerar os grupos, verifica-se que existe uma diferença significativa nos valores da glicémia ($p\text{-value} < 0,05$).

Tabela 12: Resultado da ANOVA de medidas repetidas tipo misto considerando o critério *Lower-bound*. Comparações entre os valores médios de glicémia (variável dependente) medidos para cada momento T (Fator tempo) e entre grupos com a ingestão de um café simples e de um café com canela (Fator Grupo).

Fonte	SQ Tipo III	g.l	MSQ	F	<i>p-value</i>
Glicémia	1241,3	1	1241,3	4,320	0,046
Glicémia * Grupos	210,8	1	210,8	0,734	0,398
Erros (Glicémia)	8619,9	30	287,3		

De acordo com os resultados não se verificou diferenças significativas ($p\text{-value} \geq 0,05$) entre grupos “canela” *versus* “sem canela”, apesar de se ter verificado uma descida mais acentuada na glicémia dos indivíduos que ingeriram café com canela.

Um dos objetivos desta análise era avaliar a interação de cada um dos fatores (tempo e grupo) com a variável dependente (glicémia), os resultados revelam que também aqui não existe diferenças significativas ($p\text{-value} \geq 0,05$), o que sugere que não existe interação entre os fatores.

De forma a identificar em que momentos T existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de glicémia após a ingestão do café simples e do café com canela, aplicou-se um teste de comparações múltiplas (*Post-hoc*) de *Bonferroni* (Anexo VIII). Este teste tem por objetivo comparar todos os tempos dois a dois em todas as suas combinações de modo a selecionar apenas aqueles que diferem significativamente entre si (Tabela 13).

Tabela 13: Resultados significativos obtidos nos testes de comparações múltiplas (teste de *Bonferroni*), onde se comparam os valores médios de glicémia medidos para cada momento T. Os resultados obtidos cujas diferenças não são significativas ($p\text{-value} < 0,05$) encontram-se expressos no Anexo V.

Comparações	<i>p-value</i>
T ₃₀ vs. T ₉₀	0,028
T ₆₀ vs. T ₉₀	0,024

Estes resultados sugerem que apenas se verificam diferenças significativas entre os momentos T₃₀ e T₉₀ com $p\text{-value} = 0,028$ e nos momentos T₆₀ e T₉₀ com $p\text{-value} = 0,024$ que corresponde à altura em que se verificou um decréscimo mais acentuado da glicémia registada no grupo “Canela” (Figura 15). Nos restantes tempos não se observaram diferenças significativas entre grupos ($p\text{-value} \geq 0,05$).

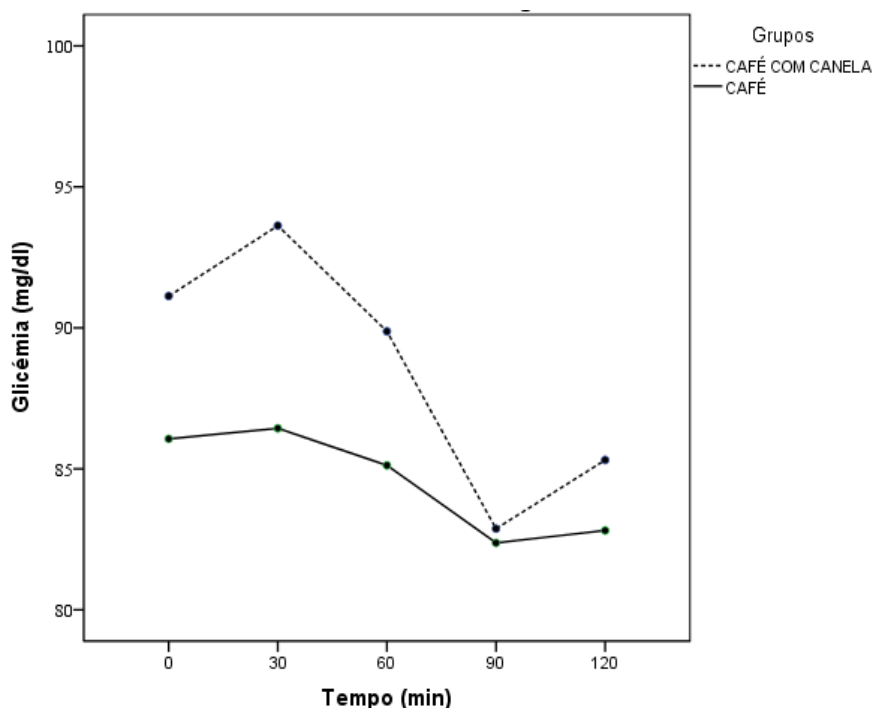


Figura 15: Curva dos valores médios da glicémia plasmática (mg/dl) obtidos nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 min, após a ingestão de um café com canela e um café simples.

Na tentativa de encontrar diferenças entre o grupo que ingeriu café com canela e o grupo que ingeriu apenas café calculou-se a área abaixo da curva (AUC) para os valores de glicémia total ao longo dos 120 min. Para calcular a AUC referente à glicémia ao longo de 120 mins, recorreu-se ao *software GraphPad Prism 5*. Este cálculo permite verificar a magnitude do efeito da canela sobre a glicémia quando ingerida conjuntamente com o café. Os resultados da AUC_{Total} média encontram-se expressos na Tabela 14.

Tabela 14: Médias da AUC_{Total} obtidas para cada um dos grupos (com canela/ sem canela). *P-value* indica o valor de prova do teste de comparação das médias para amostras independentes (t-Student).

AUC_{Total} Com canela	AUC_{Total} Sem canela	<i>p-value</i>
10637,81±1332,36	10151,25±873,21	0,231

Para aplicar o teste *t* para amostras independentes foi necessário verificar previamente a normalidade da distribuição da resposta glicémica (Anexo XI), os resultados mostraram que esta variável tem distribuição normal (*p-value* $\geq 0,05$). Como tal procedeu-se à execução de um teste de comparação das médias para amostras independentes (t-

Student) e verificou-se que a área abaixo da curva referente à glicémia capilar ao longo dos 120 minutos é estatisticamente igual em ambos os grupos (Tabela 14).

3. Estudo da quantificação da atividade antioxidante da canela e do café

Com o recurso a diferentes métodos para avaliar a capacidade antioxidante obteve-se os resultados apresentados na Tabela 15.

Tabela 15: Resultados da capacidade antioxidante da canela, café com canela e café obtidos por diferentes métodos de avaliação da atividade antioxidante

Análise efetuada	Canela em água	Café com canela	Café
Fenóis totais (mg/L de Ácido Gálico)	2630,1	6025,4	4628,3
Proantocianidinas (Abs)	0,447	0,369	0,041
FRAP (μ mol TROLOX/L)	985,5	7361,4	6297,7
FRAP (μ mol TROLOX/mg de Fenóis)	0,375	1,222	1,361
TAS (mmol TROLOX/L)	26,9	79,7	52,8
ABTS (IC 50 n° de diluições)	16,7	33,4	21,3

Com estes métodos, verificou-se que a quantidade de fenóis presentes no café (4628,3mg/L) é mais elevada do que a quantidade presente na canela (2630,1mg/L) e quando combinada com o café, o teor de fenóis totais destes dois alimentos quase que triplica para 6025,4mg/L (Tabela 15).

Relativamente à quantidade de proantocianidinas a canela apresentou um valor muito mais elevado que o café. Segundo a concentração de proantocianidinas revelada pela análise de Gu et al., (2002), a canela apresenta um valor de 81 mg de proantocianidinas por 1g de canela, no entanto, não é especificado qual a espécie de canela utilizada.

Com o fim de comparar o poder antioxidante dos diferentes alimentos foi determinado para cada um, o número de diluições necessárias para que a percentagem de inibição do radical atingisse os 50%.

Com o método ABTS verificou-se que quanto maior o número de diluições, maior a percentagem de atividade antioxidante. No caso do café com canela verificou-se um poder antioxidante potenciado (Figura 16). Segundo Chohan, Forster-Wilkins, & Opara, (2008), a presença de calor aumenta a capacidade antioxidante de plantas aromáticas e especiarias. A canela em pó foi adicionada ao café expresso quente, o que pode justificar o aumento verificado na capacidade antioxidante quando estes dois alimentos foram combinados.

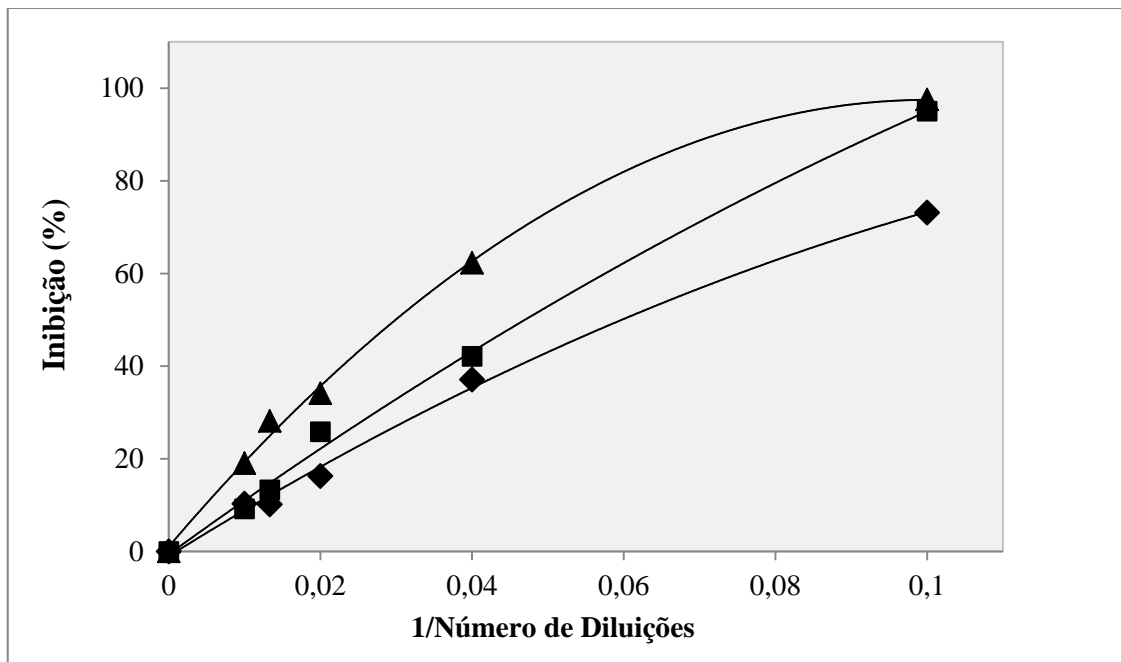


Figura 16: Resultados de ABTS. Legenda: ▲ Café com canela, ■ Café, ◆ Canela

C

apítulo 4

Discussão

A quantidade de canela ingerida nos ensaios clínicos dos vários estudos abordados no decorrer deste trabalho variou entre 1 e 6g. O que se verificou foi que quanto maior a quantidade de canela utilizada, maior a resposta, o que poderá indiciar o efeito dose-resposta relativamente à ação hipoglicemiante desta especiaria (Hlebowicz et al., 2007). No entanto, o único estudo realizado em indivíduos saudáveis que utilizou 1 g de canela não apresentou resultados na resposta glicémica (Hlebowicz et al., 2009). Ao contrário do que sucede com indivíduos saudáveis, outros estudos realizados em diabéticos tipo 2 em que a dose de canela utilizada foi 1g verificaram efeitos hipoglicemiantes (Hoehn, 2012; Khan et al., 2003). Além do efeito imediato da ingestão de canela verificou-se, em alguns estudos, que a ingestão continuada de canela, mesmo em baixas quantidades, pode surtir uma descida significativa na glicémia pós-prandial, tanto em adultos saudáveis como diabéticos (Khan et al., 2003; Solomon & Blannin, 2009).

Nem sempre é fácil comparar resultados de estudos sobre esta temática, por vezes fatores como as variações existentes nas idades dos participantes, nos métodos utilizados, nas doses de canela e na duração das intervenções dificulta a comparação e obriga a ter algum cuidado na interpretação de resultados de forma a perceber-se o efeito da canela na glicémia pós prandial. Neste trabalho utilizou-se uma amostra de 32 adultos saudáveis normoponderais (62,5%) com um IMC de 23,4. Quando comparada a amostra deste estudo com as de outros trabalhos verificou-se que os parâmetros não diferem muito entre si estando todos dentro da normalidade segundo a OMS, facilitando a comparação de resultados. Este estudo difere dos restantes no que respeita ao número de indivíduos estudados que é superior à maioria estudos do género (Tabela 2) e na sua duração, pois na maioria dos estudos os indivíduos ingeriram canela ao longo de vários dias e neste estudo os resultados foram medidos num só dia ao longo de 120 minutos.

Na globalidade, este estudo mostrou que a ingestão de 1 g de canela não produziu um efeito significativo imediato entre grupos (Tabela 12), como demonstrado noutros

estudos em que as doses de canela ingerida foram superiores (3-6g) (Hlebowicz et al., 2007; Magistrelli & Chezem, 2012; Solomon & Blannin, 2007, 2009), ou em que a ingestão de canela foi prolongada no tempo. Os resultados sugerem que apenas se verificaram variações significativas ($p < 0,05$) na glicémia ao longo dos 120 min desta intervenção (Tabela 12). Neste estudo, a descida da glicémia pós prandial com a ingestão de um café com canela, só se verificou estatisticamente diferente, entre os T_{30} e os T_{90} .

Tal como ocorreu noutros estudos apesar de os níveis de glicémia entre os dois grupos não serem significativamente diferentes, verificou-se uma diminuição ligeira nos níveis de glicémia entre os momentos T_{30} e T_{90} (Tabela 13) quando ingerida 1g de canela (Figura 14). Inicialmente no momento T_0 os resultados sugerem que o valor base de glicémia no grupo que ingeriu café com canela apresenta valores mais elevados que o outro grupo (Tabela 10), no entanto, este não se mostraram significativamente diferentes ($p \geq 0,05$). No intervalo entre os valores de glicémia em jejum (T_0) e após a toma do café com canela (T_{30}) verificou-se uma subida subtil da glicémia, o que não se verificou no grupo que ingeriu o café simples. Esta pequena subida, embora estando dentro dos valores de referência aceitáveis para um adulto saudável (70-100 mg/dl) (Figura 1) é de difícil explicação, mas verificou-se o mesmo padrão num estudo semelhante (Hlebowicz et al., 2009), podendo não passar de uma reação natural do organismo à ingestão de alimentos. Aos T_{90} os níveis de glicémia dos dois grupos aproximam-se (Figura 15) sugerindo que os níveis de glicémia do grupo que ingeriu café com canela teve uma descida mais acentuada do que o grupo controlo, apesar de as áreas por baixo da curva (AUC) não terem apresentado diferenças significativas (Tabela 14). Assim não foi possível verificar uma descida significativa ao longo do tempo na redução da glicémia pós prandial com a ingestão de canela, provavelmente devido à reduzida quantidade desta especiaria. Não seria também aconselhável aumentar a dose de canela utilizada por razões organoléticas uma vez que seria impraticável adicionar maior quantidade de canela em 40ml de café. No entanto e tal como indicaram os estudos de Hoehn, (2012) e Khan et al., (2003), realizados em doentes diabéticos, 1g de canela poderá ter um efeito hipoglicemiante apenas quando ingerida de forma contínua e a longo prazo. Aparentemente os resultados deste e de outros estudos parecem sugerir que a resposta hipoglicemiante é tanto mais rápida quanto maior for a dose de canela, como se pode verificar no trabalho de Magistrelli & Chezem (2012) que demonstrou

resultados logo a partir dos 15 minutos de intervenção, utilizando 6g de canela. Futuramente seria interessante realizar um ensaio clínico com uma maior duração de forma a verificar se a ingestão diária de um café com 1g de canela potencializaria o efeito hipoglicemiante desta especiaria numa população saudável.

Além do estudo do efeito hipoglicemiante da canela quantificou-se a capacidade antioxidante da canela, do café e do café com canela. Os resultados mostram que tanto o café como a canela possuem capacidade antioxidante, já que é na fração fenólica em que se verifica esta capacidade. Tendo em conta que os estados de hiperglicémia parecem gerar respostas inflamatórias (Munoz & Costa, 2013) e aumentar a produção de radicais livres, pode suspeitar-se que a adição de canela tenha um papel na inibição do *stress* oxidativo, um processo subjacente à resistência à insulina, que é um fator de risco para a diabetes e outras doenças cardio-metabólicas. Paralelamente, o *stress* oxidativo parece afetar as células β do pâncreas ao inibir a expressão dos GLUT4 (Munoz & Costa, 2013). Para o efeito quantificou-se os fenóis totais e as proantocianidinas presentes neste alimentos, pois de acordo com a literatura existente a fração com capacidade antioxidante é a fração fenólica, nomeadamente as proantocianidinas. Estes alimentos apresentam elevados teores de fenóis totais apesar da soma dos fenóis totais da canela (2630 mg/L) e do café (4628 mg/L), não ser semelhante ao valor dos fenóis totais do café com canela (6025 mg/L). O mesmo ocorre quando se analisa a absorvância das proantocianidinas (Tabela 15). Estes resultados sugerem que há uma perda de compostos fenólicos quando se mistura canela com café, provavelmente devido à temperatura elevada do café já que os compostos fenólicos são frequentemente voláteis (Gruenwald, Freder, & Armbruster, 2010). Neste estudo a canela em pó foi adicionada ao café quente, este aspeto pode ser relevante tendo em conta que há compostos fenólicos voláteis nesta especiaria que evaporam com a presença de calor (Shan et al 2007).

Paralelamente este estudo demonstrou que a capacidade antioxidante do café com a adição de 1 g de canela foi superior à verificada individualmente por cada um destes alimentos, sugerindo um possível efeito sinérgico. No entanto, este efeito ainda não foi reportado em nenhum estudo consultado até ao momento, porém sabe-se que a mistura de compostos pode resultar em efeitos sinérgicos ou antagónicos.

Conclusão

Dado que tanto a canela como o café são alimentos acessíveis e do agrado de uma grande parte da população portuguesa, com este trabalho procurou-se avaliar a existência de diferenças entre os valores de glicémia capilar em jejum e os valores de glicemia pós-prandial após a ingestão de um café expresso com 1g de canela. Paralelamente à análise do efeito desta especiaria sobre a glicémia pós prandial, procurou-se, através de análises laboratoriais, quantificar a fracção com capacidade antioxidante do café e da canela.

Neste trabalho verificou-se ainda que a ingestão de 1g de canela só parece exercer um efeito significativo na glicémia pós prandial a partir do T₃₀ até ao T₉₀. No entanto, globalmente não se verificaram diferenças significativas entre o grupo que ingeriu canela e o grupo que ingeriu café simples, possivelmente pela reduzida dose de canela ingerida. Num trabalho futuro seria interessante realizar estudos de intervenção semelhantes, mas de longa duração, para validar o uso clínico da canela no café como agente terapêutico para a tolerância à glucose, já que diversos estudos referem existir um efeito hipoglicemiante da canela mesmo em baixas dosagens.

Com a ajuda de métodos laboratoriais que avaliam a capacidade antioxidante em extratos de alimentos, verificou-se que tanto a canela como o café possuem uma elevada capacidade antioxidante. A partir do momento em que se combinam, estes alimentos parecem apresentar um efeito antioxidante potenciado o que sugere um possível efeito sinérgico, que ainda não se encontrou na literatura consultada.

Referências Bibliográficas

- Adisakwattana, S., Lerdsuwankij, O. Poputtachai, U., Minipun, A. e Suparpprom, C. (2011). Inhibitory Activity of Cinnamon Bark Species and their Combination Effect with Acarbose against Intestinal α -glucosidase and Pancreatic α -amylase. *Plant Foods Hum Nutr*, 66, 143–148. doi: 10.1007/s11130-011-0226-4
- Akilen, R., Tsiami, A., Devendra, D. e Robinson, N. (2012). Cinnamon in glycaemic control: Systematic review and meta analysis. *Clin Nutr*, 31(5), 609-615. doi: 10.1016/j.clnu.2012.04.003
- Al-Dhubiab, B. (2012). Pharmaceutical applications and phytochemical profile of *Cinnamomum burmannii*. *Pharmacogn Rev*, 6(12), 125-131. doi: 10.4103/0973-7847.99946
- Alves, R., Casal, S. e Oliveira, B. (2009). Benefícios do café na saúde: mito ou realidade? *Quim. Nova*, 32(8), 2169-2180.
- Ambrósio, E. (2010). *Efeitos metabólicos do café na Diabetes Mellitus tipo 2* (Monografia). Universidade do Porto.
- Anderson, R. (2008). Chromium and polyphenols from cinnamon improve insulin sensitivity. *Proc Nutr Soc*, 67(1), 48-53. doi: 10.1017/S0029665108006010
- Anderson, R., Broadhurst, C., Polansky, M., Schmidt, W., Khan, A., Flanagan, V. e Graves, D. (2004). Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *J Agric Food Chem*, 52(1), 65-70. doi: 10.1021/jf034916b
- Blahová, J. e Svobodová., Z. (2012). Assessment of Coumarin Levels in Ground Cinnamon Available in the Czech RetailMarket. *The ScientificWorld Journal*, 2012. doi: 10.1100/2012/263851

- Cao, H., Graves, D. e Anderson, R. (2010). Cinnamon extract regulates glucose transporter and insulin-signaling gene expression in mouse adipocytes. *Phytomedicine*, 17(13), 1027-1032. doi: 10.1016/j.phymed.2010.03.023
- Cao, H., Polansky, M. e Anderson, R. (2007). Cinnamon extract and polyphenols affect the expression of tristetraprolin, insulin receptor, and glucose transporter 4 in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Arch Biochem Biophys*, 459(2), 214-222. doi: 10.1016/j.abb.2006.12.034
- Chohan, M., Forster-Wilkins, G. e Opara, E. (2008). Determination of the antioxidant capacity of culinary herbs subjected to various cooking and storage processes using the ABTS⁺ radical cation assay. *Plant Foods Hum Nutr*, 63(2), 47-52. doi: 10.1007/s11130-007-0068-2
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C. e Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita*, 43(4), 348-361.
- Deprez, S., Brezillon, C., Rabot, S., Philippe, C., Mila, I., Lapiere, C. e Scalbert, A. (2000). Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *J Nutr*, 130(11), 2733-2738.
- Dugoua, J., Seely, D., Perri, D., Cooley, K., Forelli, T., Mills, E. e Koren, G. (2007). From type 2 diabetes to antioxidant activity: a systematic review of the safety and efficacy of common and cassia cinnamon bark. *Can J Physiol Pharmacol*, 85(9), 837-847. doi: 10.1139/Y07-080
- Federation, E. C. (2011). European Coffee Report 2011/12. Acedido em 10 Setembro de 2013, de http://www.ecf-coffee.org/images/European_Coffee_Report_2011-12_updated_preliminary.pdf
- Fipa (2009). VDR e o Plano de Rotulagem Nutricional da FIPA. Acedido em 15 Setembro de 2013, de http://www.fipa.pt/outos/conteudo_home2.php?art=59

- Gallagher, D., Heymsfield, S., Heo, M., Jebb, S., Murgatroyd, P. e Sakamoto, Y. (2000). Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr*, 72(3), 694-701.
- Gallo, M., Ferracane, R., Graziani, G., Ritieni, A. e Fogliano, V. (2010). Microwave assisted extraction of phenolic compounds from four different spices. *Molecules*, 15(9), 6365-6374. doi: 10.3390/molecules15096365
- Gonçalves, R. (2007). *Estudo da inibição de tripsina por compostos fenólicos isolados de fontes naturais. Efeito antinutricional de bebidas comuns* (Tese de Mestrado). Escola de Engenharia da Universidade do Minho.
- Greenberg, J., Boozer, C. e Geliebter, A. (2006). Coffee, diabetes, and weight control. *Am J Clin Nutr*, 84, 682-693.
- Gruenwald, J., Freder, J. e Armbruester, N. (2010). Cinnamon and health. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 50(9), 822-834. doi: 10.1080/10408390902773052
- Gu, L., Kelm, M., Hammerstone, J., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S. e Prior, R. (2004). Concentrations of Proanthocyanidins in Common Foods and Estimations of Normal Consumption. *J. Nutr.*, 134(3), 613-617.
- Gu, L., Hammerstone, J., Beecher, G., Cunningham, D., Vannozzi, S. e Prior, R. (2002). Fractionation of Polymeric Procyanidins from Lowbush Blueberry and Quantification of Procyanidins in Selected Foods with an Optimized Normal-Phase HPLC-MS Fluorescent Detection Method. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4852-4860.
- Hanhineva, K., Torronen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkanen, H. e Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *Int J Mol Sci*, 11(4), 1365-1402. doi: 10.3390/ijms11041365
- Higdon, J. V. e Frei, B. (2006). Coffee and health: a review of recent human research. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 46(2), 101-123. doi: 10.1080/10408390500400009

- Hlebowicz, J., Darwiche, G., Bjorgell, O. e Almer, L. (2007). Effect of cinnamon on postprandial blood glucose, gastric emptying, and satiety in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*, 85(6), 1552-1556.
- Hlebowicz, J., Hlebowicz, A., Lindstedt, S., Bjorgell, O., Hoglund, P., Holst, J. e Almer, L. (2009). Effects of 1 and 3 g cinnamon on gastric emptying, satiety, and postprandial blood glucose, insulin, glucose-dependent insulinotropic polypeptide, glucagon-like peptide 1, and ghrelin concentrations in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*, 89(3), 815-821. doi: 10.3945/ajcn.2008.26807
- Hoehn, A. e Stockert, A. (2012). The Effects of Cinnamomum Cassia on Blood Glucose Values are Greater than those of Dietary Changes Alone. *Nutr Metab Insights*, 13(5), 77-83. doi: 10.4137/NMI.S10498
- Imparl-Radosevich, J., Deas, S., Polansky, M., Baedke, D., Ingebritsen, T., Anderson, R. e Graves, D. (1998). Regulation of PTP-1 and insulin receptor kinase by fractions from cinnamon: implications for cinnamon regulation of insulin signalling. *Horm Res*, 50(3), 177-182.
- Jarvill-Taylor, K., Anderson, R. e Graves, D. (2001). A hydroxychalcone derived from cinnamon functions as a mimetic for insulin in 3T3-L1 adipocytes. *J Am Coll Nutr*, 20(4), 327-336.
- Jiao, L., Zhang, X., Huang, L., Gong, H., Cheng, B., Sun, Y. e Huang, K. (2013). Proanthocyanidins are the major anti-diabetic components of cinnamon water extract. *Food Chem Toxicol*, 56, 398-405. doi: 10.1016/j.fct.2013.02.049
- Karadag, A. e Saner S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analysis and Methods*, 2, 41-60.
- Khan, A., Safdar, M., Ali Khan, M., Khattak, K. e Anderson, R. (2003). Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 26(12), 3215-3218.
- Khatib, A., Kim, M. e Chung, S. (2005). Anti-inflammatory activities of cinnamomum burmanii. *Food Sci. Biotechnol*, 44(2), 223-227.

- Leach, J. e Kumar, S. (2012). Cinnamon for diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*, 9, CD007170. doi: 10.1002/14651858.CD007170.pub2
- Li, R., Liang, T., Xu, L., Li, Y., Zhang, S. e Duan, X. (2013). Protective effect of cinnamon polyphenols against STZ-diabetic mice fed high-sugar, high-fat diet and its underlying mechanism. *Food Chem Toxicol*, 51, 419-425. doi: 10.1016/j.fct.2012.10.024
- Magistrelli, A. e Chezem, J. (2012). Effect of ground cinnamon on postprandial blood glucose concentration in normal-weight and obese adults. *J Acad Nutr Diet*, 112(11), 1806-1809. doi: 10.1016/j.jand.2012.07.037
- Maroco, J. (2010). *Análise estatística-com utilização do SPSS*: Edições Sílabo.
- Martins, C. (2011). *Manual de análise de dados quantitativos com recurso ao IBM®SPSS®*: Psiquilibrios Edições.
- Mateos-Martin, M., Fuguet, E., Quero, C., Perez-Jimenez, J. e Torres, J. (2012). New identification of proanthocyanidins in cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* L.) using MALDI-TOF/TOF mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 402(3), 1327-1336. doi: 10.1007/s00216-011-5557-3
- Moreira, A. e Mancini Filho, J. (2003). Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquoso e lipídico. *Nutrir e: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr*, 25, 31-46.
- Munoz, A. e Costa, M. (2013). Nutritionally mediated oxidative stress and inflammation. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 610950. doi: 10.1155/2013/610950
- Onderoglu, S., Sozer, S., Erbil, K., Ortac, R. e Lermioglu, F. (1999). The evaluation of long-term effects of cinnamon bark and olive leaf on toxicity induced by streptozotocin administration to rats. *J Pharm Pharmacol*, 51(11), 1305-1312.
- Prabha, R. e Vasantha, K. (2011). Antioxidant, Cytotoxicity and Polyphenolic Content of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. Flowers. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01 (07), 136-140.

- Qin, B., Panickar, K. e Anderson, R. (2010). Cinnamon: potential role in the prevention of insulin resistance, metabolic syndrome, and type 2 diabetes. *J Diabetes Sci Technol*, 4(3), 685-693.
- Ranasinghe, P., Perera, S., Gunatilake, M., Abeywardene, E., Gunapala, N., Premakumara, S. e Katulanda, P. (2012). Effects of *Cinnamomum zeylanicum* (Ceylon cinnamon) on blood glucose and lipids in a diabetic and healthy rat model. *Pharmacognosy Res*, 4(2), 73-79. doi: 10.4103/0974-8490.94719
- Romeiro, S. e Delgado, M. (2012). A saúde numa chávena de café. *Revista Nutricias*, 15, 20-23. Acedido em 29 Julho de 2013, de: http://www.apn.org.pt/xFiles/scContentDeployer_pt/docs/Doc1219.pdf
- Roussel, A., Hininger, I., Benaraba, R., Ziegenfuss, T. e Anderson, R. (2009). Antioxidant effects of a cinnamon extract in people with impaired fasting glucose that are overweight or obese. *J Am Coll Nutr*, 28(1), 16-21.
- Sangal, A. (2011). Role of cinnamon as beneficial antidiabetic food adjunct: a review. *Advances in Applied Science Research*, 2(4), 440-450.
- Shan, B., Cai, Y., Brooks, J. e Corke, H. (2007). Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *J Agric Food Chem*, 55(14), 5484-5490. doi: 10.1021/jf070424d
- Shan, B., Cai, Y., Sun, M., e Corke, H. (2005). Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 7749-7759. doi: 10.1021/jf051513y
- Shihabudeen, H., Priscilla, D. e Thirumurugan, K. (2011). Cinnamon extract inhibits α -glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats. *Nutrition & Metabolism*, 8, 46. doi: doi:10.1186/1743-7075-8-46
- Solomon, T. e Blannin, A. (2007). Effects of short-term cinnamon ingestion on in vivo glucose tolerance. *Diabetes Obes Metab*, 9(6), 895-901. doi: 10.1111/j.1463-1326.2006.00694.x

- Solomon, T. e Blannin, A. (2009). Changes in glucose tolerance and insulin sensitivity following 2 weeks of daily cinnamon ingestion in healthy humans. *Eur J Appl Physiol*, 105(6), 969-976. doi: 10.1007/s00421-009-0986-9
- Sousa, C., Silva, H., Vieira-Jr, G., Ayres, M., Costa, L., Araújo, D., Cavalcante, L., Barros, L., Araújo, P., Brandão, M. e Chaves, M. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim. Nova*, 30(2), 351-355.
- Subash Babu, P., Prabuseenivasan, S. e Ignacimuthu, S. (2007). Cinnamaldehyde—A potential antidiabetic agent. *Phytomedicine* 14, 15-22. doi: 10.1016/j.phymed.2006.11.005
- Takahashi, M., Shimomura, K., Proks, P., Craig, T., Negishi, M., Akuzawa, M. e Kobayashi, I. (2009). A proposal of combined evaluation of waist circumference and BMI for the diagnosis of metabolic syndrome. *Endocr J*, 56(9), 1079-1082.
- Tanaka, T., Matsuo, Y., Yamada, Y. e Kouno, I. (2008). Structure of polymeric polyphenols of cinnamon bark deduced from condensation products of cinnamaldehyde with catechin and procyanidins. *J Agric Food Chem*, 56(14), 5864-5870. doi: 10.1021/jf800921r
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K. Cisneros-Zevallos, L. e Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 669–675. doi: 10.1016/j.jfca.2006.01.003
- Ulbricht, C., Seamon, E., Windsor, R., Armbruster, N., Bryan, J., Costa, D. e Zhang, J. (2011). An evidence-based systematic review of cinnamon (*Cinnamomum* spp.) by the Natural Standard Research Collaboration. *J Diet Suppl*, 8(4), 378-454. doi: 10.3109/19390211.2011.627783
- USDA. Nutrient data dor Spices, cinnamon, ground Acedido em 22 Junho de 2013, de <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/235?fg=&man=&lfacet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=cinnamon>

- Van Dam, R. (2006). Coffee and type 2 diabetes: from beans to beta-cells. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 16(1), 69-77. doi: 10.1016/j.numecd.2005.10.003
- Wang, Y., Avula, B., Nanayakkara, N., Zhao, J. e Khan, I. (2013). Cassia cinnamon as a source of coumarin in cinnamon-flavored food and food supplements in the United States. *J Agric Food Chem*, 61(18), 4470-4476. doi: 10.1021/jf4005862
- Wardlow, G., Smith, A. e Lindeman, A. (2012). *Contemporary Nutrition: a Functional Approach*: EUA: Mc Graw Hill.
- WHO. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation (Vol. 894, pp. p. i-xii, 1-253): World Health Organization Tech Rep Ser.
- Woehrlin, F., Fry, H., Abraham, K. e Preiss-Weigert, A. (2010). Quantification of Flavoring Constituents in Cinnamon: High Variation of Coumarin in Cassia Bark from the German Retail Market and in Authentic Samples from Indonesia. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, , 58, 10568–10575. doi: 10.1021/jf102112p
- Yang, C., Li, R. e Chuang, L. (2012). Antioxidant Activity of Various Parts of Cinnamomum cassia Extracted with Different Extraction Methods. *Molecules* 17, 7294-7304. doi: doi:10.3390/molecules17067294
- Zulueta, A., Esteve, A. e Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry* 114, 310–316. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.033

25 de Abril de 2013

Exmo. (a) Sr.(a),

No âmbito do Curso de Mestrado em Nutrição Clínica do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, sob orientação da Prof.^a Doutora Paula Pereira, solicita-se a autorização para participação no estudo: "O efeito da ingestão de um café com e sem canela na glicémia pós prandial em indivíduos adultos saudáveis". Estes indivíduos serão estudantes desta instituição ou outros potenciais candidatos, com o objetivo de determinar se existe diferença entre os valores de glicémia capilar em jejum e os valores de glicemia pós-prandial após a ingestão de um café expresso com 1g de canela e após a ingestão de um café expresso simples.

A participação neste estudo é voluntária e implica:

- a) Preenchimento de um questionário (Anexo 1)
- b) Medição e pesagem em balança de bioimpedância para recolha de dados antropométricos;
- c) 5 picadas no dedo para recolher uma gota de sangue (medição da glicémia capilar). Estas picadas serão efetuadas em dias e momentos diferentes: 1 picada em jejum, antes da ingestão do café com canela, e as restantes picadas: 30, 60, 90 e 120 minutos depois da ingestão desta bebida. Este procedimento será repetido com a ingestão de um café simples.

Este estudo pode trazer benefícios ao progresso do conhecimento científico, uma vez que a canela *burmannii* é uma espécie ainda pouco estudada pelo seu poder antioxidante e pelo seu papel nos valores de glicémia pós-prandial.

Riscos da Canela:

Quando ingerida em doses diárias de até 6 gramas e por um período de até 6 semanas, a canela não apresenta riscos para uma população saudável. No entanto, este estudo pode trazer complicações a indivíduos que:

- sejam alérgicos a esta especiaria;

Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_01

Anexo I

- tomem agentes anticoagulantes (ex. varfarina, aspirina...), uma vez que a canela pode contribuir para uma redução temporária do número de plaquetas sanguíneas.
- apresentem sensibilidade às cumarinas, compostos presentes em algumas espécies de canela;
- estejam a tomar agentes antiarrítmicos ou anti-lipémicos.

A informação obtida pelos questionários e pelos dados antropométricos destina-se unicamente a tratamento estatístico e posterior publicação. A sua recolha é anónima e confidencial (os dados dos participantes serão registados com recurso a uma codificação).

A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo e é voluntária.

(Riscar o que não interessa)

ACEITO/NÃO ACEITO participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

(Assinatura do participante)

(Assinatura do(s) orientador(es))

QUESTIONÁRIO

Data:
Número de identificação do participante:

Antecedentes Pessoais (Alergias, DM, Doenças gastrointestinais)	Antecedentes Familiares (Alergias, DM, Doenças gastrointestinais)

Está a tomar ou tomou, no último mês, algum destes medicamentos:

Anticoagulantes	Anti-lipidémicos	Anti-arrítmicos	Anti-inflamatórios
<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Outro? Qual?			

Bebeu **café** nas últimas 8H?

- Sim
 Não

Bebeu **bebidas alcoólicas** nas últimas 8H?

- Sim
 Não

Fumou nas últimas 8H?

- Sim
 Não

Praticou **exercício físico** nas últimas 8H?

- Sim
 Não

REGISTO ALIMENTAR DAS ÚLTIMAS 24 HORAS

Anote todos os **alimentos e bebidas** ingeridas nas últimas 24H.

REFEIÇÕES/ HORAS	ALIMENTOS INGERIDOS e QUANTIDADES
Pequeno-almoço	
Lanche da manhã	
Almoço	
Lanche da tarde	
Jantar	
Ceia HORA:	

Observações:

Data

Assinatura do participante **X**

FOLHA DE REGISTO DE DADOS DOS PARTICIPANTES

DATA:

Número de identificação:					
Idade:					
Sexo (M/F):					
GRUPO: _____					
VALORES DE GLICÉMIA CAPILAR					
Hora:	Hora da ingestão:	Hora:	Hora:	Hora:	Hora:
Glicémia jejum (T0)		Glicémia (T30)	Glicémia (T60)	Glicémia (T90)	Glicémia (T120)
Observações:					

Anexo IV: Resultados dos testes de Normalidade, *Shapiro-Wilks*.

Variáveis	Café com Canela <i>p-value</i>	Café (controlo) <i>p-value</i>
Idade	0,090	0,377
Peso	0,275	0,221
Altura	0,339	0,147
IMC	0,059	0,106
PC	0,437	0,062
MG	0,795	0,695
MME	0,134	0,567

Anexo V: Testes de comparação de médias de amostras independentes

Teste T-*student* para amostras independentes das variáveis antropométricas.

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Altura	Equal variances assumed	0,418	0,523	-,112	30	,911	-0,375	3,341	-7,198	6,448
Idade	Equal variances assumed	0,010	0,919	-,483	30	,633	-0,938	1,941	-4,901	3,026
Peso	Equal variances assumed	0,075	0,786	-,557	30	,582	-2,581	4,637	-12,052	6,890
IMC	Equal variances assumed	1,452	0,238	-,978	30	,336	-1,375	1,406	-4,247	1,497
PCintura	Equal variances assumed	0,089	0,768	,322	30	,750	1,313	4,079	-7,018	9,643

Teste T-student para amostras independentes da variável Hidratos de Carbono.

		Levene's Test for Equality of Variances		T-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
HIDRATOS DE CARBONO	Equal variances assumed	1,886	0,180	0,089	30	0,930	3,188	35,869	70,066	76,441

Teste *Mann-Whitney* para amostras independentes das variáveis de ingestão calórica

	<i>Mann-Whitney U</i>	Asymp. Sig. (2-tailed)
Valor Energético Total	120,000	0,763
Proteínas	111,000	0,521
Lípidos	97,500	0,250

Anexo VI: Resultados dos testes de Normalidade (*Shapiro Wilks*) e Homogeneidade de Variâncias (Teste de *Levene*) para os valores de glicemia em vários momentos ao longo do ensaio clínico.

Variável: GLICÊMIA	Normalidade		Homogeneidade das variâncias
	Café com Canela	Café simples	
T0	0,612	0,939	0,947
T30	0,001	0,716	0,138
T60	0,915	0,180	0,260
T90	0,164	0,060	0,354
T120	0,112	0,224	0,427

Anexo VII: Anova para medidas repetidas tipo misto

Comparações entre os valores médios de glicémia medidos para cada momento T e entre grupos com a ingestão de um café simples e de um café com canela

	Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	<i>p-value</i>
Glicémia	Esferecidade assumida	1241,313	4	310,328	4,320	,003
	Greenhouse-Geisser	1241,313	3,035	408,993	4,320	,007
	Huynh-Feldt	1241,313	3,528	351,886	4,320	,004
	Lower-bound	1241,313	1,000	1241,313	4,320	,046
Glicémia * GRUPOS	Esferecidade assumida	210,813	4	52,703	,734	,571
	Greenhouse-Geisser	210,813	3,035	69,459	,734	,536
	Huynh-Feldt	210,813	3,528	59,761	,734	,555
	Lower-bound	210,813	1,000	210,813	,734	,398
Error (Glicémia)	Sphericity Assumed	8619,875	120	71,832		
	Greenhouse-Geisser	8619,875	91,051	94,671		
	Huynh-Feldt	8619,875	105,828	81,452		
	Lower-bound	8619,875	30,000	287,329		

Anexo VIII: Teste de comparações múltiplas (Teste de *Bonferroni*)

Post-hoc Tests

(I) Glicémia	(J) Glicémia	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval for Differencea	
					Lower Bound	Upper Bound
T ₀	T ₃₀	-1,438	2,278	1,000	-8,338	5,463
	T ₆₀	1,094	1,844	1,000	-4,495	6,682
	T ₉₀	5,969	2,121	,086	-,457	12,395
	T ₁₂₀	4,531	2,169	,453	-2,041	11,104
T ₃₀	T ₀	1,438	2,278	1,000	-5,463	8,338
	T ₆₀	2,531	2,228	1,000	-4,220	9,282
	T ₉₀	7,406	2,272	,028	,522	14,290
	T ₁₂₀	5,969	2,861	,455	-2,699	14,637
T ₆₀	T ₀	-1,094	1,844	1,000	-6,682	4,495
	T ₃₀	-2,531	2,228	1,000	-9,282	4,220
	T ₉₀	4,875	1,469	,024	,425	9,325
	T ₁₂₀	3,438	1,882	,777	-2,264	9,139
T ₉₀	T ₀	-5,969	2,121	,086	-12,395	,457
	T ₃₀	-7,406	2,272	,028	-14,290	-,522
	T ₆₀	-4,875	1,469	,024	-9,325	-,425
	T ₁₂₀	-1,438	1,758	1,000	-6,765	3,890
T ₁₂₀	T ₀	-4,531	2,169	,453	-11,104	2,041
	T ₃₀	-5,969	2,861	,455	-14,637	2,699
	T ₆₀	-3,438	1,882	,777	-9,139	2,264
	T ₉₀	1,438	1,758	1,000	-3,890	6,765

Anexo IX: Testes estatísticos para a variável AUC.

Teste de Normalidade *Shapiro-Wilk* para a AUC (área calculada abaixo da curva) durante os 120 minutos de ensaio clínico

		Statistic	df	Sig.
Curva AUC	COM CANELA	,972	16	,873
	SEM CANELA	,921	16	,177

Teste T-*student* para amostras independentes da variável AUC

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Curva AUC	Equal variances assumed	2,983	,094	1,222	30	,231	486,563	398,253	-326,779	1299,904

